

Hastane İnfeksiyonları ve Antimikrobiyal İlaçlara Çoğul Dirençli Gram-Negatif Bakteriler

Dr. Deniz GÜR*

* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Ankara.

Hastane infeksiyonlarına yol açan, hastalarda ve hastane çalışanlarında kolonize olan mikroorganizmaların toplumdakilere kıyasla antibiyotiklere karşı daha dirençli oldukları bilinmektedir. Hastane infeksiyonlarında 1970'lerde özellikle yoğun bakım ünitelerinde ortaya çıkmaya başlamış olan antimikrobiyal ilaçlara dirençli mikroorganizmaların seleksiyonu bu ilaçların yaygın kullanımına bağlanmaktadır (1,2). Bir çok ülkede birden fazla antibiyotik grubuna dirençli (çoğul dirençli) hastane infeksiyonu etkenleri büyük bir sorun yaratmaktadır (3).

Gram-negatif bakteriler içinde en önemli hastane infeksiyonu etkenleri; *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp. ve *Serratia* spp.'dir (1). Son yıllarda ülkemizde yapılan çok merkezli bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan en sık izole edilen etkenler sırasıyla *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Acinetobacter* spp. ve *Enterobacter* spp. olmuştur (4). Bu çalışmadan iki yıl sonra yapılan benzer bir çalışmada ise yine *Pseudomonas* spp. ilk sırayı almış, buna karşın bunu sırasıyla *E. coli*, *Acinetobacter* spp. ve *Klebsiella* spp. izlemiştir (5).

Bu derleme yazısında antimikrobiyal ilaçlara direnç mekanizmalarının benzerliği nedeniyle sadece fermentatif gram-negatif bakterilerdeki direnç ele alınmıştır.

BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ

Beta-laktam antibiyotiklere dirençte en sık gözlenen mekanizma, beta-laktamaz enzimleridir. *E. coli* ve *Klebsiella* spp.'de plazmid kontrolündeki beta-laktamazlar, *Enterobacter* spp. ve *Serratia* spp.'de ise kromozom kontrolündeki beta-laktamazlar önemlidir.

E. coli ve *Klebsiella*

E. coli hastane ortamında güç yaşayan bir bakteri olduğundan bu bakteriye bağlı hastane infeksiyonlarının çoğu endojendir ve barsak florasından köken almaktadır. Buna karşın son yıllarda çoğul dirençli suşlar hastane infeksiyonlarında izole edilmeye başlamıştır. Günümüzde *E. coli*'lerin %50'den fazlası ampisiline dirençli bulunmaktadır (1,6). Bu direnç büyük oranda TEM-1 beta-laktamazına, daha nadir olarak da TEM-2 beta-laktamazına bağlıdır ve bu bakterilerde ampisilin etkisiz olmasına karşın sefalosporinler, kinolonlar ve aminoglikozidler etkili olabilmektedir (1). Bu suşların beta-laktamaz inhibitörlü beta-laktamlara duyarlı olmalarına karşın son yıllarda bu enzimleri aşırı üreten suşların beta-laktamaz inhibitörlerine karşı direnç gösterebildikleri gözlenmiştir (7).

Klebsiella spp.'ler ampisiline doğal olarak dirençlidir. Bu dirence kromozomal olarak sentez-

lenen ve TEM-1 ve TEM-2 beta-laktamazlarına benzerlik gösteren SHV-1 enzimi yol açmaktadır. Ampisiline dirençli olmaları nedeniyle ampisilin ve aynı spektrumdaki ilaçlar ile tedavi edilen hastalarda kommensal florada *E. coli*'nin yerini *Klebsiella* spp. almaktadır. Hastane enfeksiyonlarında *K. pneumoniae*'nin daha sık gözlenmesine karşın son yıllarda *K. oxytoca*'ya bağlı enfeksiyonlarda artış olmuştur. Hastanede kalış süresinin uzaması ve antibiyotik tedavisi *Klebsiella* spp. ile kolonizasyonu arttırmaktadır (1,8). *Klebsiella* spp.'nin deri ve kuru yüzeylerde *E. coli*'den daha dayanıklı olmaları, sık olarak hastane enfeksiyonlarına yol açmalarında etkindir. Bu bakteriler hastaneler arasında geçebilmekte ve bazen hastanelerde endemik olarak diğer *Klebsiella* spp. ve *Enterobacter* spp. de çoğul direncin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (1).

Son yıllarda hastane epidemilerinde üçüncü kuşak sefalosporinlere dirençli olan *Klebsiella* spp. ve *E. coli*'ler gözlenmeye başlanmıştır. Bu direnç, bakterilerde plazmid kontrolünde sentezlenen genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar (ESBL) ile oluşmaktadır. ESBL sentezleyen izolatlar sefotaksim, seftazidim, seftriakson ve aztreonam gibi yeni kuşak beta-laktamlara dirençlidir (3,6). Sefoksitin, sefotetan ve beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır. ESBL'ler TEM-1, TEM-2 veya SHV-1 beta-laktamazlardan 1-4 aminoasit değişikliği ile ortaya çıkmıştır ve bunları aşırı sentezleyen izolatların beta-laktamaz inhibitörlü kombinasyonlara da direnç gösterebildiği saptanmıştır. ESBL sentezleyen suşların bir çoğunda diğer grup antibiyotiklere de direnç vardır (2,9). Türkiye'de ESBL sentezleyen *Klebsiella* spp.'ler ilk kez 1992 yılında bildirilmiştir (10). Ülkemizde 1996 yılında yapılan, 8 merkezin katıldığı bir çalışmada yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan izole edilen gram-negatif etkenler incelenmiş ve bunların çeşitli antibiyotiklere duyarlılıkları araştırılmıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre seftazidime dirençli olan *Klebsiella* spp.'lerin %61.8'inde, *E. coli*'lerin ise % 12.1'inde ESBL bulunduğu saptanmıştır (4). Seftazidime dirençli olan *Klebsiella* spp.'lerin %64'ünün amikasinine, %53'ünün de siprofloksasine de dirençli oldukları saptanmıştır. Seftazidime dirençli *E. coli*'lerin ise %55'inin amikasinine, %48'inin siprofloksasine dirençli olduğu belirlenmiştir (4). 1998 yılında yapılan, beş merkezin katıldığı bir çalışmada hastane enfeksiyonu etkeni *E. coli* ve *Klebsiella* spp.'lerde bulunan ESBL'ler araştırılmış ve

buna göre bu enzimlerin bulunma sıklığının ülkemizde hastaneden hastaneye farklılık gösterdiği belirlenmiştir. *Klebsiella* spp.'de suşların %33-86'sının, *E. coli*'lerin ise %0-27'sinin ESBL sentezlediği saptanmıştır (11).

***Enterobacter* spp. ve *Serratia* spp.**

Bugüne değin *Enterobacter* spp.'nin 11 türü belirlenmiştir. Klinik örneklerden en sık izole edileni *E. cloacae*'dir. Bunu *E. aerogenes* izlemektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde *Enterobacter* spp. gram-negatif nozokomiyal enfeksiyonlarda *E. coli* ve *Pseudomonas*'dan sonra üçüncü sırayı almıştır. Bunun da sefalosporinlerin artan kullanımına bağlı olarak dirençli mutantların seçilmesi sonucu olduğu düşünülmektedir (1). Ülkemizde ise en sık izole edilen 4. veya 5. etken olmuştur (1,4). Antibiyotiklere çoğul dirençli *Serratia* spp.'de son yıllarda hastane enfeksiyonlarından artan sıklıkta izole edilmektedir. *Enterobacter* spp. ve *Serratia* spp. yapısal olarak birinci kuşak sefalosporinlere dirençlidir (3,6). Her iki bakteride de indüklenebilen türde grup I beta-laktamaz bulunmaktadır. Normalde bir repressör gen tarafından baskılanmış olan enzim sentezi belirli beta-laktamlar ile karşılaşıldığında artış gösterir. Bu bakterilerde mutasyon sonucu devamlı yüksek düzeyde enzim sentezi (derepresyon) ortaya çıkabilmekte ve bakteri sonuçta ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporinlerin tümüne karşı dirençli hale gelmektedir. Dereprese mutantlar indüklenebilir beta-laktamaz sentezleyen bakteri popülasyonlarında 10^{-5} - 10^{-7} sıklıkta ortaya çıkmaktadır. Bu olay, enfeksiyonun yeri, ilacın ulaşabildiği düzey ve kullanılan beta-laktam antibiyotiği ile ilişkilidir. Pnömoni ve bakteremi gibi enfeksiyonlarda seleksiyon olasılığının yüksek olmasına karşın, üriner sistem enfeksiyonlarında ulaşılan ilaç düzeyinin dereprese mikroorganizmalar için MİK değerlerinin üzerinde olması nedeniyle düşük olduğu belirtilmektedir (6). Bu bakteriler çoğunlukla karbapenemlere ve dördüncü kuşak sefalosporinlere (sefpirom ve sefepim) duyarlıdır (1,2). Beta-laktamlara direncin yanında *Enterobacter* spp. ve *Serratia* spp.'de aminoglikozid ve diğer grup antibiyotiklere direnç birlikte bulunabilmektedir (3). Ülkemizde 1996 yılında *Enterobacter* spp.'de seftazidime direnç %77.6 olarak bulunmuştur. Seftazidime dirençli suşların %19'unun imipeneme, %66'sının amikasinine, %53'ünün de siprofloksasine dirençli olduğu gözlenmiştir (4).

Enterobacter spp. de *Klebsiella* spp. gibi deri ve kuru yüzeylerde uzun süre canlı kalabilir buna karşın en sık olarak %5 dekstroz gibi düşük besin değerli sıvıları tercih etmekte ve buna bağlı olarak kontamine intravenöz sıvılar ile ilişkili epidemilere yol açtığı bildirilmektedir. Hastalarda *Enterobacter* spp.'nin birden fazla türü bir arada bulunabilir; antibiyotik kullanımı ile birbirinden bağımsız olarak seleksiyona uğramış birden çok türe bağlı epidemiler bildirilmiştir. Çoğul dirençli *Enterobacter* spp.'nin özellikle profilaktik olarak ikinci ve üçüncü kuşak sefalosporin kullanımından sonra ortaya çıktığı gözlenmiştir (1).

AMİNOGLİKOZİD ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ

Aminoglikozid antibiyotiklere direnç büyük çoğunlukla plazmid, kromozom veya transpozonlarda bulunan genlerce kodlanan modifiye edici enzimlerle olmaktadır. Tek bir bakteride birden fazla enzim geni bulunabilir. Bu enzimler kataliz ettikleri reaksiyona göre asetiltransferazlar (AAC), nükleotidil transferazlar (ANT) ve fosfotransferazlar (APH) olarak isimlendirilmiştir (12,13). Bir aminoglikozid molekülü birden fazla enzimin substratı olabildiği gibi, bir enzim bir çok farklı aminoglikozidi değiştirebilmektedir (14). Modifiye edilen aminoglikozidler, hedefleri olan ribozomlara bağlanamamakta ve etki gösterememektedir. Aminoglikozid antibiyotikleri modifiye eden enzimlerin dağılımı hastaneden hastaneye değişmektedir. Bu da antibiyotik kullanımı sonucu oluşan seleksiyon baskısı ile farklı enzimlerin daha yaygın oluşuna bağlanmaktadır (12). Türkiye'de 1996 yılında yapılan çok merkezli bir çalışmada, *Klebsiella* spp., *E. coli* ve *Enterobacter* spp.'de en sık bulunan 5 enzim ve direnç oluşturdıkları aminoglikozidlerin, ANT(2'')-I (gentamisin-tobramisin), AAC(3)-II (gentamisin-tobramisin-netilmisin), AAC(6')-I (tobramisin-netilmisin-amikasin), AAC(6')-IV (gentamisin-tobramisin-netilmisin-amikasin) ve AAC(6')-III (tobramisin-netilmisin-amikasin-izepamisin) olduğu belirlenmiş ve bu enzimlerin birkaçının aynı bakteride bulunabildiği gözlenmiştir. Bu da, ülkemizde özellikle hastane izolatlarının aminoglikozid grubu antibiyotiklere karşı gösterdiği direnç paternini açıklamaktadır (15).

KİNOLON GRUBU ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ

Kinolonlar bakterilerde DNA replikasyonu için gerekli olan iki tip topoizomeraz; DNA giraz

ve topoizomeraz IV ile etkileşime girmekte ve DNA sentezini durdurmaktadır. DNA giraz, iki GyrA ve iki GyrB alt biriminden oluşur. Topoizomeraz IV de, DNA girazdakine homolog olan iki alt birimden (ParC ve ParE) oluşmaktadır. Topoizomeraz IV, DNA replikasyonunun sonunda yavru kromozomların yeni hücrelere geçişini sağlar. Bu iki enzimin fizyolojik rolleri daha çok *E. coli* ve *Staphylococcus aureus*'da çalışılmıştır. Buna göre, florokinolonların gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerde enzim hedefleri farklıdır. *E. coli*'de DNA giraz, *S. aureus*'da ise topoizomeraz IV birincil hedeftir (16).

Hedef Enzimde Değişikliğe Bağlı Direnç

Bugüne değin incelenen gram-negatif bakterilerde yüksek-düzeyde kinolon direncinin daha çok GyrA'daki değişikliklere bağlı olduğu saptanmıştır. *E. coli*'de direnç mutasyonları GyrA'nın amino terminalinde kinolon-direncini-belirleyen bölge (QRDR) olarak tanımlanan 67. ve 106. aminoasitler arasında oluşmaktadır. Bunun sonucunda enzimin kinolona bağlandığı bölgede değişim oluşmakta ve enzim-DNA kompleksinin ilaca afinitesi azalmaktadır. Sadece GyrB'deki mutasyonlara bağlı direnç düşük düzeydedir. Gram-negatif bakterilerde ParC veya ParE mutasyonları, GyrA mutasyonu var ise gözlenmektedir. Kinolonlara karşı basamak tarzında gelişen direnç, önce birincil, sonra ikincil hedefteki mutasyonlara bağlıdır. ParC mutasyonları *E. coli* ve *K. pneumoniae*'nin yüksek düzeyde dirençli mutantlarında gösterilmiştir (16).

İlacın Hücreye Girişinin Azalması

Kinolonlar gram-negatif bakterilere dış membrandaki porinlerden girmektedir. Mutasyonlar ile dış membran porinlerinin azalması sonucu kinolonlara karşı direnç oluşmaktadır. Buna karşın son yıllarda bu tip dirençte porinlerdeki azalma ile birlikte enerji gerektiren pompa sistemlerinin gerekli olduğu anlaşılmıştır. Bu sistemlerden en fazla incelenmiş olanları, *E. coli*'nin çoğul antibiyotik dirençli (Mar) mutantları ve *P. aeruginosa*'daki pompa sistemleridir (16). *E. coli*'nin antibiyotiklere çoğul dirençli (multiply-antibiotic-resistant) Mar mutantları tetrasiklin, klozampfenikol, penisilinler, sefalosporinler, puromis, nalidiksik asit, rifampin ve florokinolonlara dirençlidir(16,17). Bu mutantlarda bir transkripsiyon aktivatörü olan MarA'nın ifadesi artmakta, bu da sonuçta OmpF'nin miktarında azalmaya yol açmaktadır. Sadece OmpF azalmasının di-

renç için yeterli olmayıp enerjiye bağımlı bir pompa sisteminin de bulunduğu gösterilmiştir. Bu da AcrAB membran efluks pompasıdır. Bu pompanın *E. coli*'nin beta-laktamlara direncinde de etkili olduğu saptanmıştır (18). *E. coli*'deki efluks pompasından başka *K. pneumoniae*'de RamA, *Proteus vulgaris*'de PqrA'nın çoğul antibiyotik direncinde etkisi olduğu gösterilmiştir (16).

Bugüne değin kinolonları enzimatik olarak inaktive eden bir enzim saptanmamıştır. Plazmid kontrolünde direnç ise ilk kez *K. pneumoniae*'nin klinik izolatlarında bildirilmiş ve duyarlı *K. pneumoniae* ve *E. coli*'lere çoğul direnç plazmidini ile geçtiği gösterilmiştir. Bu direncin mekanizması henüz açıklık kazanmamıştır (16,19).

SONUÇ

Bakterilerde antibiyotiklere çoğul direnç genellikle farklı direnç determinantlarını içeren transpozon ve plazmidlerin alınması sonucu oluşmaktadır. Buna karşın, son yıllarda efluks pompaları veya mar gibi kromozomal düzenleyici proteinler yoluyla oluşan çoğul antibiyotik direnci de tanımlanmıştır. Antibiyotiklere çoğul dirençli mikroorganizmalar ile kolonizasyon veya enfeksiyon, antibiyotik kullanımı ile doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle antibiyotik kullanımında titiz davranılmalı ve tedavide ilaç seçimine hastane izolatlarının direnç paternine dayanarak karar verilmelidir.

KAYNAKLAR

1. French GL, Phillips I. Antimicrobial resistance in hospital flora and nosocomial infections in Mayhall CG (ed). Hospital Epidemiology and Infection Control. 2nd ed, 1999 (www.mayhallbook.icanprevent.com).
2. Spencer RC, Bauernfeind A, Garcia-Rodriguez J, et al. Surveillance of the current resistance of nosocomial pathogens to antibacterials. Clin Microbiol Infect 1997;3(Suppl 1):21-35.
3. Bergogne-Bérézin E, Decré D, Joly-Guillou ML. Opportunistic nosocomial multiply resistant bacterial infections-their treatment and prevention. J Antimicrob Chemother 1993;32(SupplA):39-47.
4. Günseren F, Mamikoğlu L, Öztürk S, et al. A surveillance study of antimicrobial resistance of gram-negative bacteria isolated from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J Antimicrob Chemother 1999;43:373-8.
5. Yücesoy M, Yuluğ N, Kocagöz S, Ünal S, Çetin S, Çalangu S and Study Group. Antimicrobial resistance of gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: Comparison to previous three years. J Chemother 2000;12:294-8.
6. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995;8(4):557-84.
7. Nicolas-Chanoine MH. Inhibitor-resistant beta-lactamases. J Antimicrob Chemother 1997;40:1-3.
8. Patterson JE, Hardin TC, Kelly CA, Garcia RC, Jorgensen JH. Association of antibiotic utilization measures and control of multiple-drug resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Infect Control Hosp Epidemiol 2000;21:455-8.
9. Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of extended spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. J Antimicrob Chemother 1996;38:409-24.
10. 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.
11. Gür D, Gültekin M, Ögünç D, et al. Comparative in vitro activity of piperacillin-tazobactam against gram-negative nosocomial pathogens. 21st International Congress of Chemotherapy, Poster no 149. 4-7 July, 1999, Birmingham, UK.
12. Opal SM, Mayer KH, Medeiros AA. Mechanisms of bacterial antibiotic resistance. In: Mandell, Bennett, Dolin (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed, Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000:236-53.
13. Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev 1993;57:138-63.
14. Amyes SGB, Gemmell CG. Antibiotic resistance in bacteria. J Med Microbiol 1992;36:4-29.
15. Över U, Gür D, Ünal S, Miller GH ve Aminoglikozid Direnci Çalışma Grubu. Gram-negatif bakterilerde aminoglikozid antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları: Son gelişmeler ve Türkiye sonuçları. Flora 2000;3:168-78.
16. Hooper DC. Mechanisms of fluoroquinolones. Drug resistance Updates 1999;2:38-55.
17. Alekshun MN, Levy SB. Regulation of chromosomally mediated multiple antibiotic resistance: the mar regulon. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2067-75.
18. Mazzariol A, Cornaglia G, Nikaido H. Contributions of the AmpC beta-lactamase and the AcrAB multidrug efflux system in intrinsic resistance of *Escherichia coli* K-12 to beta-lactams. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:1387-90.
19. Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet 1998;351:797-9.

YAZIŞMA ADRESİ:

Doç. Dr. Deniz GÜR
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı Enstitüsü
ANKARA