

# Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları

Ayşe Yüce

## Giriş

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Direnç gelişimi ve yayılımı genellikle gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte, 1940'lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadığı bazı adalarda toprak ve dışkı örneklerinde tetrasiklin ve streptomisine dirençli bakteriler bulunduğu; antibiyotik direncinin yalnızca yaygın antibiyotik kullanımı sonucu değil, bakterilerin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtilmektedir. Ancak antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıma girmesi ile birlikte yıllar içinde çoğul dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmış ve bunlarla oluşan infeksiyonların sağaltımında büyük sorunlar yaşanmaya başlamıştır. Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte iken, öte yandan bunlara süratle direnç kazanan mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlar bildirilmekte ve sorunun boyutları giderek büyümektedir (1-3).

## Doğal (İntrensek) Direnç

Bakteriler, antibiyotiklere doğal olarak dirençli olabilir. Bu tür direnç bakterinin temel özelliğidir ve ilaç kullanımı ile ilişkisi yoktur, kalıtsal değildir. Doğal direnç, bu mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı taşıyamamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşamamasının bir sonucudur. Örneğin ilacın dış membrandan geçememesi nedeni ile Gram-olumsuz bakteriler vankomisine doğal olarak dirençlidir veya bakterilerin L formları ve *Mycoplasma*'lar gibi çepersiz mikroorganizmalar penisilin gibi hücre duvar sentezi inhibitörlerine doğal dirençlidir. Aynı şekilde metabolik olarak inaktif olan bakteri sporları doğal dirençlidir. Çünkü birçok ilacın etkili olabilmesi için bakterinin aktif üreme döneminde olması gereklidir (4-7).

## Kazanılmış Direnç

Bir bakteri genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak eskiden duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenemeyebilir. Bu durumda o bakteri direnç kazanmış olur. Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı elemanlara bağlı olabilir.

*Kromozomal direnç*, bakteri kromozomunda kendiliğinden (spontan) oluşan mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Spontan mutasyonlar bazı fiziksel ve kimyasal faktörlerle oluşabilir ve sonuçta bakteri hücrelerinde yapısal değişimler oluşur. Böylece hücrenin ilaca permeabilitesi azalabilir veya hücre içinde ilacın hedefinde değişiklikler olabilir. Strep-

tomisin, aminoglikozid, eritromisin, linkomisine karşı bu tür direnç görülebilir. Spontan kromozomal mutasyon oranı  $10^{-7}$ - $10^{-12}$  dir. O nedenle klinikte bu tip direnç azdır ve nadiren sorun yaratır. Ancak rifampisin ile tedavide spontan mutasyon olasılığı  $10^{-5}$  civarında olup tek başına kullanıldığında rifampisine dirençli mutantların ortaya çıkması nedeni ile tedavi başarısızlığı yüksektir (4).

*Ekstrakromozomal direnç*, çeşitli yollarla aktarılan plazmid, transpozon ve integron adı verilen genetik elemanlara bağlıdır.

*Plazmidler*, bakterilerde antibiyotik uygulamasından önce de var olan ve kromozomdan bağımsız olarak replike olabilen ekstrakromozomal DNA parçacıklarıdır. R (rezistans) faktörleri bir ya da birkaç antimikrobiyal ilaca ve ağır metallerle karşı direnç genlerini taşıyan plazmidlerdir. Plazmid genleri, genellikle ilaçları parçalayan enzimlerin üretilmesinden sorumludurlar.

*Transpozonlar* ise bakteri kromozomunun değişik yerlerine yerleşebilen veya kromozomdan plazmide, plazmidten plazmide, plazmidten DNA veya bakteriyofaja aktarılabilen; kendi kendilerine replike olamayan, o nedenle kromozom, plazmid veya bakteriyofaj gibi bir replikon üzerinde bulunan DNA dizileridir. Direnç genlerini taşıyan genetik materyal ve plazmidler bir bakteriden diğerine transdüksiyon, transformasyon, konjugasyon ve transpozisyon gibi mekanizmalarla aktarılırlar.

Kromozom veya plazmid üzerindeki direnç genleri, bakterinin bölünmesi ile yavru hücrelere aktarılır (vertikal geçiş). Bu yeni hücrelerin çoğalması ile de dirençli suşun ve direnç genlerinin yayılımı gerçekleşir (klonal yayılım) Plazmidler konjugasyon ile de yatay olarak aktarılabilir.

*Konjugasyon*, iki bakteri hücrelerinin teması sonucunda genetik eleman aktarımıdır ve türler arası plazmid aktarımının in vivo koşullarda da oluşabilmesi önem taşımaktadır. Ayrıca direnç plazmidleri Gram-olumlu ve olumsuz bakteri türleri arasında da aktarılabılırler. Direnç genlerinin yeni konaklara aktarımında tek mekanizma plazmid transferi değildir. *Transpozisyon* ile transpozon veya transpozabl elementler diye bilinen kısa DNA sekansları aktarılabilir. Özellikle Gram-olumlu bakterilerde bulunan konjugatif transpozonlar, plazmid olmaksızın gen aktarımını sağlayabilir. Son yıllarda direnç genlerinin özellikle transpozonlarca taşındıkları anlaşılmıştır. Bir diğer önemli nokta ise bu tip aktarım olaylarının düşük yoğunluklu antibiyotik varlığında hızlanmasıdır.

*Transformasyon*, ortamda serbest bulunan DNA'nın bakteri hücresi içine alınması olup bu şekilde de direnç genleri aktarılabilir. *Neisseria* türleri ve streptokoklarda patojen ve nonpatojen türler arasında gen aktarımı sonucu penisilin bağlayan protein (PBP) değişimlerinin transformasyon ile gerçekleştiği düşünülmektedir. *Transdüksiyon* ise direnç

genlerinin bakteriyofaj aracılığı ile transferi olup, sıklıkla laboratuvar koşullarında direnç aktarımı için uygulanır. Bu aktarımın klinik direnç açısından önemi bilinmemektedir (4-7).

Kromozom veya plazmid üzerindeki antibiyotik direnç genlerinin birbirleri ile bağlantılı olduğu ve başlangıç bölgesinin yakınında özel integrasyon birimleri bulunduğu gözlenmiştir. Bunlara *integron* adı verilir. İntegronlar rekombinasyonun çok sık görüldüğü sıcak noktaları oluştururlar.

### Çapraz Direnç

Belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, aynı veya benzer mekanizma ile etki eden diğer ilaçlara karşı da dirençli olması halidir. Bu durum genellikle yapıları benzer ilaçlar arasında gözlenmektedir: eritromisin-oleandomisin, neomisin-kanamisin gibi. Ancak bazen tümüyle ilgisiz ilaçlar arasında görülebilir. Eritromisin-linkomisin arasındaki çapraz direnç buna örnek olarak verilebilir. Kromozomal veya ekstrakromozomal orijinli olabilir (4-7).

### Direnç Mekanizmaları

#### İlacın Bağlandığı Reseptör veya Bağlanma Bölgesinde Oluşan Değişiklikler

İlaçların bağlandığı hedef bölgeler farklıdır. Bunlar ribozomlar ve çeşitli enzimler olabilir. Bu hedeflerde bazen tek bir mutasyon sonucu ilaca bağlanma özelliği düşük yeni bir hedef oluşumu söz konusudur. Örneğin, 30S ribozomal altbirimin S12 proteinindeki mutasyonlar streptomisin direncine yol açar. Ribozomal hedefte değişiklik ile ilgili direnç en çok makrolid grubu antibiyotiklerde gözlenir. Makrolidlere dirençli klinik izolatlarda 50S ribozomal altbirimde 23S ribozomal RNA'yı metile eden bir enzim sentezlenmekte ve ilacın bağlanması azalarak direnç gözlenmektedir. Tek basamaklı bir değişim söz konusu olduğundan bu tip direnç kolay kazanılabilir ve hızla yayılır (6).

Bazen de bir dizi mutasyon veya yabancı bir DNA'nın kromozoma eklenmesi sonucu hedef değişimi olabilmektedir. Örneğin PBP'lerdeki mutasyonlar ile *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında penisilin direnci görülebilir (8-12).

Hedef yapısındaki değişiklikler,  $\beta$ -laktam, kinolon, glikopeptid, makrolid, tetrasiklin ve rifampisine direnç gelişmesinde önemlidir.

#### İlacın Enzimatik İnaktivasyonu

Gerek Gram-olumlu, gerekse Gram-olumsuz bakterilerin çoğu birçok antibiyotığı parçalayan enzimler sentezler. Bu yol antibiyotik direncinde en önemli mekanizmalardan biridir. Bu grupta  $\beta$ -laktam antibiyotikleri parçalayan ve sayıları her gün artan  $\beta$ -laktamazlar, aminoglikozidlerin yapısını modifiye eden asetilaz, adenilaz ve fosforilaz enzimleri, kloramfenikolü parçalayan kloromfenikol asetil transferaz ve eritromisini inaktive eden eritromisin esteraz sayılabilir (6,13).

#### Bakteriyel Membran Değişiklikleri

**İç ve Dış Membran Permeabilitesinde Azalma:** İç ve dış membran permeabilitesindeki değişikliklere bağlı olarak ya ilacın hücre içine alınmadığı veya hızla dışarı

atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinden kaynaklanan dirençtir.

Antibiyotiklerin etkili olabilmesi için bakteri hücrelerine penetre olması zorunludur. Örneğin  $\beta$ -laktam ajanların sitoplazmik zarın dış yüzüne, aminoglikozidlerin ise hücre içine ulaşması gereklidir. Peptidoglikan tabaka geniş aralıkları ile antibiyotiklerin bakteri hücrelerine girişini engellemez. Gram-olumsuz bakterilerde bulunan dış membran, lipidden zengin bir tabaka olup antibiyotiklerin hücreye girmesini engelleyen bariyer görevi yapar ki, bu tabaka Gram-olumlu bakterilerde yoktur. Gram-olumsuz bakterilerde ilaçların hücre içine girmesi, dış membrandaki porinler aracılığı ile olur. Ancak bakteriler bazı koşullarda bulunduğu ortamın ozmolaritesine göre farklı porinler yapma yeteneğindedir. Mutasyonlar ile membran porin proteinlerindeki değişim sonucu geçirgenlik azalarak dirençli suşlar ortaya çıkabilir. Örneğin *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında OprD diye bilinen özel bir porindeki değişim karbapenem direncine yol açabilir. Dış zar geçirgenliği kinolon ve aminoglikozid direncinde de önemli rol oynar (6,14).

İç membran (sitoplazmik zar) permeabilitesindeki değişikliklerle kazanılan dirence örnek olarak aminoglikozidleri verebiliriz. Gerek Gram-olumlu gerekse olumsuz bakterilerde aminoglikozidlerin ribozomlara ulaşabilmesi için sitoplazmik zarı geçmesi gereklidir. Aminoglikozidlerin sitoplazmik zarı geçmesi ise enerji ve oksijene bağımlı aktif transport mekanizması ile olur. Hiperozmolarite, düşük pH ve anaerob koşullar bu evreyi engeller. O nedenle anaerob mikroorganizmalar aminoglikozidlere doğal olarak dirençlidir. Kromozomal mutasyonlar sonucu membran yapısında oluşan değişiklikler ile de direnç gelişebilir. *Escherichia coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp.'de elektron transport sistemleri defektif dirençli mutantlar olabilir (6).

**İlacın Dışarı Atılması (Aktif Pompa Sistemi):** İlacın hücre dışına atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinin varlığı yaklaşık 20 yıl önce tetrasiklinler için belirlenmiştir. Tetrasiklin, enerjiye bağımlı bir aktif pompalama sistemi ile dışarı atılır ve hücre içinde birikmez. Bu tip direnç plazmid veya kromozom kontrolindedir; ancak, direnç determinantları sıklıkla transpozabl elemanlar üzerinde bulunur ve tetrasiklinin subinhibitör konsantrasyonları ile indüklenebilir. Bu direnç genlerince özgül membran proteinleri (Tet proteini) sentezlenmekte ve katyonlarla birlikte tetrasiklin hücre dışına çıkarılmaktadır. Aktif pompa sistemleri kinolonlar, 14 üyeli makrolidler, azalid ve streptograminler, kloramfenikol ve  $\beta$ -laktamlara dirençte de etkilidir ve pek çok bakteride bulunur. Örneğin *S. aureus*'un *norA* geni bu mekanizma ile kinolon direncine neden olurken, *E. coli* de aynı mekanizma ile norfloksasine direnç kazanır (6,14).

#### Alternatif Bir Metabolik Yolun Kullanılması

Bazı bakteriler hedef değişimlerinden farklı olarak ilaca duyarlı hedefe gereksinimi ortadan kaldıracak yeni bir metabolik yol geliştirirler. Sülfonamid ve trimetoprim direncinde böyle bir olay söz konusudur. Bakteriler folat sentez etme yerine ortamdan hazır folat alma özelliği kazanabilir.

#### Antibiyotik Gruplarına Göre Direnç Mekanizmaları

##### $\beta$ -Laktam Ajanlara Direnç

**$\beta$ -Laktamazlar:**  $\beta$ -laktam ajanlara dirençten öncelikle bu enzimler sorumludur. Enzim,  $\beta$ -laktam halkasındaki kar-

bonil grubu ile bir ester köprüsü kurup siklik amid bağını bozarak etki gösterir (6,15). Moleküler çalışmalar sonucunda 4 farklı sınıf (A,B,C,D) β-laktamaz tanımlanmıştır. A, C ve D sınıfı β-laktamazlar serin-ester aracılıklı işlev gören enzimlerdir. B sınıfı ise çinko iyonuna gereksinen metallo-enzimlerdir.

Sınıf A β-laktamazlar, 29 000 molekül ağırlığında olup penisilinleri, birinci kuşak sefalosporinleri ve karbapenemleri parçalar; ancak sefotaksim, seftazidim, aztreonam gibi geniş spektrumlu β-laktamlara kısıtlı etkilidir. Gram-olumlu ve olumsuz bakterilerde sıklıkla plazmid veya transpozonlarda bulunur. *S. aureus* ve *Proteus vulgaris*'tekiler hariç nadiren indüklenebilir. Bu sınıfta *S. aureus* (Grup 2a), Gram-olumsuz bakterilerin TEM, SHV (Grup 2b, 2br, 2c, 2e, 2f) enzimleri bulunur. β-laktam ajanların yaygın kullanımını sonucunda bu ana enzimleri kodlayan genlerdeki nokta mutasyonlarına bağlı olarak bu antibiyotikleri de parçalayan yeni enzimler ortaya çıkmıştır (extended spectrum beta-lactamases, ESBL-2be) ve sayıları 50 kadar olup en sık *Klebsiella pneumoniae* ile *E. coli*'de bulunur (16-18).

Sınıf B β-laktamazlar (Grup 3) *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacteroides fragilis*, *Aeromonas* ve *Legionella* türlerinde saptanabilen penisilin ve sefalosporinlerin yanı sıra karbapenemleri de hidrolize eden enzimlerdir (19).

Sınıf C β-laktamazlar 39 000 kDa molekül ağırlığında olup esas olarak sefalosporinleri parçalar (sefalosporinazlar). Yalnızca Gram-negatif bakterilerde bulunur ve genellikle kromozomda lokalizedir (Grup I, AmpC, MIR-I) sıklıkla indüklenebilir niteliktedir. Bir β-laktam ajan varlığında yüksek düzeyde üretilir ve klavulanik asid ile inhibe olmazlar (*P. aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*) (6,15).

Sınıf D β-laktamazlar (Grup 2d) okzasilinleri parçalayan enzimlerdir (okzasilinaz). Sınıf C ve B β-laktamazlar klavulanik asid ile inhibe olmaz iken diğerleri inhibe olur.

Gram-olumlu bakteriler arasında en önemli patojen olan *S. aureus* β-laktamazlarının çoğu indüklenebilir türde ve ekstraselülerdir. Genellikle plazmid ve transpozonlarca taşınır ve konjugasyon ile çeşitli stafilokok türleri arasında aktarılır. Bir başka önemli Gram-olumlu bakteri enterokok olup yine plazmid kökenli β-laktamazlara sahiptir. Bu direnç genleri, plazmid ve transpozonlarda bulunan ve yüksek düzey gentamisin direnci veren genlerle birlikte (20-22). Bu transpozonların stafilokokoksik β-laktamaz transpozonlarına benzer olması belki de aynı kökenden olduğunu düşündürür. Diğer streptokok türlerinde β-laktamaz sentezi gösterilememiştir.

Anaerop bakterilerde de β-laktamaz üretimi vardır. *Fusobacterium* ve *Clostridium* türleri daha çok penisilinaz, *B. fragilis* ise daha çok sefalosporinaz üretir. Her iki enzim de klavulanik aside duyarlıdır.

**PBP Değişiklikleri:** β-laktam antibiyotiklerin hedefi, hücre zarında yer alan ve peptidoglikan sentezinden sorumlu olan PBP'lerdir. Düşük molekül ağırlıklı PBP'ler karboksipeptidaz, yüksek molekül ağırlıklı olanlar ise transpeptidaz olarak bilinir. PBP değişimine bağlı direnç Gram-olumlu bakteriler arasında daha sık gözlenmektedir. Örneğin metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarında metisiline direnç *mecA* geninin ürünü olan PBP 2a sentezlenmesine bağlıdır. Bu hedef bölge β-laktam ajanlara bağlanamayan veya

düşük oranda bağlanan yeni bir proteindir (8,12). Yine penisiline duyarlı *S. pneumoniae*'de bulunan PBP 1a 2b, 2x'deki değişiklikler penisilin ve sefalosporine dirençten sorumludur (10,12).

**Dış Membran Proteinlerindeki Değişiklikler:** Gram-olumsuz bakterilerin porin değişikliklerine bağlı olarak geçirgenliğin azalması sonucu gelişen dirençtir. Örneğin *E. coli*'de OmpF ve OmpC değişimleri ile β-laktamlara, *P. aeruginosa*'da özel bir kanal proteini olan OprD kaybı ile karbapenemlere direnç gelişir (6,14). Yine aktif pompa sistemleri ile antibiyotiklerin hücre içinde birikimi engellenebilir. Örneğin *E. coli* suşlarında *marRAB* operonunun mutasyonu sonucu β-laktamlar, tetrasiklin, kloramfenikol ve kinolon direnci gelişebilir (14).

#### **Aminoglikozid Antibiyotiklere Direnç**

**Aminoglikozid Yapısını Değiştiren Enzimler:** Aerop bakteriler arasında aminoglikozidlere karşı direnç oluşumunda en önemli mekanizma enzimatik inaktivasyondur. Aminoglikozidleri modifiye eden enzimler sıklıkla plazmid veya transpozon kökenli olup çoğu transpozonlarca taşınır. Sayıları iki düzineden çok olan bu enzimler üç önemli reaksiyondan sorumludur: *N*-asetilasyon, *O*-nükleotidilasyon, *O*-fosforilasyon. Bu genel reaksiyonların her biri için çeşitli enzim grupları var olup bunlar asetil transferazlar (AAC), adenil transferazlar (ANT) ve fosfor transferazlar (APH)'dir. Bu enzimlerden ANT ve APH hidrokسيل gruplarını, AAC ise amino gruplarını etkiler ve antibiyotik moleküllerine asetil, adenil ve fosforil gruplarını ekleyerek ilacın etkinliğini yitirmesine neden olur. Antibiyotik yapısının değiştirilmesi, onun hücre içine alınmasını ve protein sentezini önlemesini bozar. Amikasin bu enzimlerden en az etkilenen antibiyotiktir ve özellikle AAC'ye duyarlıdır. Enzimlere bağlı olarak gelişen direnç oranları coğrafi farklılıklar gösterir (6,13,23).

Enterokok gibi sağaltımı zor olan infeksiyonlara sebep olan bakteriler β-laktam ve sülfonamidlerin yanı sıra aminoglikozidlere de doğal olarak dirençlidir. Özellikle gentamisine yüksek düzeyde dirençten modifiye bir enzim sorumludur (6,22).

**İlacın Sitoplazmaya Geçişinin Engellenmesi:** Pozitif yüklü bileşikler olan aminoglikozidler, hücre içine aktif ve oksijene bağımlı transport sistemi ile girer. Kromozomal mutasyon sonucu iç ve dış zarda meydana gelen değişiklikler, ilacın içeri alınmasını bozar. Bu olay tüm aminoglikozidler için söz konusudur; ancak doğada yaygın değildir. Oksijene bağımlı aktif transport sistemi anaeroplarda bulunmadığı için bu mikroorganizmalar aminoglikozidlere doğal olarak dirençlidir.

**Ribozomal Hedef Değişiklikleri:** Özellikle streptomisin direncinde önemlidir. 30S ribozomal altbirimde S12 proteinindeki mutasyon sonucu streptomisin hedefe bağlanamaz. Bu tür streptomisin direnci, enterokok izolatları arasında önemlidir. Gentamisin, tobramisin, amikasin gibi diğer aminoglikozidlere ribozomal direnç daha nadirdir (6).

#### **Tetrasiklin Direnci**

**İlacın Hücre İçine Alınımının Engellenmesi ve Aktif Pompa Sistemleri:** Bakterilerde spontan kromozomal mutasyonlar sonucunda membran geçirgenliğinde azalmalar

olduğu saptanmıştır. Bu şekilde ilacın içeri alımı azalarak direnç gelişebilir. Doğada bu ilaca karşı çok sık direnç gelişir. Aktif pompa sistemleri ise hücreye giren ilacın hızla dışarı atılımını sağlayan mekanizma olup dirençte çok önemlidir. Aktif pompa sisteminde yer alan proteinler yapısal olarak transport proteinlerine benzer ve ATP'ye bağımlı olarak etkinlik gösterirler. Tetrasiklin transport proteinlerini kodlayan genler (*tetA-G*, *tetK*, *L*) Gram-olumlu ve olumsuz bakterilerde vardır. *E. coli*, *Salmonella* ve *Shigella* türlerinde bulunan *marRAB* operonunun tetrasiklinin aktif olarak dışına atılması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13,14).

**Ribozomal Korunma:** Tetrasiklin direncine yol açan ikinci önemli mekanizmadır. *tetM*, *tetO*, *tetQ*, *tetS* genlerince sentezlenen bir sitoplazmik proteinin aktivitesi sonucu ilacın ribozoma bağlanamaması söz konusudur. Bu genler *Campylobacter*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Bacteroides* ve *Neisseria* gibi birçok bakteride bulunur. Her üç mekanizma plazmid ve kromozomal kökenlidir. Tetrasiklinler arasında çapraz direnç vardır. Herhangi bir tetrasikline dirençli bakteri diğerlerine de dirençlidir. Doksisiklin ve minosiklin bu genellemenin dışındadır. Diğer tetrasiklinlere dirençli kökenler bu iki tetrasikline duyarlı olabilir (6,9,14).

#### **Makrolid, Linkozamid, Streptogramin (MLS) Grubu Antibiyotiklere Direnç**

Gram-olumsuz bakterilerin dış zarı hidrofobik bileşiklere geçirmediği için bu bakteriler, MLS grubu antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir.

**Ribozomal Hedefin Değişmesi:** Aerop ve anaerop Gram-olumlu bakteriler arasında en sık görülen direnç mekanizmasıdır. İlacın bağlandığı 50S ribozomal altbirimdeki 23S rRNA'da spesifik bir adenin molekülünün metilasyonu ile ribozomda yapısal bir değişiklik olur ve ilacın ribozomal RNA'ya bağlanması azalır. Metilasyondan sorumlu enzimler *erm* (eritromisin ribozom metilasyon) gen bölgesince kodlanır ve çeşitli Gram-pozitif bakterilerde 8 farklı *erm* gen sınıfı saptanmıştır. Bu genler kromozom, plazmid veya transpozonlar üzerinde bulunur. Yapısal veya indüklenbilir karakterdedir. Eritromisin veya yeni azalidler indükleyebilir. Metilasyon, ribozomal bağlanma bölgesinin özelliklerini değiştirerek tüm MLS grubu antibiyotiklere direnç gelişmesine neden olur (çapraz direnç). Çapraz direnç *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* gibi bakterilerde saptanmıştır (6,13).

**Enzimatik İnaktivasyon:** Eritromisin ve diğer makrolidleri inaktive ederek dirençte rol oynayan çeşitli enzimler vardır. Özellikle enterik bakteri türlerinde gösterilen eritromisin esteraz (1,2) ve 2' fosfotransferaz enzimleri antibiyotik laktone halkasını hidrolize ederek 14 üyeli makrolidleri inaktive eder. *S. aureus* ve *Staphylococcus haemolyticus*'ta MLS grubu ilaçları inaktive eden plazmid kaynaklı enzimler saptanmıştır. Bu direnç determinantları, gastrointestinal cerrahi öncesi kolonun aerop Gram-negatif florasını azaltmakta kullanılan oral eritromisinin etkinliğini sınırlar (6).

**Aktif Pompa Sistemleri:** *Staphylococcus epidermidis* suşlarında bulunan *msrA* ve *erpA* genlerinin 14 ve 15 üyeli makrolidlere dirençten sorumlu yapısal ve indüklenbilen bir protein sentezlediği gösterilmiştir (14).

#### **Kloramfenikol Direnci**

Temel mekanizma plazmid kontrolünde sentezlenen ve intrasetüler bir enzim olan kloramfenikol asetil transferaz enzim aktivitesidir. Enzim, kloramfenikol molekülünün 3 pozisyonundaki hidroksil grubunu asetile ederek ilacı modifiye eder ve ilaç ribozomlara bağlanamayınca protein sentezi normal şekilde devam eder. Gram-olumlu ve olumsuz bakterilerde yaygın olarak bulunan bir enzim olup plazmid veya transpozonlar ile aktarılabılır (6,13). 1989'lardan beri *Salmonella*, *Shigella*, enterotoksijen *E. coli* (ETEC) ve *Vibrio* türlerinde gözlenen kloramfenikol, ampisilin ve trimetoprim direnci özellikle gelişmekte olan ülkelerde sağaltım başarısızlıklarına neden olmaktadır (24,25). Yine enterik bakterilerde ilacın hücre membranından geçerek ribozomlara ulaşmasını önleyen bir gen ürünü (MAR fenotipi) ile de düşük düzeyde direnç oluştuğu düşünülmektedir (14).

#### **Kinolon Grubu Antibiyotiklere Direnç**

Fluorokinolonlara karşı oluşan direnç kromozomal kaynaklı olup, önceden bildirilen plazmid kaynaklı dirençler doğrulanmamıştır (6,26). Tüm bakteri türlerinde fluorokinolonlara karşı esas direnç mekanizması giraz enzimindeki mutasyonlardır (*GyrA*, *GyrB*). DNA giraz enzimi dört altbirimden oluşmuş olup, kinolonların asıl hedefi A alt birimidir. Bu altbirimi kodlayan *gyrA* geni mutasyonları tüm bakterilerde tüm kinolonlara karşı yüksek direnç oluşumundan sorumludur. *gyrB* geni mutasyonları ile de özellikle *P. aeruginosa* ve *E. coli*'de kinolon direnci gösterilmiştir, ancak bu direnç tüm kinolonlara karşı olmayabilir. Son yıllarda *S. aureus*'ta yeni bir topozimeraz (*GrlA*) mutasyonel değişikliği gösterilmiş olup, bu mutantlarda fluorokinolon MİK değerlerinde hafif yükselmeler gözlemlendiği bildirilmektedir (26).

Permeabilite mutantları yalnızca Gram-olumsuz bakterilerde gözlenmiş olup, dış membran porinlerinde oluşan değişiklikler sonucu fluorokinolonlara karşı artmış MİK değerleri saptanır. Bu tip direnç fluorokinolonların yanı sıra  $\beta$ -laktamlar, tetrasiklinler ve kloramfenikol gibi diğer ilaçlar için de geçerlidir. Aktif eflüks sistemi, *S. aureus* (Nor A) ve *Enterobacteriaceae* (*MarA*), *Pseudomonas* ve *Campylobacter* türleri gibi birçok Gram-olumsuz bakteride gösterilmiştir. İlacın hücre dışına atılımı ile ilgili olan bu sistemin kinolon direnci yanı sıra tetrasiklin, kloramfenikol,  $\beta$ -laktam ajanlar ve setrimid, benzalkonyum klorür gibi deterjanlara dirence de yol açtığı bildirilmektedir.

Son yıllarda yoğun bakım birimlerinde MRSA suşlarının yanı sıra gerek hastane, gerekse toplum kökenli infeksiyonlara neden olan Gram-negatif bakteri türlerinde de yüksek kinolon direnci nedeni ile önemli sorunlar yaşanmaktadır (12, 26).

#### **Rifampisin Direnci**

Rifampisin, Gram-olumlu bakteriler ile mikobakterilerde DNA'ya bağımlı RNA polimeraz enziminin  $\beta$ -altbirimine bağlanarak etki eden bir ilaçtır. RNA polimeraz enzimini kodlayan *rpoB* gen bölgesinde oluşan kromozomal mutasyonlar rifampisin direncine yol açar. Ayrıca rifampisin hidrofobik bir bileşik olup dış zardan geçemediği için Gram-olumsuz bakterilerin çoğu bu ilaca doğal olarak dirençlidir (12).

### Sülfonamid ve Trimetoprim Direnci

Sülfonamidler, paraminobenzoik asid (PABA) analogları olup, bu metabolik yolda dihidropteroat sentaz (DHPS) enzimini, trimetoprim ise dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimini inhibe ederek bakterilerde tetrahidrofolik asid sentezini engeller. Sülfonamidlere direnç, kromozom ve plazmidlerce kodlanabilir. Kromozomal dirençte, mutasyonlar sonucu PABA'nın aşırı sentezi ile folat metabolizmasında sülfonamidlerin inhibisyonu önlenbilirse de bu mekanizma klinik olarak pek önemli değildir. *S. pneumoniae* ve *N. meningitidis*'te gözlenir. En sık gözlenen sülfonamid direnci, bakterinin sülfonamidlere düşük afinite gösteren DHPS sentezlenmesi olup bu olay plazmid kontrolündedir.

Trimetoprime dirençte kromozomal veya plazmid kaynaklıdır. DHFR'nin aşırı sentezine veya azalmış permeabiliteye yol açan kromozomal mutasyonlar dirence neden olur, ancak bunların klinik önemi azdır. *Haemophilus influenzae*, *E. coli* ve *S. pneumoniae*'de gözlenmiştir. En sık gözlenen direnç mekanizması plazmid veya transpozonlarda bulunan genler tarafından yeni ve ilaca dirençli DHFR enziminin sentezlenmesidir. Plazmidlerce kodlanan trimetoprime dirençli DHFR genlerinin sayısı 17 kadar olup bunların 16'sı Gram-olumsuz bakterilerde, biri ise *S. aureus*'ta bulunur ve çoğu integron mekanizmaları ile aktarılır (27).

### Glikopeptid Antibiyotiklere Direnç

Bu grup antibiyotikler (vankomisin, teikoplanin, ristoseptin, avoparsin) peptidoglikan öncüllerindeki peptidil *D*-alanin-*D*-alanin uç kısmına bağlanıp hücre duvarı sentezini daha erken evrelerde önleyerek etki gösterirler. Glikopeptid antibiyotiklerin dış membrandan geçememesi nedeni ile Gram-olumsuz bakteriler bu antibiyotiklere doğal olarak dirençlidir. Gram-olumlu bakterilerden özellikle enterokoklarda son yıllarda glikopeptid antibiyotiklere direnç gözlenmeye başlamış ve hızla yayılarak önemli bir sorun haline gelmiştir. Enterokoklarda vankomisin direnci ile ilgili üç fenotip tanımlanmıştır: VanA, VanB, VanC. Bu fenotiplerden sorumlu genler, düzenleyici diğer genlerin de katılımı ile yeni bir *D*-ala-*D*-ala ligaz enzimi aracılığında *D*-ala-*D*-laktat ile sonlanan peptid zincirlerinin yapımını sağlar. Glikopeptid antibiyotikler, *D*-ala-*D*-laktat dipeptidine düşük oranda bağlandıkları için bu durum direnç gelişimine neden olur. Bu yeni enzimin sentezi bir grup bakteride plazmid (*vanA*), bir grup bakteride ise kromozom (*vanB*, *vanC*) üzerindeki bir genin kontrolündedir (6,9). VanA tipi direnç plazmid kökenli olup diğer bakterilere kolayca aktarılır, bakteri hem vankomisin hem teikoplanine dirençlidir. Vankomisin direnci yüksek düzeyde olup indüklenebilir. Vankomisin iyi, teikoplanin ise zayıf indükleyicidir. VanB tipi direnç de indüklenebilen, ancak kromozomal olarak kodlanan bir dirençtir. Dirençli bakteriler vankomisine düşük düzeyde dirençli iken teikoplanine duyarlıdır. VanA ve VanB tipi direnç *E. faecium* ve *Enterococcus faecalis*'te gösterilmiştir. VanC tipi direnç ise *Enterococcus gallinarum*'a spesifik; yapışal, indüklenemez ve transfer edilemez bir dirençtir. Tüm *E. gallinarum* suşları vankomisine düşük düzeyde dirençli, teikoplanine duyarlıdır (2).

Koagülaz-negatif stafilokoklardan *S. epidermidis* ve *S. haemolyticus*'ta glikopeptid direnci bildirilmiştir. Suşların çoğu vankomisine duyarlı iken teikoplanine yüksek düzeyde dirençlidir. Bu türlerde kesin direnç mekanizması bilin-

memektedir. Bunların yanı sıra Japonya'da yapılan bir çalışmada vankomisin MİK değerleri 8 mg/lt olan MRSA suşları saptandığı ve %5-22 arasında değiştiği bildirilmektedir (28). Bu direncin mekanizması henüz bilinmemektedir. Ancak bulgular dirençli suşların tek bir klondan köken aldığını düşündürmektedir.

### Antibiyotiklere Direncin Kontrolü ve Önlenmesi

Antibiyotiklerin uygunsuz ve gelişigüzel kullanımı ile gerek toplum kökenli gerekse hastane kökenli dirençli mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlarda ciddi sağaltım sorunları yaşanmaktadır. Bir antibiyotiğe dirençli olan etken kısa sürede birden çok ilaca karşı da direnç kazanmakta ve bu çoğul dirençli mikroorganizmalar hızla ortama yayılmaktadır. Bugün tüm dünya, çoğul dirençli *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* ve diğer bakterilerle olan infeksiyonlarla savaşılmaktadır (25,29,30).

Yeni ilaçların keşfi ve kullanıma girmesi ise çok zaman ve para gerektirmektedir. O nedenle, her kurumun süratle birtakım önlemler alması zorunludur. Örneğin, hastalıkların tanısının yeterince hızlı yapılması; antibiyotik gerekli ise uygun ilacın, yeterli doz ve sürede uygun yoldan verilmesi; tek başına verildiğinde yüksek direnç riski taşıyan ilaçların kullanılmaması, gerekli kombinasyonların yeğlenmesi; hastane ortamı ve hayvan yemlerinde gereksiz antibiyotiklerin kullanılmaması ve özellikle değerli ilaçların kullanımının kısıtlanması; koruyucu hekimlik hizmetlerinin geliştirilmesi ve uygulanması; hastanelerde aktif infeksiyon kontrolü yapılması ve toplumda hijyen ve sanitasyon önlemleri alınması, tüm insanlığı tehdit eden bu çok önemli soruna bir ölçüde çözüm getirecek önlemlerdendir (1-3,6,31)

### Kaynaklar

1. Tenover FC, Hugles JM. The challenges of emerging infectious diseases development and spread of multiply resistant bacterial pathogens. *JAMA* 1996; 275:300-4
2. Gold HS, Moellering RC Jr. Antimicrobial drug resistance. *N Engl J Med* 1996; 335:1445-53
3. Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. *Science* 1992; 257:1050-5
4. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Medical Microbiology*. East Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1995:137-67
5. Willett HP. Antimicrobial agents. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM, eds. *Zinsser Microbiology*. 20th ed. East Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1992: 153-87
6. Mayer KH, Opal SM, Medeiros AA. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Fourth ed. New York: Churchill Livingstone, 1995: 212-25
7. Eliopoulos GM. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial drugs. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow N, eds. *Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders Co, 1992: 280-6
8. Ayliffe GA. The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1):S74-9
9. Leclercq R. Enterococci acquire new kinds of resistance. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1):S80-4
10. Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1): S85-8
11. Oppenheim BA. Antibiotic resistance in *Neisseria meningitidis*. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1): S98-101

12. Spratt BG. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 1994; 264:388-93
13. Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 1994; 264:375-82
14. Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* 1994; 264:382-8
15. Medeiros AA. Evolution and dissemination of  $\beta$ -lactamases accelerated by generations of  $\beta$ -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1):S19-45
16. Jones RN, Baquero F, Privitera G, et al. Inducible  $\beta$ -lactamase-mediated resistance to third generation cephalosporins. *Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 3(Suppl 1): S7-20
17. Knox JR. Extended spectrum and inhibitor-resistant TEM type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 2593
18. Philippon A, Arlet E, Lagrange PH. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13(Suppl 1):17-9
19. Hauskey PM. Resistance to carbapenems. *J Med Microbiol* 1997; 46:451-4
20. Moellering RC Jr. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1196-9
21. French GL. Enterococci and vancomycin resistance. *Clin Infect Dis* 1998; 27(Suppl 1):S75-83
22. Sahm DF, Gilmore MS. Transferability and genetic relatedness of high-level gentamicin resistance among enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38:1194-6
23. Miller GH, Sabatelli FJ, Hare RS, et al. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms-changes with time and geographic area. A reflection of aminoglycoside usage patterns? *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1): S46-62
24. Sack RB, Rahmon M, Yunus M, et al. Antimicrobial resistance in organisms causing diarrheal disease. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1):S102-5
25. Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ. Multidrug-resistant *Salmonella typhi*: a worldwide epidemic. *Clin Infect Dis* 1994; 24(Suppl 1):S106-9
26. Acar JF, Goldstein FW. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1):S567-73
27. Huovinen P. Increases in rates of resistance to trimethoprim. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1): S63-6
28. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40:135-6
29. Cohn DL, Bustreo F, Raviglione MC. Drug-resistant tuberculosis: review of the worldwide situation and the WHO/IU-ATLD global surveillance project. *Clin Infect Dis* 1997; 24 (Suppl 1): S121-30
30. Levin BR, Lipsitch M, Perrot V, et al. The population genetics of antibiotic resistance. *Clin Infect Dis* 1997; 24(Suppl 1): S9-16
31. Bates J, Jordans JZ, Qriform DT. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococcal infection in man. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34: 507-14