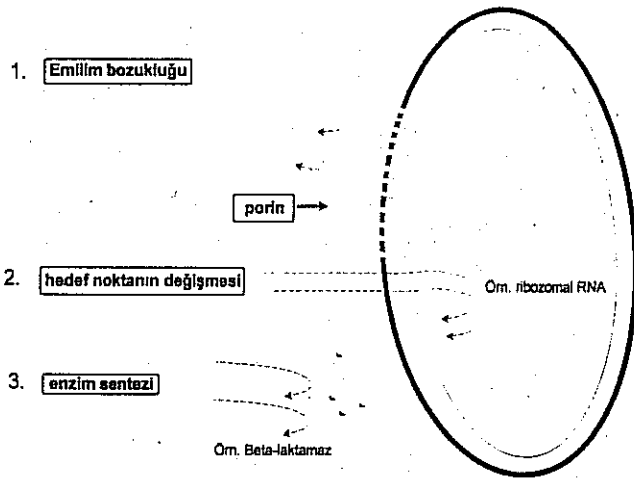


Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

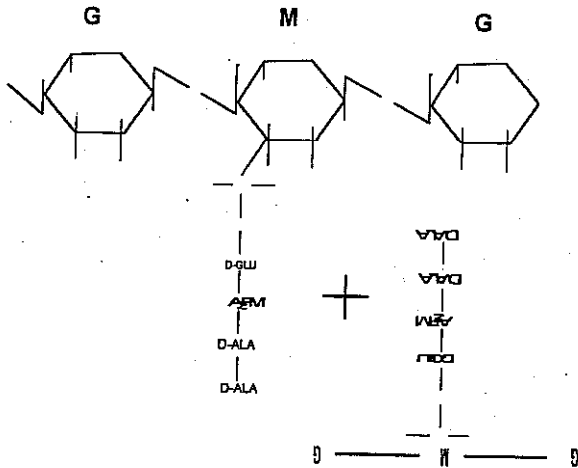
M. Haluk Vahaboğlu

Hedef Nokta Değişiklikleri

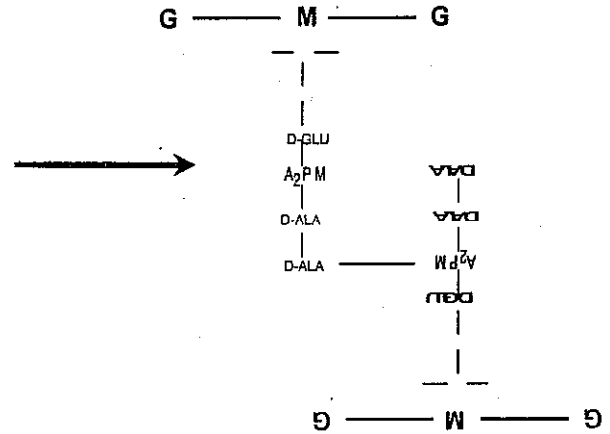
Bakteriler antibiyotiklere karşı üç temel mekanizma ile direnç geliştirirler (Şekil 1). Birincisi antibiyotiğin hedef noktasında oluşan değişikliklerdir. Hedef noktanın değiştirilmesine rifampisin direnci iyi bir örnektir. Rifampisin bakterilerin RNA polimeraz enziminin β 'subünitine (rpoB) etki eder (1). Tedavi sırasında rpoB'de oluşan mutasyonlar sonucu rifampisine afinitesi olmayan RNA polimeraz enzimi sentez edilir. Bu enzim bakterinin yaşa-



Şekil 1. Antibiyotik direnç mekanizmaları



Şekil 2a. Transpeptidaz reaksiyonu



Şekil 2b. Mürein tabakasının çapraz bağlanması

mını sürdürmesine yettiği gibi antibiyotiğe de direnç gelişmiş olur.

Hedefe Ulaşmanın Sınırlanması

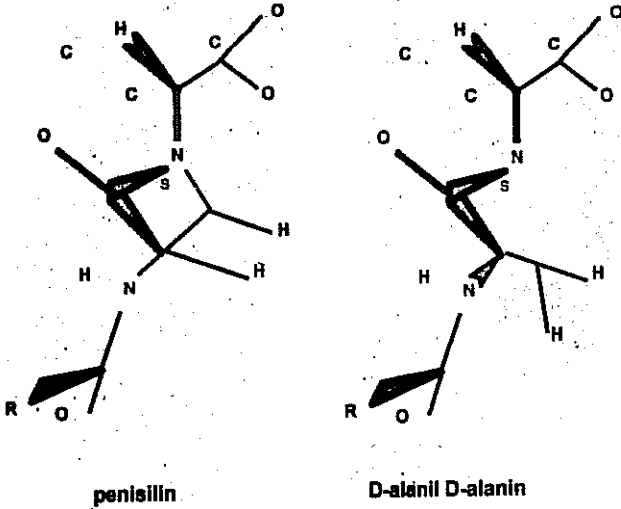
İkinci yol antibiyotiğin hedefe ulaşmasının, yani bakteriye girişinin sınırlanmasıdır. Örneğin aminoglikozid antibiyotikler bakterilerin protein sentezini bozar ve bu etkiyi oluşturmak için özel bir absorpsiyon ve transport mekanizması ile ribozomlara ulaşır (2). *Enterococcus* türleri için böyle bir mekanizma söz konusu olmadığından bu bakteriler aminoglikozid antibiyotiklere karşı doğal olarak dirençlidir. Girişin sınırlanarak direnç oluşması tedavi sırasında da olabilir. Gram-negatif enterik çomakların oluşturdukları infeksiyonların sefotaksim ya da diğer antibiyotiklerle tedavisi sırasında porin adı verilen kanalların mutasyon sonucu değişmesi dirence yol açmaktadır (3).

Antibiyotiği Etkisizleştiren Enzimler

Üçüncü mekanizma antibiyotiği etkisizleştiren enzim sentez edilmesidir. Bakterilerin β -laktamaz denilen enzimler salgılayarak direnç geliştirmeleri de bu tür dirence bir örnektir.

β -Laktam Antibiyotiklerin Etki Mekanizması

β -laktam antibiyotikler yan etkilerinin azlığı ve bakterisid olmaları ile en sık başvurulan antibiyotik grubudur. Bakterilerin peptidoglikan tabakasının sentezini bozarak etki ederler. Bakterilerin hücre duvarında yer alan peptidoglikan (mürein) tabakası mikroorganizmanın yapısını ve bütünlüğünü sağlar ve çoğu kez yaşam için gereklidir. Bu tabaka peptidoglikan tabakasının kısa peptid zincirleri ile birbirlerine çapraz bağlanmaları sonucu bütünselleşir. Bu çapraz bağlantı ise N-asetilmuramik asidin yapısında yer alan D-alanil-D-alanin molkülünün transpeptidaz reaksiyonu ile birleşmeleri sonucu olur (Şekil 2). Transpeptidaz re-

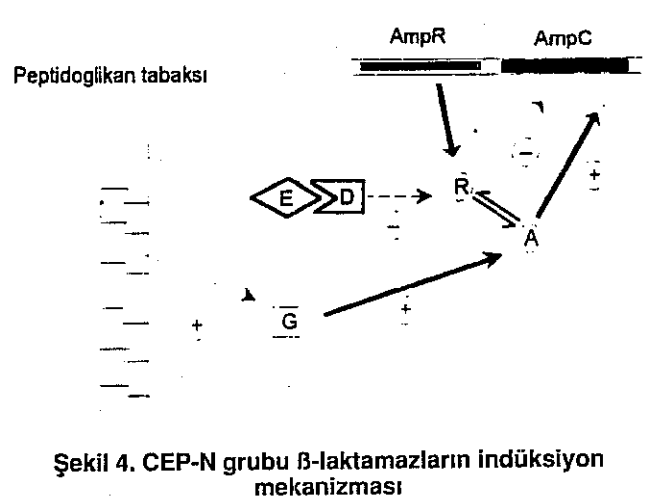


Şekil 3. D-alanil D-alanin ve penisilin moleküllerinin uzaydaki konfigürasyonu

aksiyonunu oluşturan enzimlere penisilin bağlayan proteiner (PBP) adı verilir. β -laktam antibiyotiklerin temel hedefi işte bu PBP'lerdir (4). β -laktam antibiyotiklerin yapısı ve uzaydaki konfigürasyonu D-alanil-D-alanin molekülüne çok benzemektedir (Şekil 3). Bu benzerlik β -laktam antibiyotiklerin PBP'lerle reaksiyona girmelerini ve transeptidasyonu D-alanil-D-alanin molekülünün yerini alarak engellemelerini sağlar (5). Hücre duvar yapısı oluşamayan fakat peptidoglikan sentezi süren bakterinin otolitik enzimleri denetimsiz bir biçimde etkin duruma geçer ve hücrenin parçalanmasına neden olur.

β -Laktamazlar

Bakteriler bu antibiyotik grubuna karşı çoğu kez β -laktamaz denilen enzimleri sentezleyerek direnç geliştirirler. Bu enzim β -laktam halkasındaki amid bağı parçalayarak etki eder. Bir mikroorganizmanın β -laktamaz yaptığı ilk kez 1940 yılında bildirilmiştir (6). O yıllarda antibiyotiklerin kullanıma yeni girmekte olduklarını düşünürsek bu enzimlerin bakterilerdeki doğal ürünlerin mutasyonla değişmiş türevleri olabileceği anlaşılır. Bu enzimler kromozomal kökenli olabileceği gibi plazmid ya da transpo-



zon denilen mobil genetik elemanlar üzerinde de kodlanabilir. Bu mobil genetik elemanların yayılmaları çok kolay olmaktadır. Selektif antibiyotik baskısı duyarlı suşların yok olup dirençli suşların seçilmesine neden olmaktadır. Eğer ortam, hastaneler gibi, çok antibiyotik kullanılan bir yerde dirençli kodlayan bu genetik elemanlar kolaylıkla seçilip yayılacaktır.

β -Laktamazların Sınıflandırılması

β -laktamazların birçok sınıflandırılması yapılmıştır; ancak bunlardan en yaygın kullanılanları Richmond ve Sykes (7) sınıflaması ve son olarak da Karen Bush'un önerdiği şemadır (8). Richmond ve Sykes substrat profili, kloksasilin ya da parakloromerkuribenzoat ile inhiye olma, molekül ağırlığı, izoelektrik noktaları ve plazmid üzerinde ya da kromozomal olmalarına göre bu enzimleri 5 gruba ayırmıştır. Bush sınıflamasında β -laktamazlar klavulanik asitle inhiye olma ve aktivasyon için metal iyonlarına gereksinim duyma gibi özelliklerle dört gruba ve substrat profili, izoelektrik nokta gibi özelliklerle de alt gruplara ayırılır (Tablo 1). Birinci grup klavulanik asitle inhiye olmayan indüklenebilen Gram-negatif çomakların sefalosporinazlarını içerir. İkinci büyük grup ise klavulanik asit ile inhiye olan Gram-negatif ve pozitif bakterilerin kromozomal ya da plazmid kökenli enzimleridir. Üçüncü grup klavulanik asit ile inhiye olmayan, EDTA ile inhiye olan aktivasyonu için özellikle çinko olmak üzere metal iyonlarına gereksinim duyan metalloenzimlerdir ve bu enzimler imipenem direncine yol açmaları ile önem kazanır. Son grup ise klavulanik asit ile inhiye olmayan penisilinazlardır.

Hastane İnfeksiyonları ve β -Laktamazlar

Bu yazıda özellikleri dolayısıyla hastane infeksiyonlarında sorun yaratan iki enzim grubu üzerinde durulacaktır. Bu iki grup enzim, sık karşılaşılmaları, yayılma özellikleri ve yol açtıkları tedavi sorunları ile dikkat çekicidir. Birincisi, grup 1, yani indüklenebilen sefalosporinazlar (CEP-N); ikincisi ise grup 2b', yani genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar ("extended broad spectrum β -lactamases", EBS-Y) olarak adlandırılan, monobaktamlara ve üçüncü kuşak sefalosporinlere karşı direnç sağlayan gruptur.

Tablo 1. β -laktamazların Sınıflandırılması

Grup	Altbaşlık	Substrat	İnhibe olma		Temsil eden enzim
			Klavul	EDTA	
1	CEP-N	sefalosporinler	hayır	hayır	Enterik basillerin indüklenebilen sefalosporinazları
2a	PEN-Y	penisilinler	evet	hayır	Gram-pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	BDS-Y	penisilin/sefalosporinler	evet	hayır	TEM-1-TEM-2, SHV-1
2b'	EBS-Y	sefalosporinler/ penisilinler/ sefotaksim	evet	hayır	TEM-3, TEM-2, SHV-2, SHV-6
2c	CAR-Y	penisilinler/ karbenisilin	evet	hayır	PSE-1, PSE-4, CARB-1
2d	CLX-Y	penisilinler/ kloksasilin	evet	hayır	OXA-1, OXA-7
2e	CEP-Y	sefalosporinler	evet	hayır	<i>Proteus vulgaris</i> , <i>B. fragilis</i>
3	MET-N	değişik	hayır	evet	<i>B. cereus</i> II, <i>X. maltophilia</i>
4	PEN-N	penisilin	hayır	?	<i>P. cepacia</i> , <i>B. fragilis</i>

CEP-N grubu: Gram-negatif çomakların indüklenebilen sefalosporinazları, yani CEP-N grubu β -laktamazlar, *AmpC* geni olarak bilinen ve hemen tüm enterik Gram-negatif çomaklarda var olan kromozomal bir genetik lokustan kaynağını alır. Bu bölge *AmpR* olarak adlandırılan bir komşu genetik lokusun varlığında indüklenebilen özelliği kazanır (9). Aksi takdirde antibakteriyel direnç oluşturacak kadar enzim sentezi olmaz. *Enterobacter*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Proteus rettgerii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* suşları *AmpR* lokusunu taşıyabildikleri için indüklenebilen sefalosporinaz (CEP-N) yaparlar. Bu enzimin fazla salgılanması *AmpD* adı verilen bir genetik lokusun denetimini altındadır (Şekil 4). Bu lokusun ürünü olan bir protein, *AmpR* gen ürünlerinin aktive olmasını engeller. *AmpD* bölgesinde mutasyon olan ve bu bölgenin baskısı kalkmış olan bakteriler ya aşırı CEP-N yapar ya da aşırı indüklenebilen ("hyperinducible") denilen, en ufak bir uyarıda indüklenebilen ve aşırı CEP-N yapan bakteriler haline dönüşür ki bu da kolaylıkla penisilinlere, sefalosporinlerin tümüne ve monobaktamlara direnç, demektir.

Klinik ortamında böyle CEP-N yapabilen bakteriler karşımıza, ya stabil olarak dereprese mutantlar (SDM), yani kararlı bir biçimde fazla enzim yapan mutantlar; ya aralarında SDM taşıyan ancak bunlar sayıca az olduğu için rutin testlerle saptanamayan ya da sefoksitin, imipenem gibi indükleyici antibiyotiklerle karşılaştıklarında aşırı enzim yapan bakteriler olarak çıkar. Rutin antibiyotik duyarlılık testleri ile son iki örneği ortaya çıkarmak mümkün değildir. Örneğin indüklenebilen sefalosporinaz yapan bir *Enterobacter cloacae* antibiyotik duyarlılık testlerinde üçüncü kuşak sefalosporinlere ya da monobaktamlara duyarlı görünebilir; ancak az sayıda da olsa fazla enzim yapan SDM taşıyorsa tedavi sırasında bu dirençli mutantların seçilmeye uğraması ile klinik başarısızlık ortaya çıkabilir. Bu durum ya disk difüzyon testinin değişik bir antibiyotik dizilimi ile yapılması ya da mikroorganizmanın adının doğru konulması sonucu o mikroorganizmanın CEP-N yapabileceğinin bir olasılık olarak düşünülüp klinisyenin uyarılması ile önlenir.

EBS-Y grubu: ikinci önemli grup olan ve ilk kez 1983 yılında Almanya'dan bildirilen EBS-Y, Bush sınıflamasında 2b' olarak geçer (10). 20'den fazla türü olan ve gün geçtikçe yenileri bulunan bu enzimler üçüncü kuşak sefalosporinlere, monobaktamlara ve penisilinlere direnç geliştirirler; klavulanik asitle inhibe olurlar. TEM ya da SHV olarak adlandırılan iki genetik kaynaktan gelirler ve eski enzimlerin genetik lokuslarındaki nokta mutasyonlarıyla oluşurlar (11). Hemen tümü plazmid ya da transpozon gibi yayılabilen genetik elemanların üzerinde yer alırlar. TEM kaynaklı olanları taşıyan bakterilere sefoperazon-sulbaktam etkili olur; fakat SHV kaynaklı olanlar sulbaktam ile inhibe olmazlar (12).

Bu grubun en önemli özelliği kolaylıkla yayılabilir olması ve hastane infeksiyonlarında sorun oluşturmasıdır. Çoğu kez üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli ve klavulanik aside duyarlı olmaları ile rutin testlerde tanımlanırlarsa da az enzim sentez eden mutantlar üçüncü kuşak sefalosporinlere ya da monobaktamlara duyarlı sanılabilirler. İn vivo koşullarda bu antibiyotiklerin kullanımını fazla enzim yapan mutantların seçilmesi ile tedavi başarısızlığına neden olabilir. Bu olasılığı ortadan kaldırmak, yani az enzim yapan bakterileri de tanıyabilmek için özel bir antibiyotik disk dizilimi ile yapılmış difüzyon testinden yararlanılabilir. Bu özel disk dizilimi içinde yer alan çift diskli sinerji ("double-disc

synergy") testi, EBS β -laktamaz yapan suşların % 80'inden çoğunu saptayabilmektedir. Yapılan çalışmalar normal koşullarda yapılan antibiyotik duyarlılık testlerinde EBS β -laktamaz yapan bakterilerin hemen yarısının tanınmadığını ve yanlış olarak üçüncü kuşak sefalosporinlere ve monobaktamlara duyarlı bulduklarını göstermektedir (13). Başka bir deyişle vakaların yarısı aslında dirençli oldukları halde yanlışlıkla duyarlı olarak bildirilmektedir.

β -laktam antibiyotiklere karşı gelişen direnç çoğu kez bir enzim sentezlenmesi ile olmaktadır ve bu tür direncin oluşmasına neden olan genetik elemanlar yayılıp başka türlere de geçme özelliğine sahiptir (14). Direncin artarak yayılması hastane infeksiyonlarının ve bazen de toplumda edinilmiş infeksiyonların tedavisini daha zor, pahalı ve içinden çıkılmaz hale getirmektedir. Bu tehlikeli gidişi yavaşlatmak için β -laktamazları ana çizgileriyle anlayıp genetik temellerini kavramak ve onları izlemek zorundayız. Özellikle CEP-N ve EBS-Y grubunun sorumlu olduğu direncin izlenmesi ve yaygınlığının bilinmesi, ülkemizdeki, özellikle büyük eğitim hastanelerindeki antibiyotik kullanım politikalarına da ışık tutabilir.

Kaynaklar

1. Silver LL, Bostian KA. Discovery and development of new antibiotics: the problem of antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:377-83
2. Hancock REW. Aminoglycoside uptake and mode of action: with special reference to streptomycin and gentamicin. I. Antagonists and mutants. *J Antimicrob Chemother* 1981; 8: 249
3. Hopkins JM, Towner KJ. Enhanced resistance to cefotaxime and imipenem associated with outer membrane protein alterations in *Enterobacter aerogenes*. *J Antimicrob Chemother* 1990; 25: 49-55
4. Ghuyssen JM. Bacterial active-site serine penicillin-interactive proteins and domains: mechanism, structure and evolution. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 726-32
5. Sanders CC. β -lactamases of gram-negative bacteria: new challenges for new drugs. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 1089-99
6. Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature (London)* 1940; 146: 837
7. Richmond MH, Sykes RB. The β -lactamases of gram-negative bacteria and their possible physiological role. *Adv Microb Physiol* 1973; 9: 31-88
8. Bush K. Characterization of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 259-63
9. Bennett PM, Chopra I. Molecular basis of β -lactamase induction in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 153-8
10. Knott H, Shah P, Kremery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefmandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11: 315-7
11. Sougakoff W, Goussard S, Gerbaud G, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to third generation cephalosporins caused by point mutations in TEM-type penicillinase genes. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 879-84
12. Jacoby GA, Carreras I. Activities of β -lactam antibiotics against *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 858-62
13. Sirot DL, Goldstein FW, Soussy CJ, Courticu AL, et al. Resistance to cefotaxime and seven other β -lactams in members of the family *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 1677-81
14. Rice LB, Marshall SH. Evidence of incorporation of the chromosomal β -lactamase gene of *Enterococcus faecalis* CH19 into a transposon derived from staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 1843-6