

# Hastane İnfeksiyonlarında Önem Kazanan Gram Negatif Bakterilerde Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları

Dr. Deniz GÜR\*

\* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Hacettepe, Ankara.

Bakterilerde antibiyotiklere direnç gelişmesi ile antibiyotik kullanımı arasında doğrudan bir ilişki vardır. Antibiyotik kullanımının daha fazla olması ve ortamın antimikrobiyal ajanlarla kontamine olması nedeniyle, hastaneler bakterilerde antibiyotik direncinin ortaya çıkması ve yayılması için uygun ortamlardır (1,2). Hastane infeksiyonlarında saptanan etkenlerde antibiyotiklere direnç oranı, hastane dışında saptanan etkenlere göre daha yüksektir. Hastane içinde de bölümlere göre antibiyotik direnci farklılık gösterebilmektedir, örneğin, yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardaki infeksiyonların antibiyotiklere daha dirençli mikroorganizmalara bağlı olduğu belirtilmektedir (3). Bunun bir nedeni, bu bölümlerde antibiyotik kullanımının daha fazla olmasıdır. Kullanılan antibiyotiklere bağlı olarak son kırk yıldır hastane infeksiyonlarından izole edilen etkenlerin sıralanmasında değişiklikler gözlenmektedir. Antibiyotiklerin kullanıma ilk girdiği dönemde sıklıkla hastane infeksiyonu denildiğinde akla gram pozitif koklar gelirken, 1960'lardan itibaren enterik gram negatif basiller, enterokoklar ve mantarlar önem kazanmıştır (2,4). Son yıllarda gram pozitif bakte-

riler yeniden öne geçmiş, Avrupa'daki yoğun bakım ve hematoloj/onkoloji ünitelerinden toplanan 8625 bakteri ile yapılan bir çalışmada *Staphylococcus* türleri en sık izole edilen etkenler olmuş, bunu *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Proteus* spp., *Acinetobacter* spp. ve diğerleri izlemiştir (3). Korten ve arkadaşlarının çalışmasında (5) 1991 yılında Marmara Üniversitesinde hastane infeksiyonuna yol açan etkenlerin dağılımında *S. aureus* başta gelmekte, gram negatif bakterilerden *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp. bunu izlemektedir. Türkiye'den 9 merkezin katıldığı, sadece gram negatif bakterilerin incelendiği bir çalışmada ise yoğun bakım ünitelerinde genel olarak en sık izole edilen gram negatif bakteri *Pseudomonas* spp. olmuş, bunu *Klebsiella* spp. ve *E. coli* izlemiştir (6). Ayrıca bu listeye son yıllarda yeni bakterilerin de girdiği gözlenmektedir. Bunlardan biri *Stenotrophomonas maltophilia*'dir. Bu organizma önceleri önemsenmemiş ancak son yıllarda muhtemelen antibiyotiklerin seçici baskısı sonucunda hastane infeksiyonlarında öne çıkmaya başlamıştır (7,8). Bir diğer etken, *Aeromonas* spp.'dir. Bu bakteri, karbapenemleri hidroliz eden bir  $\beta$ -laktamaz sentezlemesi nedeniyle önem kazanmıştır. Hastane infeksiyonlarında etken olan bu organizmalarda antibiyotiklere direnç mekanizmalarının bilinmesi, bu infeksiyonların tedavisi ve kontrolü açısından önem taşımaktadır.

Bakterilerin antibiyotiklere karşı gösterdiği

direnç mekanizmaları üç grup altında toplanabilir:

1. İlacın hedefinde oluşan değişiklikler
  - a. Antibiyotiğin bağlanacağı reseptörün afinitesinde azalma olması
  - b. Bakterinin ilaçtan etkilenmeyen farklı bir metabolik yol kullanması
2. Sentezlenen enzimle ilacın inaktive edilmesi
3. Hücreye giren ilaç miktarının azaltılması
  - a. Permeabilitenin azaltılması
  - b. Aktif pompalama ile ilacın dışarı atılması (9,10).

Bir bakteri, bu mekanizmalardan bir kaçını aynı anda kullanarak farklı etki mekanizmalarına sahip antibiyotiklere direnç kazanabilmektedir.

En sık gözlenen direnç mekanizmaları ve etkilenen antibiyotikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Hastane enfeksiyonu etkeni olan gram negatif bakterilerin son yıllarda özellikle,  $\beta$ -laktam, aminoglikozid ve kinolon grubu antibiyotiklere dirençli oldukları gözlenmektedir. Bu nedenle, yazıda bu grup antibiyotiklere karşı direnç mekanizmalarının üzerinde durulacaktır.

### **$\beta$ -LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ MEKANİZMALARI**

$\beta$ -antibiyotiklerin bakteri hücrelerindeki hedefi, hücre duvar sentezinin transpeptidasyon evresini katalize eden "penisilin bağlayan proteinler" (PBP)'dir.  $\beta$ -laktam antibiyotikleri bu enzimlerle bağlanarak enzimin kendi substratına bağlanmasını engellemekte, böylece duvar sentezi inhibe olmakta ve bakteri lizise uğramaktadır

**Tablo 1.** Antimikrobiale Ajanlara Karşı Dirençte Gözlenen En Önemli Mekanizmalar.

Direnç Tipi ve Antibiyotik Grubu	Özgül Direnç Mekanizması
<b>HEDEF DEĞİŞİKLİĞİ</b>	
Aminoglikozitler	Ribozomal proteinlerde değişiklik
$\beta$ -laktam antibiyotikler	PBP'lerde değişiklik yada yeni PBP sentezi
Eritromisin ve klindamisin	Ribozomal RNA'nın metilasyonu
Kinolon grubu antibiyotikler	DNA girazda değişiklik
Rifampin	RNA polimerazda değişiklik
Sulfonamidler	İlaçtan etkilenmeyen yeni bir dihidropteroat sentetaz sentezi
Trimetoprim	İlaçtan etkilenmeyen yeni bir dihidrofolat redüktaz sentezi
Tetrasiklin	Ribozomların ilaçtan korunması
Vankomisin	Hücre duvarındaki peptidde değişiklik
<b>ENZİMATİK İNAKTİVASYON</b>	
Aminoglikozitler	AAC, ANT, APH*
$\beta$ -laktamlar	$\beta$ -laktamaz
Kloramfenikol	Asetiltransferaz
<b>İLAÇ GİRİŞİNİN AZALTILMASI</b>	
<b>Permeabilitede azalma</b>	
$\beta$ -laktam antibiyotikler, kloramfenikol, kinolonlar, tetrasiklin, trimetoprim	Dış membran proteinlerinde değişiklik
<b>Aktif pompalama</b>	
Eritromisin	Yeni bir membran transport sistemi
Tetrasiklin	Yeni bir membran transport sistemi

Kaynak (10)

AAC: Asetiltransferaz, ANT: Nükleotidiltransferaz, APH: Fosfortransferaz

(11,12). Bakterilerde  $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç üç yolla gelişebilmektedir:

### 1. PBP'lerde oluşan değişiklikler ile gelişen direnç

PBP'lerdeki değişiklikler kromozomal mutasyonlar sonucu PBP'nin  $\beta$ -laktam antibiyotige afinitesinin azalması, PBP sayısında azalma olması veya  $\beta$ -laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'lerin sentezlenmesi sonucu oluşabilmektedir (13,14). PBP'lerdeki değişiklikler ile oluşan direnç bazı gram-pozitif koklarda ve *Pseudomonas* spp.'de gözlenmiştir. *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae* ve *S. pneumoniae*'de gözlenen penisilin direnci bu mekanizma ile oluşmaktadır (15). Metisiline dirençli *S. aureus*'da gözlenen direnç mekanizması da bu şekildedir.

### 2. Permeabiliteye bağlı direnç

Gram-negatif bakterilerde  $\beta$ -laktam molekülleri dış membranı "outer membrane protein" (OMP) adı verilen, porin proteinlerinden oluşan porlar yoluyla geçmektedir. Porinlerin özellikleri ve sayıları ile antibiyotigin özellikleri (yük, çözünürlük, büyüklük) hücre içine giriş hızını belirlemektedir (15). Permeabilitenin azalmasına bağlı olan direnç özellikle enzimatik direnç ile birlikte ise önemli düzeyde bir dirence yol açmaktadır. Klinikte nadir olmakla birlikte son yıllarda özellikle *P. aeruginosa* suşlarında bildirilmiştir (15).

### 3. $\beta$ -laktamaz enzimleri

$\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı klinikte en çok gözlenen direnç, bakterilerin bu antibiyotikleri inaktive eden  $\beta$ -laktamaz enzimlerini sentezlemesi ile oluşmaktadır (15,16). Gram-negatif bakterilerde  $\beta$ -laktamazlar, dışı membran ile stoplazmik membran arasındaki periplazmik boşlukta bulunmaktadır. Son yıllarda bu enzimlerin sayılarının büyük bir artış göstermesi nedeniyle çeşitli sınıflandırmalar yapılmış,  $\beta$ -laktamazlar en son 1995 yılında Bush-Jacoby-Medeiros tarafından sınıflandırılmıştır (17). Bu son sınıflandırma, 1989 yılında Karen Bush'un (16,18,19) yaptığı sınıflandırmanın bir uyarlamasıdır enzimler 4 grupta toplanmıştır (Tablo 2).

Hastane infeksiyonlarında en sık karşılaşılan enzimler, Grup 1'deki kromozomal  $\beta$ -laktamazlar, Grup 2'deki "extended-broad-spectrum" (EBS) enzimer ve Grup 3'deki  $\beta$ -laktamazlardır.

#### Grup I kromozomal $\beta$ -laktamazlar

*Salmonella* dışında hemen tüm gram-negatif

bakterilerde kromozon kontrolünde sentezlenen  $\beta$ -laktamazlar bulunmaktadır ancak miktar, sentez yolu ve dirençteki rolleri açısından farklılıklar göstermektedir (20). Enzim ifadesi indüklenebilen, yüksek düzeyde-yapısal veya düşük düzeyde-yapısal olabilir. Örneğin, *E. coli* ve *Shigella*'da düşük düzeyde sentezlenen yapısal enzimlerdir, ampisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç oluşturmamaktadırlar. *Enterobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *C. freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* ve *P. rettgeri* ise *E. coli*'deki gibi AmpC  $\beta$ -laktamaz sentezlemektedir ancak bu bakterilerde enzim indüklenebilir türdedir. Enzim normalde bir repressör mekanizma ile düşük düzeyde sentezlenirken ortama bir penisilin ya da sefalosporin eklendiğinde enzim sentezinde bir kaç yüz kat artış olabilmektedir. Ortamdan indükleyici uzaklaştırıldığında enzim sentezi normale dönmektedir. Tip I enzim sentezleyen bakteri toplamlarında 10-5-10-7 sıklığında stabil olarak "derepressed mutantlar" ortaya çıkmaktadır. Bu bakterilerde  $\beta$ -laktamaz enzimlerinin sentezi devamlı ve yüksek düzeyde olmaktadır ve klinikte bu tip direnç çok sık gözlenmektedir (15,20,21).  $\beta$ -laktamaz dereprese organizmalar, indüklenebilen  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin kullanılması ile seleksiyona uğramaktadır. Böyle  $\beta$ -laktamaz duyarlı popülasyonu öldürmekte ancak dereprese mutantların çoğalmasına yol açmaktadır. Bu seleksiyon infeksiyon yerine ki bu da bakteri yoğunluğunu belirlemektedir, ilaç düzeyine ve kullanılan  $\beta$ -laktam ajanını indükleme özelliğine bağlıdır. Geniş spektrumlu sefalosporinler ile tedavi edilen *Enterobacter* bakteremilerinin %20'sinde seleksiyon olduğu tahmin edilmektedir (20). Buna karşın üriner sistem infeksiyonlarında geniş spektrumlu sefalosporinlerin kullanılması infeksiyon yerinde ilaç düzeyinin yüksek olması nedeniyle büyük risk oluşturmamaktadır. Ampisilin ve dar spektrumlu  $\beta$ -laktamazlar hem zayıf indükleyici, hem de derepressed enzimlere duyarlı olduklarından hem indüklenebilir hem de dereprese mikroorganizmalar bunlara dirençlidir. Karbapenem grubu antibiyotikler güçlü indüksiyon yapmakla birlikte bu enzimlere dirençlidirler. Buna karşın, geniş spektrumlu sefalosporinler MIC düzeylerinin altında indüksiyona neden olmaz ve hidrolize duyarlıdır. Bunun sonucunda  $\beta$ -laktamazı indüklenebilir olan bakterilerin bunlara duyarlı görünür ancak dereprese olanlar dirençlidir. Bu nedenle, indüklenebilir  $\beta$ -laktamaz

**Tablo 2.**  $\beta$ -Laktamaz Sınıflandırılması.

Bush Jacobs Medeiros	1989 Bush grubu	Richmond- Sykes sınıf <sup>a</sup>	Mitsuhashi sınıf <sup>a</sup>	Molekül sınıfı	Tercih edilen substrat	CA <sup>b</sup>	EDTA	Enzimler
1	1	la,lb,ld	CSase	C	Sefalosporinler	-	-	Gram negatif bakterilerin AmpC; MIR-1
2a	2a	Yok	PCase V	A	Penisilinler	+	-	Gram pozitif bakterilerin penisilinazları
2b	2b	III	PCase I	A	Penisilinler, Sefalosporinler	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2b'	Yok (Sadece IV deki K1)	CXase	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrum sefalosporinler, monobaktamlar	+	-	TEM-3 ile TEM-26, SHV-2 ile SHV-6, <i>Klebsiella oxytoca</i> K1.
2br	Yok	Yok	Yok	A	Penisilinler	±	-	TEM-30 ile TEM-36, TRC-1
2c	2c	II,IV	PCase IV	A	Penisilinler, karbenisilin	+	-	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	2d	V	PCase II PCase III	D	Penisilinler, kloksasilin	±	-	OXA-1 ile OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
2e	2e	Ic	CXase	A	Sefalosporinler	+	-	<i>Proteus vulgaris</i> 'in induklenebilir sefalosporinazları
2f	Yok	Yok	Yok	A	Penisilinler, sefalosporinler, Karbapenemler	+	-	<i>Enterobacter cloacae</i> 'nin NMC-A'sı, <i>Serratia marcescens</i> 'in Sme-1'i
3	3	Yok	Yok	B	Birçok $\beta$ -laktam, Karbapenemler dahil	-	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 'nin L 1'i <i>Bacteroides fragilis</i> 'in Ccra'sı
4	4	Yok	Yok	ND <sup>c</sup>	Penisilinler	-	?	<i>Pseudomonas cepacia</i> 'nin penisilinazı

<sup>a</sup> CSase sefalosporinaz, PCase penisilinaz, CXase sefuroximi hidrolize eden  $\beta$ -laktamaz

<sup>b</sup> CA klavulanik asid

<sup>c</sup> ND Belirlenmemiş

maz sentezleyen bakterilerin etken olduğu enfeksiyonlarda geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamların kullanılması risk taşımaktadır. Grup 1'deki kromozomal enzimler  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerinden de etkilenmemektedir. Bir kez seleksiyona uğradıktan sonra derepressed mutantlar hastane mikroflarasında birikebilir. Bu da hastaneye, servise ve sefalosporin kullanımına göre değişebilmektedir. Sefalosporin kullanımının yoğun olduğu ülkemizde bir çok araştırma bu suşların hastanelerimizde yaygın olduğunu göstermektedir.

### Grup 2'deki Plazmid kontrolündeki $\beta$ -laktamazlar:

Gram-negatif bakterilerde gözlenen  $\beta$ -laktamaz antibiyotiklere karşı direnç büyük oranda plazmid kontrolündeki  $\beta$ -laktamazlara bağlıdır. Bu enzimlerin sayısının bugün 75'den fazla olduğunu belirtilmektedir (20).

Son sınıflandırmada Grup 2b'de yer alan "Broad spectrum" (geniş spektrumlu) enzimler, plazmid kontrolündeki enzimlerin en büyük grubunu oluşturmaktadır. Bunlar içinde en sık saptanan enzimler TEM-1 ve SHV-1'dir (15,22). Ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin ve sefamandole direnç oluştururken yeni sefalosporinler, monobaktamlara etkisizdirler. Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerine duyarlıdırlar (15).

Grup 2be'de yer alan "Extended broad spectrum enzimler" (EBS) ise son yıllarda özellikle *Klebsiella* ve *E. coli* suşlarında bildirilen, TEM veya SHV enzimlerden köken alan  $\beta$ -laktamazlardır. Sefotaksim, seftazidim, seftriakson ve aztreonam gibi yeni kuşak  $\beta$ -laktamlara direnç oluşturmakta, sefoksitin, sefotetan ve  $\beta$ -laktamaz inhibitörlerine duyarlı kalmaktadır. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda da EBS enzimlerinin varlığı gösterilmiştir (23,24). Bu grupta yer alan enzimlerden biri de PER-1 enzimidir. Bu enzim TEM ya da SHV enzimlerden köken almamıştır. İlk kez bir Türk hastadan izole edilen bir bakteride saptanmış, Hacettepe'de 14 *P. aeruginosa* suşunda, İstanbul'da ise *Salmonella*'larda gösterilmiştir (25-27). PER-1 enzimi içeren izolatlar seftazidime çok dirençlidir (MIC>256 mg/L). Buna karşın seftazidim-klavulanik aside çok duyarlıdır (MIC 8-16 mg/L).

Hastaneler EBS  $\beta$ -laktamaz sentezleyen organizmalar ile kolonizasyon veya enfeksiyon oluşmasında en yüksek riski taşıyan ortamlardır. Bu risk faktörleri:

1. Yoğun bakım ünitesinde bulunmak,
2. Yakın tarihte ameliyat geçirmiş olmak,
3. İnstrümantasyon,
4. Hastanede uzun süre kalma,

5. Antibiyotik tedavisi almak olarak belirtilmektedir. Alınan antibiyotiğin mutlaka geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz olması gerekmektedir (28).

2d grubunda yer alan enzimlerin Türkiye açısından önemi vardır. Bu grupta bulunan OXA enzimlerinden bazıları ilk kez Türkiye'de saptanmıştır. Bunlardan OXA-11 OXA-14, OXA-16 ve OXA-17 enzimleri OXA-10'dan, OXA-15 ise OXA-2'den köken almıştır (29-32). OXA-11, 14, 15 ve 16 saftazidim direncine yol açarken OXA-17 sefotaksime direnç oluşturmaktadır. Bu enzimlerin önemi, klavulanik asit ve sulbaktama dirençli olmaları ve hastane enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda saptanmalarıdır.

2f grubunda *E. cloacae* ve *S. marcescens*'in karbapenemleri hidroliz eden enzimleri bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar da son yıllarda hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan etkenlerdir.

### Grup 3

Grup 3  $\beta$ -laktamazları, klavulanik asit ile inhibe olmayan metalloenzimleri içermektedir. Aktiviteleri için Zn iyonlarına gereksinimleri vardır. Bu gruptaki en önemli enzimler, *S. maltophilia*'nın L1 enzimi, *Aeromonas hydrophila*'nın kromozomal enzimleri ve *Bacteroides fragilis*'in CcrA enzimidir (17). *S. maltophilia*'nın L1 enzimi, penisilin, karbapenemler ve bir çok sefalosporine karşı dirençten sorumludur.

### AMİNOGLİKOZİT ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DİRENÇ MEKANİZMALARI

Aminoglikozitler bakteri hücrelerine üç evrede girmekte ve 30s ribozomlarına irreversibil olarak bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedir (33). Gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerde aminoglikozitlere karşı direnç üç mekanizma ile oluşabilmektedir. Bunlar ribozomal direnç, permeabiliteye bağlı direnç ve enzimatik dirençtir (34,35).

#### Ribozomal direnç

Aminoglikozit antibiyotiklere karşı gelişen ribozomal direnç, bu antibiyotiklerin bakteri hücreesindeki hedefleri olan ribozomlarda oluşan mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. *N. go-*



*norrhoeae*, enterokoklar, *S. aureus* ve *Pseudomonas* türlerinde bildirilmiş olan bu direnç klinikte nadirdir ve diğer aminoglikozitlere karşı çapraz direnç oluşmamaktadır (35,36).

### **Permeabiliteye bağlı direnç**

Aminoglikozitlere karşı kromozomal mutasyonlar sonucunda membrandaki permeabilitenin azalması ile oluşan direnç en sık olarak *P. aeruginosa* suşlarında gözlenmektedir. Bu tip dirençte direnç düzeyinin yüksek olmamasına karşın tüm aminoglikozitlere karşı çapraz direnç oluşmaktadır (34,35).

### **Enzimatik modifikasyon**

Klinikte en önemli ve sık olan direnç mekanizması budur. Plazmid veya transpozonlarda kodlanan enzimlerle antibiyotik modifiye edilmektedir.

Konjugasyon, transdüksiyon veya transformasyon ile bu plazmidler duyarlı bakterilere geçirilebilir ve tek bir plazmid birden fazla enzim geni içerebilir. Bu enzimlerin sentezi yapısaldır ve hücre içi enzimlerdir. Kataliz ettikleri reaksiyona göre üç sınıfta toplanmaktadır:

#### **1- Asetiltransferazlar (AAC)**

Aminoglikozit molekülündeki amino grubunu asetile etmektedir.

#### **2- Nükleotidil transferazlar (ANT veya AAD)**

Aminoglikozit molekülündeki hidroksil grubunu adenile etmektedir.

#### **3- Fosfotransferazlar (APH)**

Aminoglikozit molekülündeki hidroksil grubunu fosforile etmektedir.

Enzimin aminoglikozit molekülündeki etki bölgesi parantez içinde bir rakamla belirtilmektedir; örneğin, AAC(3), 3-amino grubunun asetile edildiğini göstermektedir. Benzer etki gösteren enzimlerin ayırdedilmesi için buna Romen rakamları eklenmektedir; örneğin AAC(3) enzimi, AAC(3)-I'den, AAC(3)-VI'ya kadar numaralanmıştır.

Bir aminoglikozit molekülü birden fazla bölgede modifikasyona uğrayabilir, yani bir çok farklı enzim için substrat olabilir, örneğin, gram negatif bakterilerde gentamisin AAC(2')-I, AAC(3)-I, ve ANT (2'')-I enzimleri modifiye edebilmektedir. Ayrıca bir enzim bir çok farklı aminoglikoziti değiştirebilir (22). Örneğin ANT (2'')-I enzimi, kanamisin, tobramisin ve gentamisin mo-

difiye edebilmektedir. Bir bakteride bu enzimlerden birden fazla sentezlenmesi, bazı enzimlerin substratları olmayan antibiyotikler kullanıldığında bile seleksiyona uğrayacağını göstermektedir (37).

Değişikliğe uğratılan aminoglikozitler ribozomlara bağlanamamakta ve etki gösterememektedir. Aminoglikozit antibiyotikleri modifiye eden enzimlerin dağılımı coğrafi bölgelere göre, hatta hastaneden hastaneye değişmektedir. Bu da antibiyotik kullanımı sonucu oluşan seleksiyon baskısı ile farklı enzimlerin daha yaygın oluşuna bağlanmaktadır. Örneğin, gentamisin amikasinin daha sık kullanıldığı ülkelerde en sık gözlenen enzimler ANT(2'') ve AAC(3)'tür. Amikasinin yaygın olarak kullanıldığı ülkelerde ise amikasinin inaktive debilen AAC(6') enzimi sık bulunmaktadır (38). AAC(6')-I'in son yıllarda özellikle Türkiye'de büyük bir artış gösterdiği ve bunun da son yıllarda gentamisin direncinin artışı nedeniyle tedavide amikasin kullanımının tercih edilmesine, ayrıca direnç plazmidini ve transpozonlara çok rahat rekombine olabilmesiyle ilgili olduğu bildirilmektedir (39).

## **KİNOLON GRUBU ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ**

Kinolonlar, kimyasal olarak sentezlenen antimikrobiyal ajanlar olup bakterilerdeki hedefleri DNA giraz enzimidir (10,22). Bu enzimin görevi DNA'da negatif süperkoiller oluşturmaktır. Enzim iki A, iki B alt biriminden oluşmaktadır. Diğer antimikrobiyal ajanlarda gözlenen durumun aksine, kinolonlara karşı plazmid kontrolünde bakteri direnci klinikte saptanmamıştır (22,40). *Shigella* türlerinde nalidiksik aside karşı plazmid kontrolünde direnç bildirilmiştir ancak bu plazmid 4-kinolonlara direnç oluşturmamaktadır (22). Bu direnç kromozom kontrolündedir ve iki farklı mekanizma ile gelişebilir:

### **1. DNA giraz enziminde değişiklik**

Bugüne değin incelenen yüksek-düzeyde kinolon direncinin *gyrA* genindeki mutasyonlara bağlı olduğu saptanmıştır. *gyrA* mutasyonları tüm kinolonlara yüksek düzeyde bir direnç oluşturmakta, ancak diğer grup antibiyotikleri etkilememektedir (22,40). Böyle mutasyonlar *E. coli*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *C. freundii* ve *S. marcescens*'de tanımlanmıştır. *gyrB* geninde oluşan mutasyonlar ile ortaya çıkan kinolon direnci *E. coli* ve *P. aeruginosa*'da gösterilmiştir, ancak bu direnç tüm kinolonlara karşı oluşmayabilir (22).

## 2. İlacın hücreye girişini azaltan mutasyonlar

Kinolonların hedeflerine ulaşabilmeleri için bakteri hücrelerine girmeleri gerekmektedir. Bu nedenle, 4-kinolonların bakteri hücrelerine girişinin azalması, bakterinin duyarlılığında bir azalmaya neden olmaktadır. Bu antibiyotikler gram-negatif bakterilere dış membrandaki porinlerden diffüze olarak girmektedir. Kromozomal mutasyonlar sonucu dış membran porinlerinde oluşan değişimler, kinolonlara karşı direncin oluşmasına yol açabilir. Bu tip direncin özelliği, direncin sadece kinolonlara karşı değil, aynı zamanda diğer grup antibiyotiklere karşı da oluşmasıdır (10,22,40). Örneğin *P. aeruginosa*'da ilacın girişinin azalmasına yol açan mutasyonların çok çeşitli dış membran proteinleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (*nalB*, *cfxB*, *nfxB*, *grl gr2*). Or1 ve Or2'deki mutasyonlar ile OMP G sayısı azalmakta, kinolonlarla birlikte  $\beta$ -laktam antibiyotiklere, kloramfenikol ve tetrasikline de direnç ortaya çıkmaktadır. *P. aeruginosa*'da 1990 yılında saptanan bir direnç de *nfxC* genindeki mutasyon sonucu ortaya çıkmıştır. Dirençli suşların kinolonlarla birlikte imipenem ve kloramfenikole de direnç kazandığı, buna karşın diğer geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aminoglikozitlere duyarlı olduğu belirlenmiştir (22).

### Sonuç

Antibiyotiklere karşı bakterilerde gözlenen direnç, tüm dünyayı ilgilendiren bir sorundur. Hastaneler ve özellikle yoğun bakım üniteleri hem direncin ortaya çıkışı, hem de hastadan hastaya dirençli organizmaların geçişi için uygun ortamlardır (2). Antibiyotiklere çoğul direnç, gösteren gram negatif bakteriler özellikle hastane infeksiyonlarında saptanmaktadır. Bu bakteriler en sık olarak aminoglikozitler, yeni kuak  $\beta$ -laktam antibiyotikler ve kinolonlara karşı dirençli bulunmakta ve antibiyotiklerden herhangi birinin kullanılması, yalnız o antibiyotiğe değil, diğer grup antibiyotiklere karşı dirençli organizmaların da seçilmesine yol açmaktadır. Antibiyotiklerin yetersiz dozda uygulanması veya bakteri yoğunluğunun infeksiyon yerinde yüksek olması (abse veya kistik fibrozisde olduğu gibi) gibi faktörler de dirençli organizmaların seleksiyonuna yol açmaktadır (2). Bu nedenle, hastanelerde antibiyotiklerin uygun dozda ve kontrollü kullanımı, direnci azaltacak önlemlerin başında gelmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Gowan JE. Is antimicrobial resistance in hospital microorganisms related to antibiotic use? Bull N Y Acad Med 1987;63:253.
2. Gould IM, Risk factors for acquisition of multiply drug-resistant gram-negative bacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13(Suppl 1):30-8.
3. Verbist L. Epidemiology and sensitivity of 8625 ICU and hematology/oncology bacterial isolates in Europe. Scand J Infect Dis 1993;(Suppl 91):14-24.
4. Jacobson KL, Cohen SH, Inciardi JF, et al. The relationship between antecedent antibiotic use and resistance to extended-spectrum cephalosporins in Group I  $\beta$ -lactamase producing organisms. Clin Infect Dis 1995;21:1107-13.
5. Korten V. Hastane infeksiyonlarının epidemiyolojisi ve genel risk faktörleri. Akalın HE (ed). Hastane İnfeksiyonları 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi 1993;34-44.
6. Gür D, Ünal S ve Çalışma grubu. Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere in vitro duyarlılıkları. Flora Dergisi 1996;3:153-9.
7. Snyderman DR. Clinical implications of multi-drug resistance in the intensive care unit. Scand J Infect Dis 1991;(Suppl 78):54-63.
8. Livingstone D, Gill MJ, Wise R. Mechanisms of resistance to the carbapenems. J Antimicrob Chemother 1995;35:1-5.
9. Murray BE. New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. J Infect Dis 1991;163:1185-94.
10. Jacoby GA, Archer GL. New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. New Engl J Med 1991;324:601-12.
11. Neu HC. Relation of structural properties of  $\beta$ -lactam antibiotics to antibacterial activity. Am J Med 1985;79(Suppl 2A):1-13.
12. Hayes MV, Ward JBB. The Role of penicillin-binding proteins in the antibacterial activity of  $\beta$ -lactam antibiotics. In: Lorian V (ed). Antibiotics in Laboratory Medicine. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986:722-50.
13. Malouin F, Bryan LE. Modification of penicillin-binding proteins as mechanisms of  $\beta$ -lactam resistance. Antimicrob Agents Chemother 1986;30:1-5.
14. Spratt BG. Resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics mediated by alterations of penicillin-binding proteins. In: Bryan LE (ed). Handbook of Experimental Pharmacology vol 91. Berlin: Springer-Verlag, 1989;77-100.
15. Livermore DM. Mechanisms of resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. Scand J Infect Dis 1991;1(Suppl 78):7-16.
16. Bush K. Characterization of  $\beta$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:259-63.
17. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1211-33.

18. Bush K. Classification of  $\beta$ -lactamases: Groups 1, 2a, 2b, and 2b. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:264-70.
19. Bush K. Classification of  $\beta$ -lactamases. Groups 2c, 2d, 2e, 3, and 4. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:271-6.
20. Livermore DM.  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-84.
21. Lindberg F, Normark S. Contribution of chromosomal  $\beta$ -lactamases to  $\beta$ -lactam resistance in enterobacteria. *Rev Infect Dis* 1986;8:292-304.
22. Amyes SGB, Gemmell CG. Antibiotic resistance in bacteria. *J Med Microbiol* 1992;36:4-29.
23. Gür D, Pitt TL, Hall LMC, Akalın HE, Livermore DM. Diversity of *Klebsiella* with extended-spectrum  $\beta$ -lactamases at a Turkish university hospital. *J Hosp Infect* 1992;22:163-78.
24. Vahaboğlu H, Eroğlu C, Öztürk R, Mülazımoğlu L, Dodanlı S, Yıldırım İ. Extended spectrum beta lactamase producing *Salmonella* strains. FEMS Symposium: Multiple-resistant enteric bacilli and their infections, Abstract. June 30-July 2, 1994, İstanbul.
25. Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum  $\beta$ -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:962-9.
26. Danel F, Hall LMC, Gür D, Akalın HE, Livermore DM. Transferable production of PER-1  $\beta$ -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:281-94.
27. Vahaboğlu H, Hall LMC, Mülazımoğlu L, Dodanlı S, Yıldırım İ, Livermore DM. Resistance to extended-spectrum cephalosporins, caused by PER-1 beta-lactamase in *Salmonella typhimurium* from İstanbul, Turkey. *J Med Microbiol* 1995;43:294-9.
28. Quinn JP. Clinical significance of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;13(Suppl 1):39-42.
29. Hall LMC, Livermore DM, Gür D, Akova M, Akalın HE. OXA-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2)  $\beta$ -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1637-44.
30. Danel F, Hall LMC, Gür D, Livermore DM. OXA-14, another extended-spectrum variant of OXA-10(PSE-)  $\beta$ -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1881-4.
31. Danel F, Hall LMC, Gür D, Livermore DM. Multiple secondary lactamase, including a new OXA-10 mutant in two Turkish *P. aeruginosa* isolates. First European Congress of Chemotherapy, Poster no. T 119, 14-17 May 1996, Glasgow, Scotland.
32. Danel F, Hall LMC, Gür D, Livermore DM. OXA-16 A new OXA-10 related  $\beta$ -lactamase giving ceftazidime resistance in *P. aeruginosa* from Turkey. 36th ICAAC, Poster no. C27, 15-18 September 1996, New Orleans, Louisiana, USA.
33. Davies JE. Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes. In: Lorian V (ed). *Antibiotics in Laboratory Medicine*, Baltimore: Williams and Wilkins, 1986:790-809.
34. Courvalin P, Carlier C. Resistance towards aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics in bacteria. *J Antimicrob Agents* 1981;8(Suppl A):57-69.
35. Philips I, Shannon K. Aminoglycoside resistance. *Br Med Bull* 1984;40:28-35.
36. Sande MA, Mandell GL. *Antimicrobial agents-The aminoglycosides*. In: Goodman A, Rail TW, Nies AS, Taylor P (eds). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: Pergamon Press, 1990: 1098-116.
37. Courvalin P, Carlier C. Resistance towards aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics in bacteria. *Antimicrob Agents* 1981;8(Suppl A):57-69.
38. Sanders CC. Bacterial proteins involved in antimicrobial drug resistance. *Current Topics in Infectious Diseases and Clinical Microbiology* 1988;2: 115-21.
39. Miller GH and the Aminoglycoside Resistance Study Groups. Increasing complexity of aminoglycoside resistance mechanisms in gram-negative bacteria. *APUA newsletter* 1994;12:1-5.
40. Piddock LJV. Resistance to quinolones and fluoroquinolones. In: Bryan LE (ed). *Handbook of Experimental Pharmacology* vol 91. Berlin: Springer-Verlag, 1989:169-92.

#### YAZIŞMA ADRESİ:

Doç. Dr. Deniz GÜR  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi  
Mikrobiyoloji Laboratuvarı  
Hacettepe - ANKARA