

Klinik *Pseudomonas aeruginosa* İzolatlarında Siprofloksasin Direnci ve Direnç Mekanizmalarının Araştırılması

Investigation of Ciprofloxacin Resistance and Its Mechanisms in Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates

Nilüfer Uzunbayır Akel ©
Yamaç Tekintaş ©
Fethiye Ferda Yılmaz ©
İsmail Öztürk ©
Mustafa Ökeer ©
Sabire Şöhret Aydemir ©
Fatma Feriha Çilli ©
Mine Hoşgör-Limoncu ©

Öz

Pseudomonas aeruginosa hastane enfeksiyonlarının en temel etkenlerinden biridir. Farklı antibiyotik grupları *P.aeruginosa* tedavisi için kullanılsa da, kinolon grupları oral kullanılabilme avantajlarıyla öne çıkmaktadır. Ancak son yıllarda bu grubun üyelerine karşı kazanılan direnç, tedaviyi giderek daha zor hale getirmektedir. Bu çalışmanın amacı Ege Üniversitesi Hastanesi'nden izole edilen siprofloksasin dirençli *P.aeruginosa* izolatlarında, epidemiyolojik ilişkinin ve dirençten sorumlu olası mekanizmaların araştırılmasıdır.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* bakterilerinin tür düzeyinde tanımlanmaları VITEK compact, antimikrobiyal duyarlılıkları VITEK MS otomatize sistemleri aracılığıyla belirlenmiştir. Siprofloksasin dirençli olduğu belirlenen izolatların epidemiyolojik ilişkileri "Enterobacterial repetitive intergenic consensus"-polimeraz zincir reaksiyonu (ERIC-PZR) ile saptanmıştır. Genetik olarak ilişkisiz klonlardan seçilen temsilcilerde kinolon direncinden sorumlu olacağı düşünülen *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* genlerinin varlığı PZR ile tespit edilmiştir. Dışa atım pompasına ait regülatör genleri olan *rfxB*, *mexR* varlığı PZR ile belirlenirken, phenylalanine-arginine β -naphthylamide (PA β N), dışa atım pompasının aktivasyonunun tespiti için kullanılmıştır.

Yirmi iki izolat (% 26.5) siprofloksasin dirençli olarak saptanmıştır. ERIC-PZR sonuçlarına göre 11 ilişkisiz klon tespit edilmiştir. PA β N varlığında 10 izolatta siprofloksasin minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) değerlerinde 2-64 kat arasında azalma görülmüştür. Bir izolatta siprofloksasin MIK değişikliği belirlenmemiştir. On bir temsilci izolatın 10 tanesinde pompaya ait regülatör genlerinin varlığı belirlenirken, kinolon direnciyle ilişkili olan genlerden sadece *qnrB* yedi temsilci izolatta saptanmıştır. *qnrA*, *qnrS*, *qepA* genleri hiçbir izolatla belirlenmemiştir.

Siprofloksasin dirençli *P.aeruginosa* izolatları hastanemizden izole edilmektedir. Farklı genetik gruplara ait olan izolatların kliniklerde dolaşımında olması dikkat çekici bir durumdur. Temel direnç mekanizmalarının dışa atım pompası ve *qnrB* genleri olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: direnç, *Pseudomonas aeruginosa*, PZR, siprofloksasin

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is one of the most important causes of hospital infections. Although different antibiotic groups are used for the treatment of *P.aeruginosa* infections, quinolone groups are distinguished by the advantages of oral administration. However, in recent years, resistance against members of this group has made treatment more difficult. The aim of this study was to investigate the epidemiological relationship and possible mechanisms of resistance in ciprofloxacin resistant *P. aeruginosa* isolates from Ege University Hospital.

The identification of *P.aeruginosa* bacteria isolated from clinical samples in Ege University Medical Faculty Medical Microbiology Laboratory was determined by VITEK MS automated systems by VITEK compact, antimicrobial susceptibility. The epidemiological relationships of the ciprofloxacin resistant isolates were determined by Enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction (ERIC-PCR). The presence of *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* genes, the quinolone resistance genes and *rfxB*, *mexR*, the regulatory genes of the efflux pump, was determined by PCR. The phenylalanine-arginine β -naphthylamide (PA β N) assay was used to determine the activation of the efflux pump.

Twenty-two isolates (26.5 %) were found resistant to ciprofloxacin. According to the ERIC-PCR results, 11 unrelated clones were detected. Ciprofloxacin minimum inhibitory concentration (MIC) values were decreased 2-64 times in 10 isolates in the presence of PAIN. No ciprofloxacin MIC change was detected in one isolate. The presence of pump regulatory genes was determined in 10 of the 11 representative isolates, while only *qnrB* of the genes associated with quinolone resistance was detected in seven representative isolates. *qnrA*, *qnrS*, *qepA* genes were not detected in any isolate.

Ciprofloxacin resistant *P.aeruginosa* isolates are isolated from our hospital. It is noteworthy that the isolates belonging to different genetic groups are in circulation in clinics. Basic resistance mechanisms are thought to be efflux pumps and *qnrB* genes.

Keywords: ciprofloxacin, PCR, *Pseudomonas aeruginosa*, resistance

Received/Geliş: 19.02.2021
Accepted/Kabul: 12.04.2021
Published Online/Online Yayın: 29.04.2021

Atf/Cite as: Uzunbayır Akel N, Tekintaş Y, Yılmaz FF, Öztürk İ, Ökeer M, Aydemir SŞ, Çilli FF, Hoşgör-Limoncu. Klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında siprofloksasin direnci ve direnç mekanizmalarının araştırılması. ANKEM Derg. 2021;35(1):22-7.

Mine Hoşgör-Limoncu
Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İzmir - Türkiye
✉ mine.hosgor.limoncu@ege.edu.tr
minehosgorlimoncu@yahoo.com.tr
ORCID: 0000-0002-4892-8639

N. U. Akel 0000-0001-8192-5272
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
Genel Cerrahi Anabilim Dalı
İzmir - Türkiye

Y. Tekintaş 0000-0001-9437-7527
İ. Öztürk 0000-0002-2669-3090
İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İzmir - Türkiye

F.F. Yılmaz 0000-0003-1102-7826
M. Ökeer 0000-0003-2869-7025
Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İzmir - Türkiye

S.Ş. Aydemir 0000-0001-8354-9100
F.F. Çilli 0000-0003-3993-3396
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
İzmir - Türkiye

*Bu çalışmanın bir kısmı 10th Balkan Congress of Microbiology Kongresi'nde sunulmuştur. Poster no.27 (16-18 Kasım 2017, Sofya, Bulgaristan)

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa dış çevre ortamlarından, insan mikrobiyotasına kadar çok geniş bir alanda yaşayabilme yeteneğine sahip önemli bir fırsatçı patojendir⁽¹³⁾. Sağlık kuruluşlarında oldukça sık izole edilen bu bakterinin nozokomiyal enfeksiyonların yaklaşık % 10-15'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir⁽²³⁾. Farklı ortamlarda yaşayabilmesi ve pulmoner ve üriner sistem enfeksiyonları, bakteriyemi, endokardit ve yanık enfeksiyonları gibi farklı bölgelerde enfeksiyona neden olabilmesi bakterinin yüksek adaptasyon yeteneğiyle ilişkilendirilmektedir. Farklı koşullara hızlıca adapte olabilmesi, özellikle kliniklerde antibiyotik ve dezenfektan stresi altındaki durumlarda hızlıca dirençli suşların seçilimine neden olmaktadır. Özellikle son yıllarda hemen tüm antimikrobiyal gruplarına dirençli izolatların etken olarak gözükmesi, tedavinin daha zor hale gelmesine ve artan ölüm oranlarına neden olmasını sağlamıştır⁽²²⁾.

Pseudomonas aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde farklı antibiyotik grupları kullanılmaktadır. Bununla birlikte kinolon grupları kolay ulaşılabilirlik ve oral tedavi olanağı gibi avantajları nedeniyle sık kullanılan molekülüdür. 1980'li yılların sonundan beri enfeksiyon tedavisinde başarıyla kullanılan bu moleüller DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek etkinlik gösterirler^(1,22). Özellikle siprofloksasin dünya sağlık örgütü tarafından esansiyel ilaçlar listesinde yerini almıştır. Bu gibi sebepler nedeniyle bu ilaca karşı oluşan hızlı direnç pek çok araştırmacının dikkatini çekmiştir⁽²⁰⁾. Bu moleküle karşı direncin ve sorumlu mekanizmaların tanımlanmasının, tedavi protokolleri açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın amacı kinolon dirençli *P.aeruginosa* izolatlarının epidemiyolojik ilişkisini ve dirençten sorumlu olması muhtemel mekanizmaların ortaya konulmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda farklı kliniklerden izole edilen örnekler VITEK MS otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) ile tür tayini yapılarak tanımlanmıştır. Bakteriler çalışılncaya kadar % 10 gliserinli buyyonda -80°C'de stoklanmıştır. İzolatlara ait antibiyotik duyarlılıkları VITEK 2 Compact® otomatize sistemi (bioMérieux, Fransa) kullanılarak belirlenmiştir. Otomatize sistemde elde edilen sonuçlar Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI)⁽⁶⁾ kriterleri doğrultusunda duyarlı, orta derece duyarlı ve dirençli olarak sınıflandırılmıştır.

Tüm polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) çalışmalarında kullanılmak üzere, DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla taze kültürden alınan koloniler steril ependorflar içerisindeki 400 µl steril ultra distile su (UDS) ile süspansiyon edilmiş ve 10 dk. vortekslenmiştir. Daha sonra 95°C'lik ısı bloğunda 10 dk. bekletilmiş, +4°C derecede 13.000 rpm'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Süpernatant, steril boş mikrotüplere alınarak kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Pseudomonas aeruginosa olduğu belirlenen ve kinolonlara dirençli olduğu saptanan izolatların epidemiyolojik olarak yakınlıklarını belirlemek için "Enterobacterial repetitive intergenic consensus"-polimeraz zincir reaksiyonu (ERIC-PZR) çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla tekrarlayıcı gen dizileri olan ERIC sekanslarını hedef alan primerler kullanılmıştır. (Tablo 1) Deney sonucunda elde edilen bant paternleri baz alınarak Jaccard katsayıları (S_j) hesaplanmış ve MEGA 4 programı aracılığıyla UPGMA dendogramı oluşturulmuştur. $S_j < 0.8$ ise, iki suş klonal olarak farklı olarak kabul edilmiştir. Her bir klondan seçilen temsilci izolatlar sayesinde direnç genleri, düzenleyici genlerin varlığı ve dışa atım pompasının aktivasyon deneyleri yapılmıştır.

Siprofloksasin direnç genleri ve dışa atım pompa genlerinin tespiti için ilgili bölgeleri hedef alan primerler (Tablo 1) kullanılarak yapılan DNA amplifikasyonları agaroz jelde yürütülerek görüntülenmiştir. İzolatlardaki dışa atım pompalarının aktif olup olmadıklarının tespiti siprofloksasin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin PAßN varlığında incelenerek karşılaştırılmasıyla tespit edilmiştir. MİK

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primer dizileri.

Gen	Primer Dizisi (5'-3')	Referans	Bağlanma Sıcaklığı
ERIC-2	AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G	(12)	40 C°
mexR-1	CTG GAT CAA CCA CAT TTA CA	(24)	55 C°
mexR-2	CTT CGA AAA GAA TGT TCT TAA A	(24)	55 C°
nfxB-1	ACG CGA GGC CAG TTT TCT	(24)	60 C°
nfxB-2	ACT GAT CTT CCC GAG TGT CG	(24)	60 C°
qnrS-1	ACG ACA TTC GTC AAC TGC AA	(10)	63 C°
qnrS-2	TAA ATT GGC ACC CTG TAG GC	(10)	63 C°
qnrA-1	ATT TCT CAC GCC AGG ATT TG	(10)	52 C°
qnrA-2	GAT CGG CAA AGG TTA GGT CA	(10)	52 C°
qnrB-1	GAT CGT GAA AGC CAG AAA GG	(10)	50 C°
qnrB-2	ACG ATG CCT GGT AGT TGT CC	(10)	50 C°
qepA-1	GCA GGT CCA GCA GCG GGT AG	(8)	62 C°
qepA-2	CTT CCT GCC CGA GTA TCG TG	(8)	62 C°

Tablo 2. İzolasyon yapılan klinikler.

Klinikler	İzolot sayısı
Göğüs Hastalıkları	7
Anestezi	4
Pediyatri	3
Kardiyoloji	1
Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	1
Ortopedi	1
KBB	1
Üroloji	1
Gastroenteroloji	1
Radyoloji	1
Acil kliniği	1

değerlerinde 4 kat ve üzeri azalmalar pompaların aktive olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

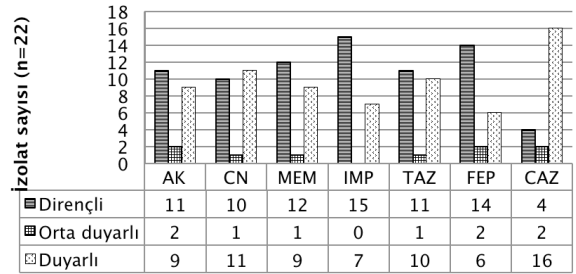
BULGULAR

Ekim 2014-Ocak 2015 tarihleri arasında hastane-mizde 83 adet *P.aeruginosa* izolotu belirlenmiştir. Bu izolotlar içerisinde 22 tanesinin siprofloksasin direnci gösterdiği saptanmıştır. Dirençli izolotlar 11 farklı klinikte tespit edilirken, Göğüs hastalıkları kliniği en çok izolasyonun yapıldığı klinik olarak belirlenmiştir. (Tablo 2).

Kinolon direnci gözlemlenen bu izolotların diğer antibiyotik gruplarına olan duyarlılıkları incelendiğinde, imipenem direncinin (% 68,2) oldukça yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Şekil 1'de antibiyotik duyarlılıkları özetlenmiştir.

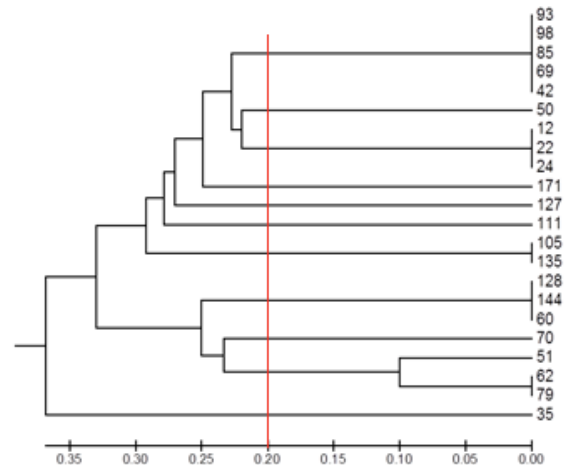
ERIC-PZR ile dirençli izolotların genetik yakınlıkları incelendiğinde % 80 benzerlik üzerinden 22 adet

Siprofloksasin dirençli izolotların antimikrobiyal duyarlılıkları



Şekil 1. Siprofloksasin dirençli izolotların antibiyotik duyarlılıkları. AK: Amikasin, CN: Gentamisin, MEM: Meropenem, IMP: Imipenem, TAZ: Tazobaktam, FEP: Sefepim, CAZ: Seftazidim

izolotun, 11 genetik ilişkisiz grupta yer aldıkları belirlenmiştir. 24, 35, 50, 70, 79, 85, 111, 127, 135, 144, 171 numaralı izolotlar genetik olarak ilişkisiz klonların temsilcileri olarak seçilmişlerdir (Şekil 2).



Şekil 2. İzolotlara ait ERIC-PZR dendrogramı (Kırmızı çizgi %80 benzerlik hattını (SJ 0.8) belirtmektedir.)

Tablo 3. Temsilci izolatlarda kinolon direnci ve dışa atım pompasına ait özellikler.

İzolat numarası	Kinolon direnç genleri			DAP genleri			DAP aktivasyonu		Siprofloksasin duyarlılığında azalma
	<i>qnrA</i>	<i>qnrB</i>	<i>qnrS</i>	<i>qepA</i>	<i>mexR</i>	<i>nfxB</i>	Cip (µg/mL)	Cip+PAβN (µg/mL)	
24	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	32	16	2 (kat)
35	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	16	2	8 (kat)
50	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	32	4	8 (kat)
70	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	8	1	8 (kat)
79	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	4	0,25	8 (kat)
85	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	16	16	0
111	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	32	8	4 (kat)
127	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	32	16	2 (kat)
135	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	2	0,5	4 (kat)
144	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	8	0,25	16 (kat)
171	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	16	0,125	64 (kat)

DAP: Dışa atım pompası, Cip: Siprofloksasin, PAβN: Phenyl-arginine beta naphthylamide

İzolatlarda siprofloksasin direncinden sorumlu mekanizmalar incelendiğinde, *qnrA*, *qnrS* ve *qepA* genleri hiçbir izolatta saptanmamıştır. *qnrB* geni ise 11 ayrı genetik klonu ait temsilcilerin yedi tanesinde belirlenmiştir (Tablo 3). Dışa atım pompa ilişkili düzenleyici genler olan *nfxB* ve *mexR* genleri 10 ayrı genetik klon temsilcisinde saptanmıştır. Ayrıca bu temsilcilerin dışa atım pompalarının aktivasyonu incelendiğinde PAβN ile 4 kat ve üzeri artış gösteren sekiz ayrı genetik temsilci olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

TARTIŞMA

Antimikrobiyal direnç nedeniyle enfeksiyon sağaltımında karşılaşılan problemler tüm dünyada önemli bir sorun haline gelmiştir. Hemen tüm ülkelerde ve kliniklerde izole edilen dirençli bakteriler, mortalite ve morbidite oranlarında artışa neden olmaktadır. Bu duruma ek olarak yeni antimikrobiyallerin kullanıma girme hızının düşmesi, yaşanan direnç probleminin boyutlarını artırmaktadır. Bu dirençli izolatlarla ait özelliklerin daha iyi tanımlanması cephanemizdeki moleküllerin daha akılcı kullanılabilmesi açısından önem arz etmektedir⁽¹⁸⁾.

Pseudomonas aeruginosa en sık izole edilen nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinden biridir. Normal bireylerde nadiren enfeksiyona yol açmasına rağmen, fırsatçı patojen olarak sıklıkla izole edilmek-

tedir. Farklı antibiyotik gruplarına hızlıca dirençli hale gelmesi, farklı gen ve sistemler aracılığıyla direnç göstermesi ve bu direnci başka izolatlara aktarabilmesi gibi nedenler tedavisini oldukça zor hale getirmektedir^(14,17).

Sentetik olarak üretilen ilk antimikrobiyaller olan kinolon grupları DNA giraz ve topoizomeras IV, enzimlerini inhibe ederek etkinlik gösterirler. Bakteri içerisinde genetik materyalin istikrarlı şekilde sığabilmesini sağlayan bu enzimlerin yokluğunda bakteri hücrenin ölümü gerçekleşmektedir. Kinolonlar, *P.aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotik gruplarıdır. Bu moleküllerin tek başlarına kullanılabilirliğinin yanında, çeşitli gruplarla kombine halde kullanılabilmesi, oral kullanımlarının mümkün olması gibi avantajları bulundurmaları, sıklıkla tercih edilmelerine sebep olmaktadır. Son yıllarda hızlıca görülmeye başlanan kinolon direnci farklı mekanizmalar aracılığıyla oluşabilmektedir. Bu mekanizmalar, dışa atım pompa genleri, enzimi kodlayan genlerde görülen mutasyonlar ve plazmit aracılığıyla olabilmektedir⁽¹⁶⁾.

Ülkemizde ve dünyada yapılmış çalışmalar incelendiğinde dışa atım pompaları aracılığıyla gelişen direncin önemli bir sorun olduğu bilinmektedir. "Resistance Nodulation Division" (RND) olarak tanımlanan pompa ailesi *P.aeruginosa*'da önemli direnç mekanizmalarında biridir. Oldukça fazla üyesi (günümüze kadar tanımlana 11 adet) bulunan bu

pompa ailesinde mexAB-oprM, mexXY-oprM, mexEF-oprN ve mexCD-oprJ pompa sistemleri, klinik izolatlardaki dirençle ilişkilendirilmiştir⁽¹⁹⁾. Bizim çalışmamızda mexAB-oprM ve mexCD-oprJ pompalarına ait düzenleyici genler olan *mexR* ve *nfxB*, oldukça yüksek yüzdeyle tespit edilmiştir (11’de 10 köken). Florokinolonlar başta olmak üzere pek çok farklı molekülün hücre dışına atılmasından sorumlu olan bu yapıların varlığı direk olarak dirençle ilişkilendirilmemektedir. Standart kökenlerde normal koşullarda düzenleyici genlerin bulunmasına rağmen direnç saptanmaması, genin varlığından öte mutasyonlar nedeniyle ortaya çıkan farklılaşmanın bir sonucudur. Bu sebeple pompaların aktif olarak işlev yapıp yapmadığının tespiti amacıyla, pompa inhibitörü varlığında siprofloksasin MİK değerlerindeki değişimler incelenmiştir. Bizim çalışmamıza ait 11 temsilci izolattın sekiz tanesinde pompa inhibitörü varlığında MİK değerlerinde 4 kat ve üzeri azalmalar saptanmıştır. Bu veri hastanemizden izole edilen *P.aeruginosa* bakterilerinde kinolonlara ait ana direnç mekanizmasının dışı atım pompaları olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bu pompaların aynı zamanda beta-laktam antibiyotikler ve çeşitli dezenfektanları da substrat olarak kullanabilmesi nedeniyle, bu mekanizmayı bulunduran kinolon dirençli izolatların aynı zamanda farklı gruplara karşı da direnç gösterebileceği dikkat çeken bir durumdur.

ERIC-PZR bakterilerin genetik yakınlığını belirlemek için kullanılan basit ve hızlı bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bakterilere ait parmak izleri elde edilerek izole edilen etkenlerin genetik olarak benzer olup olmadığı ortaya konulmaktadır⁽²⁾. Bizim çalışmamızdaki 22 dirençli izolatta 11 ayrı klon tespit edilmiş olması, multiklonal dağılım gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu durum hastanemizin geniş bir hasta popülasyonuna hizmet veren bölge hastanesi olması ve izolatların farklı kliniklerden izole edilmesi nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir⁽⁹⁾.

Plazmit kaynaklı kinolon direnç determinantları, bakterinin pentapeptid yapıda bir protein sentezlemesi sayesinde işlev görürler. Oluşan bu protein DNA ve gen (DNA giraz veya topoizomeras IV) kompleksle-

rini, kinolonların etki etmesini engelleyecek şekilde koruyarak işlev yaparlar⁽²¹⁾. Tanımlanan bu plazmit kaynaklı genler diğer direnç mekanizmalarına oranla daha nadir olarak gözükmeyle birlikte pek çok *Enterobacteriaceae* üyesinde ve *P.aeruginosa* izolatlarında tanımlanmıştır^(11,13). Bizim çalışmamızda temsilci izolatların yedi tanesinde *qnrB* geni saptanmıştır. Ülkemizde *P.aeruginosa* bakterilerinde *qnr* genlerinin araştırılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte çalışmalarda *qnr* genlerinin hiç biri saptanmamıştır^(5,7). Ülkemizde *P.aeruginosa* izolatlarında ilk defa belirlendiği düşünülen bu genin, farklı genetik klonlarda yer alan izolatlarda bulunması dikkat çekicidir. Ayrıca dışı atım pompasının aktif olmadığı 3 izolatta *qnrB* geninin saptanması, bu izolatlardaki direncin nedenini ortaya koymaktadır.

Pseudomonas aeruginosa izolatlarının kinolonlara olan duyarlılıkları tüm dünyada farklı düzeylerde seyretmektedir. Bununla birlikte ülkemizden yapılmış çalışmalarda bu direnç oranlarının % 24-35 aralığında seyrettiği görülmektedir. Bizim çalışmamızda da buna benzer bir direnç oranı saptanmıştır^(3,4). Bununla birlikte, gerek reçetelenme tercihleri gerek ampirik tedavide tercih edilmeleri gibi nedenlerin yanı sıra, plazmit kaynaklı direnç determinantlarının izolatlar arası yayılım göstermesi gibi sebeplerle, kökenlerin dirençlilik durumlarının dikkatle takip edilmesi gerektiğine inanıyoruz. Direncin yayılımının ve izolatların epidemiyolojik ilişkilerinin çok merkezli daha yüksek izolat sayılı çalışmalar ile araştırılması gerekmektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

KAYNAKLAR

1. Andriole VT. The quinolones: past, present, and future. Clin Infect Dis. 2005;15(41):113-9. <https://doi.org/10.1086/428051>
2. Bakhshi B, Afshari N, Fallah F. Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC)-PCR analysis as a reliable evidence for suspected Shigella spp. Outbreaks. Braz J Microbiol. 2018;49(3):529-33.

- <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.01.014>
3. Behçet M, Avcıoğlu F, Karabörk Ş, Kurtoğlu MG. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnç oranları: üç yıllık değerlendirme. ANKEM Derg. 2019;33(2): 43-8.
 4. Çakmaklıoğulları EK, Kuru C. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları: farklı örnek türlerinde değerlendirme. ANKEM Derg. 2019;33(2):37-42.
 5. Cayci YT, Coban AY, Gunaydin M. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Indian J Med Microbiol. 2014;32(3):285-9.
<https://doi.org/10.4103/0255-0857.136567>
 6. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty sixth informational supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; (2016).
 7. Coban AY, Tanrıverdi Çaycı Y, Yıldırım T, Erturan Z, Durupınar B, Bozdoğan B. Investigation of plasmid-mediated quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from cystic fibrosis patients. Mikrobiyol Bul. 2011;45(4):602-8.
 8. Everett MJ, Jin YF, Ricci V, Piddock LJ. Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40(10):2380-6.
<https://doi.org/10.1128/AAC.40.10.2380>
 9. Hosgor-Limoncu M, Eraç B, Yurtman AN, Aydemir S. Plasmid-mediated quinolone resistance mechanisms in ESBL positive *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains at a Tertiary-Care Hospital in Turkey. J Chemother. 2012;24(3):144-9.
<https://doi.org/10.1179/1120009X12Z.00000000019>
 10. Jacoby GA, Chow N, Waites KB. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(2):559-62.
<https://doi.org/10.1128/AAC.47.2.559-562.2003>
 11. Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VC, Oh H, Robicsek A. qnrB, another plasmid mediated gene for quinolone resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50(4):1178-82.
<https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1178-1182.2006>
 12. Jacome PRL, Alves LR, Cabral AB, Lopez ACS, Maciel MAV. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Recife, State of Pernambuco, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2012;45(6):707-12.
<https://doi.org/10.1590/S0037-86822012000600010>
 13. Köse Ş, Atalay S, Ödemiş İ, Adar P. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2014;28(3):100-4.
<https://doi.org/10.5222/ankem.2014.100>
 14. Meng L, Liu H, Lan T, Dong L, Hu H, Zhao S, Zhang Y, Zheng N, Wang J. Antibiotic resistance patterns of *Pseudomonas* spp. isolated from raw milk revealed by whole genome sequencing. Front Microbiol. 2020; 3(11):1005.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01005>
 15. Michalska AD, Sacha PT, Ojdana D, Wieczorek A, Tryniszewska E. Prevalence of resistance to aminoglycosides and fluoroquinolones among *Pseudomonas aeruginosa* strains in a University Hospital in Northeastern Poland. Braz J Microbiol. 2014;45(4):1455-8.
<https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400041>
 16. Nazik H, Öngen B. Türkiye’de plazmit aracılı kinolon direnci. ANKEM Derg. 2010;24(1):46-54.
 17. Nejma MB, Olfa Sioud O, Mastouri M. Quinolone-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from University hospital in Tunisia. 3 Biotech. 2018; 8:1.
<https://doi.org/10.1007/s13205-017-1019-8>
 18. Novais C, Freitas AR. Transmission of antibiotic resistant bacteria and genes: unveiling the jigsaw pieces of a one health problem. Pathogens. 2020;9(6):497.
<https://doi.org/10.3390/pathogens9060497>
 19. Pursell A, Poole K. Functional characterization of the nfxB repressor of the mexCD-oprJ multidrug efflux operon of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiology. 2013;159(10):2058-73.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.069286-0>
 20. Rehman A, Patrick WM, Lamont IL. Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: new approaches to an old problem. Journal of Medical Microbiology. 2019;68(1):1-10.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.000873>
 21. Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. Clin Microbiol Rev. 2009;22(4):664-89.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00016-09>
 22. Su HC, Ramkissoon K, Doolittle J et al. The development of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* involves multiple response stages and multiple proteins. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54(11):4626-35.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00762-10>
 23. Tümer S, Kirişçi Ö, Özkaya E, Çalışkan A. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. ANKEM Derg. 2015;29(3):99-104.
 24. Vaez H, Faghri J, Isfahani BN, Moghim S, Yadegari S, Fazeli H, Moghohfeei M, Safaei HG. Efflux pump regulatory genes mutations in multidrug resistance *Pseudomonas aeruginosa* isolated from wound infections in Isfahan hospitals. Adv Biomed Res. 2014;28(3):117.
<https://doi.org/10.4103/2277-9175.133183>