

TÜRKİYE'DE PLAZMİT ARACILI KİNOLON DİRENCİ

Hasan NAZİK, Betigül ÖNGEN

İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Kinolonlar tıpta ve veterinerlikte çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Bu ilaçların yaygın kullanımı bakterilerde kinolon direnci gelişimine büyük ölçüde neden olmuştur. Bakterilerdeki kinolon direnci, genellikle topoizomerazları kodlayan kromozomal genlerde meydana gelen mutasyonlar sonucunda ortaya çıkmakta, ayrıca geri atım pompaları ve porinlerin kaybı kinolon direnci gelişmesine katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar kinolon direncinin yayılması ve artışının plazmit aracılı olabileceğini göstermiştir. Bugüne kadar plazmit aracılı kinolon direnci ile ilgili *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* olmak üzere üç gen tanımlanmıştır. 1998'de Martinez-Martinez ve ark. çoklu dirençli bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda florokinolonların bakteriyel topoizomerazlar üzerine etkisini bloke eden, tekrarlayan pentapeptid protein ailesine ait 218 aminoasitlik bir proteini kodlayan plazmit aracılı kinolon direnci genini (*qnrA*) bildirmişlerdir. *QnrA* proteini, kinolonlara dirence, florokinolonların da MİK'lerinde artışa neden olmaktadır. Dünyada genelde Enterobacteriaceae ailesinden birçok bakteride saptanan *qnrA* genini, diğer plazmit aracılı kinolon direnci genleri olan *qnrS*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD* takip etmiştir. 2006 yılında farklı bir plazmit aracılı kinolon direnç geni olan *aac(6')-Ib-cr* keşfedilmiştir. *aac(6')-Ib'* nin *-cr* varyantı olan bu gen norfloksasin ve siprofloksasin gibi bazı kinolonların enzimatik inaktivasyonu yoluyla duyarlılıklarında azalmaya yol açan bir aminoglikozit asetiltransferazı kodlar. Diğer plazmit aracılı kinolon direnç geni olan *qepA* ise Japonya ve Belçika'da *Escherichia coli* suşlarında tanımlanmıştır. 14 transmembran geri atım pompasıyla ilişkili olan 511 aminoasitlik bir proteini kodlayan *qepA* norfloksasin ve siprofloksasin gibi hidrofilik kinolonların hücre dışına pompalanması yoluyla atılmasına neden olarak, bu antibiyotiklerin MİK'lerini arttırmaktadır. Çok yakın zamanda *Serratia marcescens* suşlarında *smaqnr* isminde kromozom kaynaklı yeni bir gen bildirilmiştir. *S.marcescens* Db11 suşundaki *Smaqnr* proteininin *QnrB1* ile % 80 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Türkiye'de plazmit aracılı kinolon direnç geni olan *qnrA*, ilk kez 2005 yılında SHV-7 beta-laktamazı üreten *Enterobacter cloacae* ile VEB-1 ve OXA-48 beta-laktamazı üreten *Citrobacter freundii* suşlarında saptanmıştır. *qnrA*'nın ardından, son yıllarda yapılan çalışmalarla ülkemizde diğer plazmit aracılı kinolon direnci genlerinden *qnrB*, *qnrS* ve *aac(6')-Ib-cr*'nin varlığı da gösterilmiştir.

Bu makalede kinolonların genel özelliklerine kısaca değindikten sonra plazmit aracılı kinolon direnci genlerinin keşfi ve bu konuda Türkiye'de yapılan çalışmalar gözden geçirilmiştir.

Anahtar sözcükler: *aac(6')-Ib-cr*, kinolon, *qepA*, *qnr*, *smaqnr*, Türkiye

SUMMARY

Plasmid-mediated Quinolone Resistance in Turkey

Quinolones are broad spectrum agents for treatment of a variety of clinical and veterinary infections. Widespread use of these agents has largely contributed to the rise of bacterial quinolone resistance. Bacterial resistance to quinolones usually results from mutations in the chromosomal genes encoded topoisomerases and as well 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 due to plasmid-mediated mechanism. Since today, three plasmid mediated quinolone resistance mechanisms, *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA*, have been described. In 1998, Martinez-Martinez et al reported a plasmid mediated resistance determinant (*qnrA*) encodes 218 aminoacid which belongs to pentapeptide repeat family of proteins block the action of flouroquinolones on bacterial topoisomerases in a multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. *QnrA* protein confers resistance to quinolones and increases MICs of flouroquinolones. *qnrA* determinants have been detected in worldwide in many enterobacterial species and followed by other plasmid mediated quinolone determinants, *qnrS*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*. In 2006, a different plasmid mediated quinolone resistance determinant, *aac(6')-Ib-cr* is discovered. The *-cr* variant of *aac(6')-Ib* encodes of an aminoglycoside acetyltransferase capable of enzymatic inactivation of certain quinolones as norfloxacin and ciprofloxacin and conferring reduced susceptibility. Another plasmid mediated quinolone resistance determinant, *qepA* has been recently identified in *Escherichia coli* strains in Japan and Belgium. *qepA* encodes 511 aminoacid protein belonging to 14 transmembran segment efflux pumps, causes to pump out hydrophilic quinolones such as norfloxacin and ciprofloxacin and increases the MICs of these agents. Very recently, a new chromosome-encoded quinolone resistance determinant, named *smaqnr*, from *Serratia marcescens* strains is reported. 80 % amino acid identity was detected between *Smaqnr* protein in *S.marcescens* Db11 and *QnrB1*. In Turkey, plasmid mediated quinolone resistance determinant, *qnrA* was first detected in two strains, a SHV-7 beta-lactamase producing *E.cloacae* and a VEB-1 and OXA-48 beta-lactamase producing *Citrobacter freundii* in 2005. After detection of *qnrA*, other plasmid mediated determinants *qnrB*, *qnrS* and *aac(6')-Ib-cr* were reported in Turkey.

In this article the discovery of plasmid mediated quinolone resistance determinants and studies related with this subject in Turkey are reviewed after mentioning briefly about general characteristics of quinolones.

Keywords: *aac(6')-Ib-cr*, *qepA*, *qnr*, quinolone, *smaqnr*, Turkey

Yazışma adresi: Betigül Öngen. İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

Tel.: 0212- 414 20 00/32627

e-posta: ongenb@gmail.com

Alındığı tarih: 29.12.2009; revizyon kabulü: 30.12.2009

GİRİŞ

Antibakteriyel direnç ülkemizde olduğu gibi tüm dünyada infeksiyon hastalıklarının tedavisinde güçlükler neden olmaktadır⁽³¹⁾. Son yıllarda birçok antibiyotik direnç mekanizmasının birlikteliği ile klinikte kullanılan tüm antibiyotiklere dirençli bakterilere rastlanmaktadır. Özellikle direnç genlerinin plazmitler ile aktarılabilir olması ve bu plazmitler üzerinde çok sayıda antibiyotik direnç geninin bir arada bulunabilmesi, direncin hızla yayılması yanında, birçok antibiyotiğin de klinik kullanımdan kaldırılmasına neden olmuştur⁽⁶⁾. Plazmitler aracılığı ile beta-laktamlar, makrolitler, aminoglikozitler gibi birçok antibiyotik grubuna direnç geliştiği bilinmekle birlikte, 1998 yılına kadar kinolon grubu antibiyotiklere plazmitler aracılığı ile direnç gelişebileceği kesin olarak bilinmiyordu^(6,14). ABD’de çoklu antibiyotik direncine sahip bir *Klebsiella pneumoniae* suşunda plazmit aracılı kinolon direncine neden olan *qnr* (quinolon resistance) geninin saptanmasının ardından bu konuda yapılmış çalışmalar dünya genelinde hızla artmıştır^(15,17,34,40). Ülkemizde ise 2005 yılında yapılan bir çalışma ile plazmit aracılı kinolon direnci ilk kez gösterilmiş, sonrasında farklı

merkezlerden yapılan çalışmalarla bu tip direncin varlığı gösterilmeye başlamıştır⁽²¹⁾.

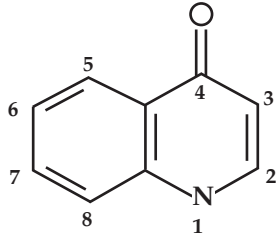
Bu makalede kinolon grubu antibiyotiklerin kimyasal yapısı, etki mekanizması, antibakteriyel spektrumu ve klinikte kullanımından kısaca söz edildikten sonra, plazmit aracılı kinolon direncinin keşfi, önemi ve bu konuda ülkemizde yapılan çalışmaların gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

KİNOLONLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

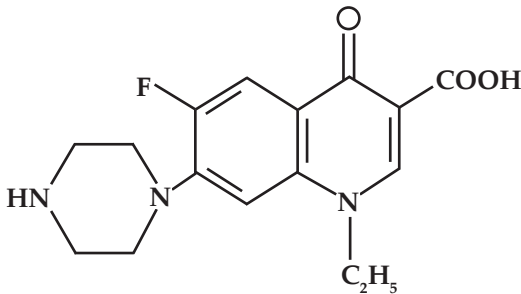
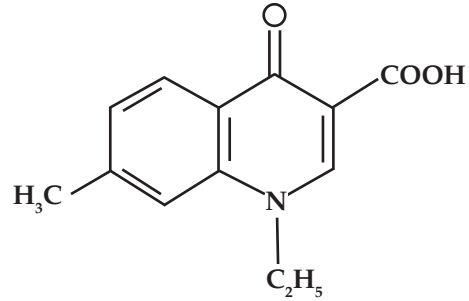
Kimyasal yapı

Kinolonlar klinik kullanıma 1962 yılında nalidiksit asit formunda girmiştir. Nalidiksit asit malarya tedavisinde kullanılan klorokinin sentezi ve saflaştırılması sırasında keşfedilmiş, çoğu *Enterobacteriaceae* üyesine bakterisid etkili bir antibiyotiktir. İdrarda yüksek konsantrasyona ulaşması nedeniyle sadece üriner sistem infeksiyonlarında kullanılmaya başlanmıştır^(32,35).

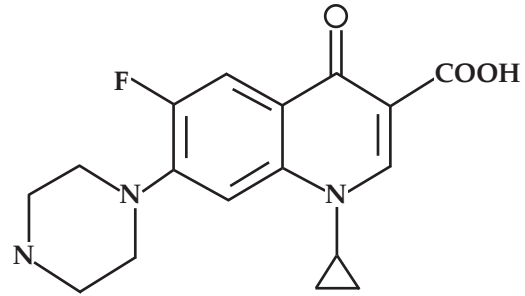
Tamamen sentetik antibiyotikler olan kinolonların temel yapısı, 1. pozisyondaki nitrojen, 3. pozisyondaki karboksil grubu ve 4. pozisyondaki karbona çift bağla bağlanmış oksijenin bulunduğu ikili halkadan oluşmaktadır (Şekil 1). 1970’lerde kinolon molekülünün C-6 pozis-



Kinolonların temel yapısı



Norfloksasin



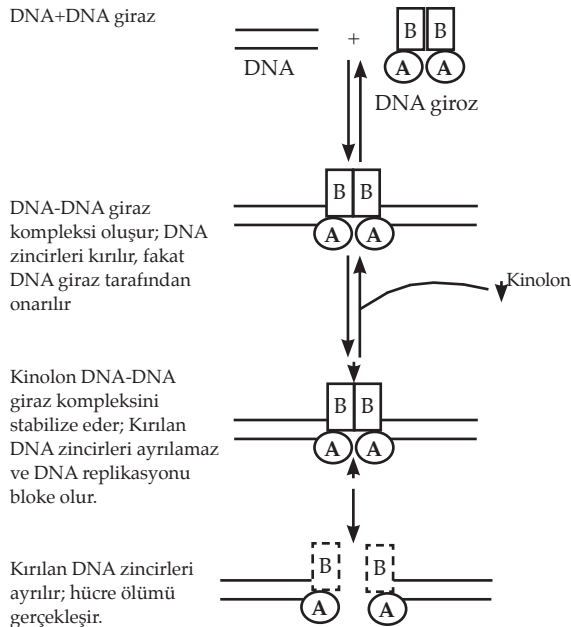
Siprofloksasin

Şekil 1. Kinolon grubu antibiyotiklerin temel yapısı ve bazı kinolonlar⁽¹⁰⁾.

yonuna bir flor atomunun eklenmesiyle aktivitesi artırılarak ilk florokinolon olan norfloksasin elde edilmiş, klinik kullanıma ise 1986 yılında girmiştir. Daha sonraları kinolonların yapısına piperazinil, metil piperazinil, dimetil piperazinil, pirolidinil, metoksi grubu gibi çeşitli eklemeler yapılarak yeni florokinolonlar türetilmiş ve etki spektrumu genişletilmiştir^(10,32,35).

Etki mekanizması

DNA giraz DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımında görev alır. Topoizomeraz IV ise replikasyon sırasında oluşan yavru DNA iplikçiklerinin birbirinden ayrılarak yavru hücrelere geçmelerine yardım eder. DNA giraz (topoizomeraz II) enzimi *gyrA* geni tarafından kodlanan iki A alt birimi ile *gyrB* geni tarafından kodlanan iki B alt biriminden oluşmaktadır (Şekil 2). Topoizomeraz IV ise *parC* geni tarafından kodlanan iki parC alt birimi, *parE* geni tarafından kodlanan iki parE alt biriminden oluşmaktadır. Tip 2 topoizomerazlardan olan bu iki enzim kinolon grubu antibiyotiklerin hedefini oluşturmaktadır. Topoizomeraz-DNA kompleksine bağlanan kinolonlar DNA sentezini hızla inhibe ederler. Kinolonların bakterisidal etkilerinin ortaya çıkmasında DNA sentezinin inhibisyonu temel olmakla birlikte farklı mekanizmalara



Şekil 1. Kinolon grubu antibiyotiklerin etki mekanizması⁽⁷⁾.

rın da hücre ölümünde rol oynadığı sanılmaktadır. Ayrıca çok yüksek antibiyotik konsantrasyonlarında RNA ve protein sentezinin inhibisyonu ile bakteriyostatik etki gösterdikleri belirlenmiştir. Kinolon grubu antibiyotiklerin Gram negatif bakterilerde öncelikli hedefinin DNA giraz, Gram pozitiflerde ise topoizomeraz IV olduğu bilinmektedir^(10,31,35).

Antibakteriyel spektrum ve klinik kullanım

İlk sentezlenen kinolonların daha çok Gram negatif bakterilere karşı etkinliği bulunurken, yeni florokinolonların sentezi ile antibakteriyel etki spektrumu genişletilerek Gram negatif, Gram pozitif ve anaeroplara karşı etkinlik sağlanmıştır. Günümüzde florokinolonlar genitoüriner, gastrointestinal, solunum yolu, kemik eklem ve yumuşak doku sistemlerini ilgilendiren birçok infeksiyonun tedavisinde kullanılmaktadır. Florokinolonlar ayrıca veterinerlikte de sıklıkla kullanılan antibiyotikler arasında yer almaktadır^(35,37).

DİRENÇ GELİŞMESİ

Kinolon grubu antibiyotiklere direnç diğer antibiyotiklerde olduğu gibi doğal-intrensek ya da sonradan kazanılmış olabilmektedir. Bakterilerde bazal seviyede sentezlenen dışa geri atım pompaları bulunabilmektedir. Enerjiye bağımlı olan bu pompalar kinolonlar, betalaktamlar, aminoglikozitler, deterjanlar, boyalar gibi birbirinden yapısal olarak çok farklı antimikrobiyalleri hücre dışına atabilmektedir. Bakterilerde kazanılmış kinolon direnci ise çoğunlukla kromozomal mutasyonlar ile oluşmaktadır. Kromozomal mutasyonlar sonucunda ya kinolonların hedef enzimleri olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'ün alt birimlerinde değişiklik meydana gelmekte ya da kinolonları substrat olarak kullanan çoklu ilaç geri atım pompaları aktive olmaktadır. Bu tip kromozomal mutasyonlar kinolon direncinde hâlâ en sık ve en temel mekanizmadır. Ayrıca porinlerin sayısı düşürülerek hücre içine alımın azaltılması kinolon direncine katkıda bulunmaktadır. Nalidiksik asit antimikrobiyal etkisini büyük oranda DNA giraz üzerinden gerçekleştirirken, yeni kinolon türevleri etkisini hem DNA giraz hem de topoi-

zomeraz IV’ü etkileyerek göstermektedir. Her iki hedef enzimde oluşan değişiklikler ile yeni kinolon türevlerine de direnç gelişmektedir^(1,3,22,35).

Bakterilerde plazmit aracılı kinolon direnci

1987 yılında klinik örnekten izole edilen bir *Shigella dysenteriae* suşunda plazmit aracılı nalidiksik asit direncinin varlığı bildirilmiş, ancak bu iddia daha sonra kanıtlanmamıştır^(18,22). Plazmit aracılı kinolon direncinin varlığı ilk kez 1998 yılında Martinez-Martinez ve ark.⁽¹⁷⁾ tarafından Alabama Üniversitesi’ndeki bir hastanın idrar örneğinden 1994 yılında izole edilen siprofloksasine dirençli *K.pneumoniae* suşunda gösterilmiştir. Kinololara dirençte yeni bir dönem açan bu çalışmada suşta saptanan pMG252 plazmidinin kinolonlara, beta-laktamlara, aminoglikozitlere, sülfonamidlere, trimetoprim ve klo-ramfenikole direnç genlerini taşıdığı görülmüştür. Benzer plazmit aynı zamanda ve aynı kurumda izole edilen başka bir *K.pneumoniae* ve *Escherichia coli* suşunda da saptanmıştır. Yapılan araştırmalarla bu plazmitlerin konjugasyon yolu ile *E.coli*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi farklı cins ve türden suşlara aktarılabildiği gösterilmiştir. Transkonjugatlarda nalidiksik asit, norfloksasin, siprofloksasin, klinafloksasin, levofloksasin, pefloksasin, trovafloksasin için MİK’lerin 4-16 kat arttığı saptanmıştır. pMG252 plazmidinin klonlanması sonucu, 218 aminoasitten oluşan tekrarlayan pentapeptid ailesine ait bir proteini kodlayan ve *qnr* (*qnrA1*) ismi verilen gen bölgesinin plazmit aracılı kinolon direncine neden olduğu belirlenmiştir. İn-vitro çalışmalarla saflaştırılmış Qnr proteininin *E.coli* DNA girazını siprofloksasinin inhibisyonundan koruduğu gösterilmiştir. Qnr proteini tek başına düşük düzey kinolon direncine neden olmasına rağmen, kromozomal farklı mekanizmaların birlikteliği ile yüksek düzey kinolon direncine yol açabilmektedir^(16,17,32). Daha sonraki yıllarda *qnr* geni, yeni varyantlarının bulunması ile (*qnr*, *qnrA*, *qnrA1* gibi) tekrar isimlendirilmiştir. Ardından yapılan çalışmalarla 2005 yılında *qnrS*, 2006 yılında *qnrB*, 2008 yılında *qnrC*, 2009 yılında da *qnrD* genlerinin varlığı bildirilmiştir. *qnrS* Japonya’da bir besin zehirlenmesi sırasında 2003

yılında izole edilen *Shigella flexneri* suşunda saptanmıştır⁽⁹⁾. QnrA gibi 218 aminoasitten oluşan QnrS proteini, QnrA ile % 58 aminoasit benzerliği göstermektedir. *qnrB* Güney Hindistan (Coimbatore)’da 2002 yılında izole edilen ve CTX-M-15 beta-laktamazını üreten bir *K.pneumoniae* suşunda tanımlanmıştır⁽¹³⁾. *qnrB*, pentapeptid ailesinden 226 aminoasitlik bir proteini (QnrB) kodlar. QnrB’nin QnrA ile % 40, QnrS ile % 37 oranında aminoasit benzerliği gösterdiği bildirilmiştir. *qnrC* Çin (Shanghai)’de üriner sistemden 2008 yılında izole edilen *Proteus mirabilis* suşunda bildirilmiştir⁽³⁹⁾. *qnrC*’nin kodladığı 221 aminoasitlik proteinin *qnrA1*, *qnrB1*, *qnrS1* ve *qnrD* tarafından kodlanan proteinlerle sırasıyla % 64, % 42, % 59, % 43 oranında aminoasit benzerliği taşıdığı saptanmıştır. *qnrD* ise 2009 yılında Çin’de (Henan) 2006-2007 yıllarında insandan izole edilen *Salmonella enterica* serovar Bovismorbificans (n:3) ve Kentucky (n:1) suşlarında saptanmıştır⁽⁵⁾. Genel olarak Qnr proteinleri nalidiksik aside dirence ve norfloksasin, siprofloksasin, levofloksasin gibi florokinolonların duyarlılığında azalmaya neden olmasına rağmen *qnrD* pozitif suşların siprofloksasine azalmış duyarlılık gösterdikleri, nalidiksik asite ise duyarlı oldukları bildirilmiştir^(5,32). Bu güne kadar 6 *qnrA*, 4 *qnrS* ve 23 *qnrB* varyantı bildirilmiştir^(11,12).

qnr genleri, SHV, CTX-M, FOX, KPC, VEB, OXA, DHA gibi birçok farklı tipte beta-laktamazla birlikte bulunmaları yanında, *aadA1*, *aadA2*, *dfrA1*, *dfrA12*, *cmlA1*, *catB2*, *aac(6’)-Ib-cr*, *sull* gibi birçok farklı antimikrobiyal direnç geni ile de ilişkilendirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarla *qnr* genlerinin kaynağı araştırılmış, bir çalışmada *qnrA* geni varyantlarının *Shewanella algae* suşunda, *qnrS* geninin bir homologunun *Vibrio splendidus*’ta, *qnrB* homologlarının *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarında bulunduğu saptanmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise *Vibrio vulnificus*, *Vibrio fischeri*, *Photobacterium profundum* gibi bir çok *Vibrionaceae* türünde bulunan tekrarlayan pentapeptitlerin % 40-67 oranında Qnr proteini ile benzeştiği belirlenmiştir. *qnr* genlerinin su ve çevresel kaynaklı bakterilerde bulunması, bu genlerin yoğun kinolon grubu antibiyotik kullanımından dolayı hareketli gen transfer elemanlarına aktarıldığı düşü-

nülmektedir^(14,16,29,30,36).

2006 yılında farklı bir direnç geni olan *aac(6')-Ib-cr* geni keşfedilmiştir. *aac(6')-Ib* geni kanamisin, tobramisin ve amikasin direncine neden olan bir aminoglikozit asetiltransferazı kodlar. Bu genin bir varyantı olan *aac(6')-Ib-cr* geni ise norfloksasin ve siprofloksasin gibi bazı kinolonların enzimatik inaktivasyonuna ve sonuçta duyarlılığın azalmasına neden olmaktadır⁽³³⁾.

Düşük düzey kinolon direncine neden olan plazmit aracılı bu mekanizmaların tedavi dozlarındaki kinolon varlığında yüksek düzey direncin ortaya çıkmasını kolaylaştırdığı bildirilmektedir⁽³²⁾.

Diğer plazmit aracılı kinolon direncine neden olan *qepA* (quinolon efflux pump) geni ise 2007 yılında Japonya ve Belçika'da *E.coli* suşlarında gösterilmiştir. *qepA* geni 14 transmembran geri atım pompalarının MF (major facilitator) ailesiyle ilişkili olan 511 aminoasitlik bir proteini kodlayarak norfloksasin ve siprofloksasin gibi hidrofilik kinolonların hücre dışına pompalanmasına neden olmakta, böylece bu antibiyotiklerin MİK'lerini arttırmaktadır⁽⁴¹⁾. Bundan bir yıl kadar sonra Fransa'dan *qepA*'nın bir varyantı olan *qepA2*'nin varlığı bildirilmiştir⁽⁴⁾.

Çok yakın zamanda Velasco ve ark.⁽³⁸⁾ *Serratia marcescens* suşlarında kromozom kaynaklı *smaqnr* genini keşfetmişler, bu genin kinolon ve florokinolonlarda azalmış duyarlılığa neden olduğunu göstermişlerdir. *S.marcescens* Db11 suşunda bulunan *Smaqnr* proteinin *QnrB1* proteini ile % 80 oranında aminoasit benzerliği gösterdiği saptanmıştır.

Bugüne kadar yapılmış çalışmalara bakıldığında, plazmit aracılı kinolon direnci genlerinin sıklığının % 1 - % 50 gibi geniş bir aralıkta değiştiği görülmektedir. Bu durum, çalışmalarda belli ve farklı özellikte bakterilerin seçilmesinden kaynaklanmaktadır. Plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin kinolonlara duyarlı bakterilerde bulunabildiği gösterilmiş olmakla birlikte, çalışmaların çoğunda kinolonlara dirençli bakteriler *-Enterobacteriaceae* üyeleri- incelenmiştir⁽¹⁶⁾.

Türkiye'de plazmit aracılı kinolon direnci

Türkiye'de ilk plazmit aracılı kinolon

direnci geni, *qnr*, 2005 yılında Nazik ve ark.⁽²¹⁾ tarafından bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada 49 genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) pozitif suşta *qnrA* geni varlığı araştırılmış, bir *Enterobacter cloacae* ve bir *C.freundii* suşunda (% 4) bulunduğu gösterilmiştir. *E.cloacae* 33 yaşındaki bir erkek hastanın deri absesinden, *C.freundii* ise idrar yolu infeksiyonu nedeniyle siprofloksasin ile tedavi edilen 63 yaşında bir erkek hastadan izole edilmiştir. Konjugasyon yolu ile her iki suştaki kinolon direnci EJ53 suşuna aktararak traskonjugatları elde edilmiştir. *E.cloacae* transkonjugatlarının nalidiksik asit, kloramfenikol, tetrasiklin, kanamisin, tobramisin, streptomisin, sulfonamidler ve trimetoprim, *C.freundii* transkonjugatlarının ise bunlara ek olarak gentamisin ve rifampisine dirençli oldukları ve GSBL oluşturdukları belirlenmiştir. İleri incelemeler sonucu *E.cloacae*'nin 50 kb konjugatif plazmidi üzerinde *qnrA* ve *bla_{SHV-7}* geni bulunduğu saptanmıştır. *C.freundii* suşunun ise 170 kb konjugatif ve 50 kb non-konjugatif olmak üzere iki plazmitinin olduğu, birincisinde *qnrA* ve *bla_{VEB-1}*, ikincisinde *bla_{OXA-48}* genlerinin taşındığı gösterilmiştir. Karbapenemleri hidrolize edebilen OXA-48 beta-laktamazı ülkemizden sık olmasa da bazı çalışmalarda bildirilmiş olmakla birlikte, VEB-1 tipi GSBL ilk olarak bu çalışmada gösterilmiştir. OXA-48 ve VEB-1 beta-laktamazlarının birlikte bulunması, karbapenemler dahil tüm beta-laktamlara dirence yol açmıştır. Ayrıca farklı direnç genlerinin aynı bakteride bulunması ile nalidiksik asit, kloramfenikol, tetrasiklin, kanamisin, tobramisin, streptomisin, sulfonamidler, trimetoprim, gentamisin ve rifampisin gibi çoğu farklı gruptan birçok antibiyotiğe direnç gelişmesine neden olmuştur.

Daha sonra İstanbul, Ankara, İzmir, Kuzey Doğu Anadolu'dan plazmitte kodlanan çeşitli [*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aaa(b)-Ib-cr*] kinolon direnç genleri bildirilmiştir (Tablo).

Avşaroğlu ve ark.⁽²⁾, yiyeceklerden izole edilen *Salmonella enterica* serovar Virchow suşları ile yaptıkları bir çalışmada kinolon ve ampisiline direnç mekanizmalarını araştırmışlar, nalidiksik aside dirençli, siprofloksasine azalmış duyarlılık gösteren ve *gyrA* geninde mutasyon saptanan dokuz suşun üçünde *qnrS1* ve bu suşlarda ayrıca TEM-1 tipi beta-laktamaz pozitifliği

Tablo. Plazmit aracılı kinolon direnci ile ilgili Türkiye’de yapılmış çalışmalar.

Kaynak	Bölge	İzolasyon yılı	İncelenen toplam suş sayısı	İncelenen bakteriler (n)	Araştırılan genler	Bulgular	İlişkili beta-laktamaz
Nazik ve ark. ⁽²¹⁾ , 2005	İstanbul	2002-2004	49	E.coli (36) K.pneumoniae (7) Enterobacter spp. (4) Citrobacter spp. (2)	<i>qnrA</i>	E.cloacae [<i>qnrA</i> (n:1)] C.freundii [<i>qnrA</i> (n:1)]	SHV-7 OXA-48 VEB-1
Avşaroğlu ve ark. ⁽²⁾ , 2007	Ankara	2005-2006	9	S.Virchow (9)	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i>	S.Virchow [<i>qnrS1</i> (n:3)]	TEM-1
Nazik ve ark. ⁽²⁰⁾ , 2008	İstanbul	2000,2006	460	E.coli (117) K.pneumoniae (108) Acinetobacter spp. (81) Pseudomonas spp. (72) Enterobacter spp. (30) Non-fermentatif Gram negatif çomak (22) P.mirabilis (9) Serratia spp. (8) K.oxytoca (6) P.vulgaris (5) Citrobacter spp. (2)	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i>	E.cloacae [<i>qnrB1</i> (n:1)] [<i>qnrS1</i> (n:2)]	CTX-M-3 CTX-M-15
Öktem ve ark. ⁽²³⁾ , 2008	İstanbul Ankara Antalya İzmir	2004	78	E.coli (34) K.pneumoniae (44)	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i>	K.pneumoniae [<i>qnrA</i> (n:4)] E.coli [<i>qnrA</i> (n:1)]	CTX-M SHV TEM
Poirel ve ark. ⁽²⁶⁾ , 2008	Belirtilmemiş	2006	248	E.coli (138) K.pneumoniae (110)	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i> <i>aac(6’)-Ib-cr</i>	K.pneumoniae [<i>qnrB1</i> (n:1)] GSBL (+) suş (n:50) [<i>aac(6’)-Ib-cr</i> (suşların % 78’i +)]	CTX-M-15 SHV-12 OXA-48
Öktem ve ark. ⁽²⁵⁾ , 2008	İzmir	2005-2006	356	Enterobacteriaceae	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i>	<i>qnrA</i> (n:6) <i>qnrS</i> (n:3)	
Öngen ve Nazik ⁽²⁷⁾ , 2008	İstanbul	2008	61	Campylobacter spp.	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i>	<i>qnrA</i> (saptanmadı) <i>qnrB</i> (saptanmadı) <i>qnrS</i> (saptanmadı)	
Nazik ve ark. ⁽¹⁹⁾ , 2009	İstanbul	2006-2007	1044	E.coli (694) K.pneumoniae (243) Acinetobacter spp. (37) Pseudomonas spp. (29) K.oxytoca (18) Enterobacter spp. (15) S.maltophilia (7) Salmonella spp. (1)	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i> <i>aac(6’)-Ib-cr</i>	K.pneumoniae [<i>qnrA</i> (n:1)] <i>qnrB</i> (n:6) <i>qnrS</i> (n:2)] E.coli [<i>qnrA</i> (n:3) <i>qnrB</i> (n:2) <i>qnrS</i> (n:1)] Enterobacter spp. [<i>qnrA</i> (n:4) <i>qnrS</i> (n:1)]	CTX-M SHV TEM
Özgümüş ve ark. ⁽²⁴⁾ , 2009	Kuzey Doğu kıyı şeridindeki farklı nehirler	2003-2004	183	E.coli (88), K.pneumoniae (35), K.oxytoca (12), Enterobacter spp.(23), C.koseri (20), C.freundii (3), P.vulgaris (2)	<i>qnrA</i> <i>qnrB</i> <i>qnrS</i>	E.coli [<i>qnrS</i> (n:1)] K.pneumoniae [<i>qnrS</i> (n:1)]	

saptamışlardır.

Diğer bir çalışmada, yoğun bakım hastalarından izole edilen toplam 460 (347'si klinik örnek, 113'ü rektal sürüntü örneğinden) Gram negatif bakteride *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* genleri araştırılmış, üç (% 0.65) *E.cloacae* suşunda bir *qnrB1* ve iki *qnrS1* geni saptanmıştır. Tamamı GSBL pozitif ve siprofloksasine duyarlı üç *E.cloacae* suşundan ikisinin CTX-M-3 (*qnrS1*), birinin ise CTX-M-15 (*qnrB1*) beta-laktamazını ürettiği belirlenmiştir⁽²⁰⁾.

Poirel ve ark.⁽²⁸⁾ Türkiye'de farklı hastanelerde izole edilen ve GSBL oluşturan toplam 248 *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşunda *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6')-Ib-cr* genlerinin sıklığını araştırmışlar, bir *K.pneumoniae* suşunda farklı plazmitler üzerinde *qnrB1* ve *aac(6')-Ib-cr* genlerini saptamışlar, ayrıca *aac(6')-Ib-cr* geninin GSBL oluşturan izolatların (n:50) % 78'inde bulunduğunu göstermişlerdir.

Öngen ve Nazik⁽²⁷⁾'in % 61'i siprofloksasine dirençli olan 61 *Campylobacter* suşu ile yaptıkları bir çalışmada *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genleri araştırılmış ancak araştırılan genlerden herhangi birine rastlanmamıştır.

Öktem ve ark.⁽²⁵⁾ kan kültürlerinden izole edilen 356 *Enterobacteriaceae* üyesinde *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin varlığını araştırmışlar, kinolon dirençli altı suşta *qnrA*, üç suşta *qnrS* geni saptamışlardır. *qnrA* saptanan suşların ikisinin ve *qnrS* saptanan suşların birinin GSBL oluşturduğu gözlenmiştir. Öktem ve ark.⁽²³⁾'ün yaptıkları başka bir çalışmada *E.coli* ve *K.pneumoniae* suşlarından oluşan 78 suş incelenmiş, dört *K.pneumoniae* ve bir *E.coli* suşunda *qnrA* geni saptanmıştır. Yine aynı araştırmacılar diğer bir çalışmada diz protezi ameliyatı nedeniyle yatmakta olan bir kadın hastanın doku örneğinden izole edilen *K.pneumoniae* suşunda *qnrB* geni saptadıklarını bildirmişlerdir⁽²⁶⁾.

Diğer bir çalışmada 971'i *Enterobacteriaceae* üyesi, 73'ü non-fermentatif Gram negatif çomak olmak üzere toplam 1044 suşta *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* ve *qnr*-pozitif suşlar arasında *aac(6')-Ib-cr* araştırılmıştır⁽¹⁹⁾. Suşların % 44'ü GSBL pozitif, % 22'si GSBL pozitif ve siprofloksasine dirençli, % 33'ü ise siprofloksasine dirençli bulunmuştur. 20 (% 1.9) suş *qnr*-pozitif bulunurken, *qnr*-pozitif suşlar arasında üç *aac(6')-Ib-cr*

geninin varlığı saptanmıştır. Dört *Enterobacter* spp., üç *E.coli*, bir *K.pneumoniae* suşunda *qnrA*, altı *K.pneumoniae*, iki *E.coli* suşunda *qnrB*, iki *K.pneumoniae*, bir *E.coli*, bir *Enterobacter* spp. suşunda *qnrS* varlığı saptanmıştır. Siprofloksasine dirençli üç *aac(6')-Ib-cr*-pozitif suşun ikisinin *qnrB*-pozitif *K.pneumoniae*, birinin *qnrA*-pozitif *E.coli* olduğu belirlenmiştir. *qnr* geni saptanan 20 suştan, 10'u siprofloksasine dirençli (MİK: >4 µg/mL), 2'si orta duyarlı (MİK: 1-4 µg/mL), 8'i duyarlı (MİK < 1 µg/mL) bulunmuştur. *qnrS*-pozitif bir *Enterobacter* suşu dışında siprofloksasine dirençli tüm *qnr*-pozitif suşların TEM, SHV ve CTX-M tipi beta-laktamazlardan en az birini taşıdığı saptanmıştır. Çalışmada CTX-M tipi beta-laktamazların *qnr*-pozitif suşlar arasında daha sık rastlandığı belirlenmiştir⁽¹⁹⁾.

Özgümüş ve ark.⁽²⁴⁾ Türkiye'nin kuzeydoğu bölgesindeki on nehirden aldıkları su örneklerinden izole ettikleri 183 koliform bakteride antibiyotik direnç mekanizmalarını araştırırken bir *E.coli* ve bir *K.pneumoniae* suşunun transkonjugatlarının nalidiksik asite yüksek düzeyde dirençli (MİK: 128 µg/mL) olduklarını saptamışlardır. Ardından bu suşlarda *qnrA*, *qnrB* ve *qnrS* genlerinin varlığını araştırmışlar ve her iki suşta *qnrS* geninin bulunduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar nehirler gibi çevresel kaynakların çoğul dirençli *Enterobacteriaceae* üyeleri için bir rezervuar rolü oynayabileceğini vurgulamışlardır.

Kinolonların klinik kullanıma girmesinden itibaren yaklaşık 40 yıllık süreçteki bilgilerimizin aksine kinolonlara direncin plazmitle ilişkili olabildiği *qnr* genlerinin gösterilmesiyle gündeme gelmiş ve büyük ilgi uyandırmıştır. Böylece, birçok antibiyotik grubunda olduğu gibi kinolonların direncinden sorumlu genlerin de plazmitlerle aktarılabilir olması, artan direnç oranları ile bu antibiyotiklerin de yakın zamanda klinikte kullanımını sınırlandıracak gibi görünmektedir. Ayrıca bu genleri taşıyan suşların in-vitro olarak kinolonlara duyarlı bulunabilmesi, böylelikle rutinde kullanılan tekniklerle kolayca saptanamaması, gerek antibiyotik kullanım politikalarının gerekse infeksiyon kontrol önlemlerinin alınmasında güçlükler neden olabilecektir. Bu konuda dünya genelinde birçok çalışma yapılmış olmakla birlikte, ülkemizde

yukarıda irdelemeye çalıştığımız sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Çok merkezli çalışmalarla plazmit aracılı kinolon direnç genlerinin prevalansının takibi, gelecekte kinolon grubu antibiyotiklerin tedavi protokollerindeki yerine ışık tutması açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Andriole VT: The quinolones: past, present, and future, *Clin Infect Dis* 2005;41 (Suppl 2):S113-9.
2. 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.
3. Bradbury BJ, Pucci MJ: Recent advances in bacterial topoisomerase inhibitors, *Curr Opin Pharmacol* 2008;8(5):574-81.
4. Cattoir V, Poirel L, Nordmann P: Plasmid-mediated quinolone resistance pump *QepA2* in an *Escherichia coli* isolate from France, *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(10):3801-4.
5. Cavaco LM, Hasman H, Xia S, Aarestrup FM: *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin, *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(2):603-8.
6. Courvalin P: Plasmid-mediated 4-quinolone resistance: a real or apparent absence ?, *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34(5):681-4.
7. Fish DN, North DS: Gatifloxacin, an advanced 8-methoxy fluoroquinolone, *Pharmacotherapy* 2001;21(1):35-59.
8. Gür D, Ünal S: Resistance to antimicrobial agents in Mediterranean countries, *Int J Antimicrob Agents* 2001;17(1):21-6.
9. Hata M, Suzuki M, Matsumoto M et al: Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b, *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(2):801-3.
10. Hooper DC, Strahilevitz J: Quinolones, “Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practices of Infectious Diseases*, 7 ed.” kitabında s. 487-510, Elsevier Chirchill Livingstone, Philadelphia (2010).
11. <http://www.lahey.org/qnrstudies/>.
12. Jacoby G, Cattoir V, Hooper D et al: *qnr* gene nomenclature, *Antimicrob Agents Chemother* 2006;52(7):2297-9.
13. Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM et al: *qnrB*, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance, *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(4):1178-82.
14. Li XZ: Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated mechanisms, *Int J Antimicrob Agents* 2005;25(6):453-63.
15. Mammeri H, Van De Loo M, Poirel L, Martinez-Martinez L, Nordmann P: Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe, *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(1):71-6.
16. Martinez-Martinez L, Eliecer Cano M, Manuel Rodriguez-Martinez J, Calvo J, Pascual A: Plasmid-mediated quinolone resistance, *Expert Rev Anti Infect Ther* 2008;6(5):685-711.
17. Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA: Quinolone resistance from a transferable plasmid, *Lancet* 1998;351(9105):797-9.
18. Munshi MH, Sack DA, Haider K, Ahmed ZU, Rahaman MM, Morshed MG: Plasmid-mediated resistance to nalidixic acid in *Shigella dysenteriae* type 1, *Lancet* 1987;2(8556):419-21.
19. Nazik H, İlktaç M, Öngen B: Prevalence of *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* and *aac(6’)-Ib-cr* (in *qnr*-positive isolates) among the ESBL-positive and/or ciprofloxacin-resistant isolates in Turkey, *J Chemother* 2009;21(2):219-21.
20. 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.
21. 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.
22. Nordmann P, Poirel L: Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(3):463-9.
23. 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.
24. Ozgumus OB, Sandalli C, Sevim A, Celik-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.
25. Öktem İMA, Biçmen M, Gülay Z: Kan kültürlerinden soyutlanan Enterobacteriaceae izolatlarında plazmit ile ilişkili kinolon direnci genlerinin sap-

- tanması, 8. Antimikrobik ve Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı, P.28, Türk Mikrobiyoloji Cem. yayını No.57, İstanbul (2008).
26. Öktem MA, Biçmen M, Gülay Z: Türkiye'den ilk qnrB olgusu, 8. Antimikrobik ve Kemoterapi Günleri, Program ve Özet Kitabı, P.29, Türk Mikrobiyoloji Cem. yayını No.57, İstanbul (2008).
 27. Öngen B, Nazik H: Investigation of plasmid mediated quinolone resistance among *Campylobacter* strains, *Farmacie Terapia* 2008;25(3-4):37-9.
 28. 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, P1527, Barcelona (2008).
 29. Poirel L, Liard A, Rodriguez-Martinez JM, Nordmann P: Vibrionaceae as a possible source of Qnr-like quinolone resistance determinants, *J Antimicrob Chemother* 2005;56(6):1118-21.
 30. Poirel L, Rodriguez-Martinez JM, Mammeri H, Liard A, Nordmann P: Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA, *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(8):3523-5.
 31. Rice LB, Bonomo RA: Mechanisms of resistance to antibacterial agents, "Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 9 ed." kitabında s.1114-45, ASM Press, Washington (2007).
 32. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC: The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance, *Lancet Infect Dis* 2006;6(10):629-40.
 33. 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.
 34. Rodriguez-Martinez JM, Poirel L, Pascual A, Nordmann P: Plasmid-mediated quinolone resistance in Australia, *Microb Drug Resist* 2006;12(2):99-102.
 35. Ruiz J: Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection, *J Antimicrob Chemother* 2003;51(5):1109-17.
 36. Saga T, Kaku M, Onodera Y, Yamachika S, Sato K, Takase H: *Vibrio parahaemolyticus* chromosomal qnr homologue VPA0095: demonstration by transformation with a mutated gene of its potential to reduce quinolone susceptibility in *Escherichia coli*, *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(5): 2144-5.
 37. Schwarz S, Chaslus-Dancla E: Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance, *Vet Res* 2001;32(3-4):201-25.
 38. Velasco C, Rodriguez-Martinez JM, Briaies A, DiazdeAlba P, Calvo J, Pascual A: Smaqnr, a new chromosome-encoded quinolone resistance determinant in *Serratia marcescens*, *J Antimicrob Chemother* 2009 (doi:10.1093/jac/dkp424):1-4.
 39. Wang M, Guo Q, Xu X, et al: New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*, *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(5):1892-7.
 40. Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC: Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China, *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(7):2242-8.
 41. 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.