

Antibiyotik Direnci

Necdet Kuyucu

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Hastalıkları Anabilim Dalı,
Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı, Mersin, Türkiye

Özet

Bakteriyel enfeksiyonların tedavisi bakterilerin antibiyotiklere direnç geliştirebilme yetenekleri nedeniyle gittikçe daha komplike olmaya başlamıştır. Bakteriler interensek olarak bir veya daha fazla antibiyotiğe dirençli olabilir ya da yeni mutasyonlar veya diğer organizmalardan direnç genlerini kazanması ile sonradan dirençli hale gelebilir. Kazanılan direnç genleri bakteriyeye antibakteriyel ilaçları yıkan enzimleri üretme, ilacın intraselüler hedefine ulaşmayı engelleyen effluks sistemini geliştirme, ilacın hedef yerinde modifikasyon yapma veya ilacın etkisini bypass eden alternatif metabolik yol üretebilme yeteneği kazandırabilir. Antibiyotiğe dirençli bakteriden antibiyotiğe duyarlı bakterilere yeni genetik materyalin geçişi konjugasyon, transformasyon veya transduksiyon yolu ile konakçı genomuna veya plazmide multipl dirençli genlerin inkorporasyonunu sağlayan transposonlar aracılığıyla gerçekleşir. (*Çocuk Enf Derg* 2007; 1: Özel Sayı 1; 33-8)

Anahtar kelimeler: Bakteriyel direnç, antibiyotik, plazmid, transpozon

Summary

The treatment of bacterial infections is increasingly complicated by the ability of bacteria to develop resistance to antimicrobial agents. Bacteria may be intrinsically resistant to \geq class of antimicrobial agents, or may acquire resistance by de novo mutation or via the acquisition of resistance genes from other organisms. Acquired resistance genes may enable a bacterium to produce enzymes that destroy the antibacterial drug, to express efflux systems that prevent the drug from reaching its intracellular target, to modify the drug's target site, or to produce an alternative metabolic pathway that bypasses the action of the drug. Acquisition of new genetic material by antimicrobial-susceptible bacteria from resistant strains of bacteria may occur through conjugation, transformation, or transduction, with transposons often facilitating the incorporation of the multiple resistance genes into the host's genome or plasmids. (*J Pediatr Inf* 2007; 1: Suppl 1; 33-8)

Key words: Bacterial resistance, antibiotics, plasmids, transposons

Tarih boyunca insanlar ve enfeksiyon veya hastalığa sebep olan çok sayıda mikroorganizma arasında sürekli bir savaş olmuştur. Veba, tüberküloz, malarya ve son zamanlarda HIV/AIDS pandemisi insan topluluklarında önemli sayıda kişiyi etkileyerek anlamlı ölçüde morbidite ve mortaliteye sebep olmuştur. 20. yy ortalarında antibakteriyel ilaçlarla ilgili gelişmeler ve enfeksiyon kontrolünde yardımcı olan diğer araçların katkısı ile bu savaş insanların lehine dönmüştür. Bakteriyel enfeksiyonlar açısından 1940'ların başlarında penisilin bulunması durumu dramatik olarak düzeltmiştir. Ancak bu iyilik hali kısa süreli olmuştur. Antibakteriyel ajanların yaygın kullanılmaya başlanmasından hemen sonra bakteri çeşitli direnç formları ile karşılık vermiştir. Antimikrobisidallerin kullanımı artık

çok bakteriyel patojenler tarafından ortaya konan direnç mekanizmaları daha da artmış ve karmaşık bir hal almıştır. Bununla birlikte insanların enfeksiyonlara karşı galip gelme çabası bu güne kadar devam etmiştir. Günümüzde yeni antibakteriyel ajan geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar azalmakla birlikte bakterilerin çok daha zekice direnç geliştirme çabaları devam etmektedir (1).

Antibiyotik Direncinin Moleküler Genetiği

Genetik değişiklik mikrobiyal evrimin olabilmesi için esastır. Bir mikroorganizmanın yeterliliği çevresel şartlardaki değişikliklere adapte olabilme kapasitesine bağlıdır. Antimikrobiyal ajanlar kendilerine direnç geliştirme yeteneği

Yazışma Adresi

Correspondence Address

Dr. Necdet Kuyucu
Mersin Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları Anabilim Dalı,
Çocuk Enfeksiyon
Hastalıkları Bilim Dalı
Mersin, Türkiye
Tel.: +90 324 337 43 00
Faks: +90 324 337 43 05
E-posta:
nkuyucu@mersin.edu.tr

olan bakteri toplulukları üzerinde kuvvetli seçici bir baskı uygularlar. Genetik değişkenlik çeşitli mekanizmalarla meydana gelebilir. Küçük evrimsel değişiklik olarak tanımlanan nokta mutasyonları bir nükleotid baz çiftinde meydana gelebilir. Bu mutasyonlar antimikrobiyal ajanın aktivitesini engelleyecek hedef bağlanma yerlerini değiştirebilir. Eski β -laktamaz genlerinin (ör., TEM-1, SHV-1) kritik lokalizasyonlarındaki nokta mutasyonları yeni tanımlanan geniş spektrumlu β -laktamazların gelişiminden sorumlu olabilir (2).

Bakterilerde görülebilen diğer bir genetik değişiklik büyük bir DNA segmentinin yeniden düzenlenmesidir. Bakteri kromozomunun veya plazmidinin bir lokalizasyonundan büyük bir DNA segmentinin bir diğer yere inversiyon, duplikasyon, insersion, delesyon veya transpozisyon ile taşınarak yeniden düzenlenme gerçekleşebilir. Bakteri genomundaki büyük bir segment de gerçekleşen bu yeniden düzenlenme bakteri genomunun kalan kısmından bağımsız olarak hareket edebilen transposon'lar veya insertion dizilimleri olarak bilinen spesifik genetik elementler aracılığı ile gerçekleşir (3).

Bakterilerdeki diğer bir değişiklik plazmidler, bakteriofajlar, yalın DNA dizilimleri veya transpoze edilebilir genetik elementler aracılığı ile gerçekleşen yabancı bir DNA segmentinin kazanılmasıdır. Ekstrakromozomal elementlerden yabancı DNA'nın kazanılması antimikrobiyal ajanlara maruz kalma sonucu ortaya çıkan seçici baskının üstesinden gelmede organizmanın yeteneğine katkıda bulunur. Bu mekanizmalarla her hangi bir antimikrobiyal ajana direnç gelişebilir (ör., vancomycin-dirençli *Staphylococcus aureus*, çok ilaca dirençli *Yersinia pestis*, ve transfer edilebilir kinolon direnci). Antibiyotik direnç (R) geni bir kez geliştikten sonra bu direnç transformasyon, transduksiyon, konjugasyon veya transpozisyon ile bakteriler arasında yayılır (4).

Plasmidler

Plasmidler 4-400 kilobazlık sirküler yapıda, çift sarmallı DNA içeren ekstrakromozomal genetik elementlerdir. Bağımsız ve kendi kendilerine çoğalabilirler. Replikasyon için bir orijine ve konakçı bakteri içinde devalı kalabilmesini kolaylaştıracak genlere ihtiyaçları vardır. Bazı plasmidler özellikle büyük olanlar konjugatiftir (R plasmidler). Konjugatif plasmidler ayrıca kendilerinin transferini sağlayacak ilave genlere de ihtiyaçları vardır. Bazı küçük plasmidler birlikte var olduğu konjugatif plazmidin konjugasyon aparatını kullanarak kendi transferlerini sağlayabilirler. Bir bakteride spesifik bir plazmidin birden fazla kopyası olabileceği gibi farklı birden fazla plasmid de aynı bakteride olabilir. Ancak bir biri ile yakın ilişkisi olan plasmidler sıklıkla aynı bakteride olmazlar. Plasmidler bakterilere antibiyotik direnci yanında bakterinin virülansını ve metabolik kapasitesini değiştirebilecek fonksiyonlarda kazandırabilirler (5).

Plasmidler antibiyotik direncinin hızla yayılmasına yol açabilirler. Bu yayılımı birkaç yolla yapabilirler. Spesifik bir organizmanın tek bir klonu mutasyon veya dirençli bir plazmidin kazanılması ile dirençli hale gelebilir. Meydana gelen bu dirençli organizma spesifik yerlere özellikle iyi

adapte olabilmelerini sağlayan genlere sahiptir ve böylece genişçe yayılabilme yeteneğindedir. Tek bir klon birden fazla veya rekürrent antibiyotik direnç salgınlarından sorumlu olabilir. Konjugatif plasmidler bir türden diğer bir türe transfer olabilirler ve daha önce hassas olan türlerde yeni antibiyotik direnci salgınlarının ortaya çıkmasına yol açabilirler. Plasmidlerdeki direnç genleri küçük mobil genetik elementler (transposonlar, integronlar, gen kasetleri gibi) içinde yerleşebilirler ve bazen direnç topluluğundaki diğer direnç genleri ile bağlantılı plasmidlere veya kromozomlara geçebilirler. Bu şekilde bir biri ile ilişkiz birden fazla ilaca karşı eş zamanlı direnç gelişebilir (çoklu ilaç direnci) (6).

Transpoze Edilebilir Genetik Elementler

Mobil genetik elementler aynı veya farklı kromozom veya plasmid de kromozomun bir yerinden diğer bir yere hareket edebilen elementlerdir. Transposon'lar (2-20 kb büyüklüğünde) ve insertion sequences (araya girebilen dizilimler 0.2-6 kb büyüklüğünde) olarak adlandırılan iki tip transpoze edilebilir genetik element vardır. Bu elementler otonom kendi kendilerine replike olamazlar, ancak kromozomla veya plasmidle birlikte replike olabilirler. Her ikisi de bağımsız bir ünit olarak yer değiştirebilirler. Hem insertion sequences hem de transposonlar kendi sınırlarında tersine dönmüş kısa DNA tekrarları içerirler. Tersine dönmüş tekrarlar, kromozom veya plasmidin transpozisyonu için gereklidir. Transpozisyon genellikle replikatiftir ve hedefin duplikasyonuna neden olur. Bazı transposonlar bir bakterideki kromozomdan bir diğerine direkt olarak geçebilir (konjugatif transposon). Konjugatif transposonlar gram pozitif bakterilerdeki kromozomal direncin transferinden sorumludur (7).

İntegronlar ve Mobil Gen Kasetleri

İntegronlar spesifik yere lokalize bir veya daha fazla direnç geni ve mobil elementlerdeki (gen kasetleri) direnç genlerini yakalayabilen, yere spesifik rekombinasyon sistemleri için bir gen içeren mobil genetik elementlerdir. İntegronlar farklı yapıya sahiptir ve plasmid veya transposonun bir parçası olabilir. Bir integron'un gerekli komponentleri yere spesifik rekombinasyon için gerekli enzimleri kodlayan 5' korunmuş segmentte bir int geni, bitişiğinde gen kasetleri için reseptör yeri ve gen kasetlerinin ekspresyonu için uygunca yönlendirilmiş bir promotör dir. En iyi bilinen integron familyası sulfonamid direncinden sorumlu dihidropteroate sentetazı kodlayan *sull* genidir. Gen kasetleri bir veya daha fazla gen ve her bir genin 3' ucunda 57-141 baz çiftlik integrase spesifik rekombinasyon yeri içerir. En azından bilinen 50 gen kaseti vardır. Gen kasetleri transposonların bir parçası olmalarına rağmen kendileri transposon değildir. Ters dönmüş tekrarları veya transpozisyon fonksiyonları yoktur. İntegronlar içindeki korunmuş kaset dizilimleri farklı plasmidlerdeki integronlar arasında kaset değişimine sebep olabilir. Böylece direnç genlerinin yayılmasında önemli rol oynarlar (7,8).

Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Bakterilerde enzimatik inaktivasyon, permeabilitenin azalması, antibiyotiğin aktif pompa sistemi ile dışarı çıkarılması (efflux), hedefin değişmesi, hedef bölgenin korunması, hedefin aşırı üretimi ve hedefin bypass edilmesi gibi en azından yedi farklı direnç mekanizması vardır (9).

1. Enzimatik İnhibisyon

β- Laktamaz: β-laktam antibiyotiklerine direnç esas olarak β-laktamaz üretimine bağlıdır. Enzim β-laktam halkasındaki amid bağının ayrılmasına yol açarak antibiyotiği inaktive eder. Bir çok β-laktamaz enzimi vardır ve ya kromozomal olarak yada plasmid veya transposonlarda lokalize transfer edilebilir genlerce kodlanır (10).

Amino asit ve nükleotid dizilimlerine göre evolusyonu farklı dört sınıf β-laktamaz tanımlanmıştır. Sınıf A; β-laktamazlar moleküler ağırlığı 29.000 civarındadır. Aktif bölgelerinde serin rezidülerine sahiptir ve tercihan penisilinleri hidrolize ederler (ör., gram negatif basillerde yaygın olarak bulunan TEM-1 β-laktamaz enzimi). Sınıf B; β-laktamaz aktivitesi için çinko bağlayan thiol grubuna gereksinimi olan metalloenzimlerdir. Sınıf C; shigella ve klebsiella türlerinde kromozomal olarak üretilen β-laktamazlarla büyük ölçüde dizilim benzerliği olan E.coli K-12'nin kromozomal AmpC geni tarafından belirlenen β-laktamazları içerir. Bu enzimler esas olarak sefalosporinaz aktivitesi gösteren moleküler ağırlığı 39.000 civarında olan büyük proteinlerdir. Aktif yerlerinde serin rezidülerine sahip olmakla birlikte sınıf A β-laktamazları ile çok az bir benzerlikleri vardır. C sınıfı β-laktamazların tersiyer yapıları penisilin bağlayıcı proteinlere (PBPs) dikkat çekici ölçüde benzerlik gösterirler. Sınıf D β-laktamazlar oksasilini hidrolize eden enzimlerdir (9).

Gram pozitif bakteriler arasında β-laktamaz üreten en önemli patojen stafilokoklardır. Stafilokokal β-laktamazlar tercihan penisilinleri hidrolize ederler. Çoğu induklenebilir ve ekstrasellüler olarak ekskrete edilebilir. Stafilokokal β-laktamazlar genellikle küçük plasmidlerle veya transposonlarla taşınır. Büyük plasmidlerin kodladığı β-laktamaz-

lar ve diğer dirençlerde vardır ve sadece *S. aureus* arasında değil *S. aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* arasında da konjugasyonla transfer edilir (11).

Enterokoklar plasmid aracılıklı β-laktamaz üretirler ve bu stafilokoklardan kaynaklanır. Bu genler sıklıkla yüksek düzeyde gentamisin direnci sağlayan genlerle birlikte bulunur (11).

Gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilerden çok daha fazla çeşitte β-laktamaz üretirler. Bu çeşitlilik nedeniyle birkaç klasifikasyon şemasının oluşumuna yol açmıştır. Bush, Jacoby ve Medeiros tarafından yapılan klasifikasyonda substrat profiline ve klavulanik aiti inhibe etmelerine göre β-laktamazlar gruplandırılmıştır (tablo 1) (12).

Geniş Spektrumlu β-Laktamazlar (GSBL)

Seftazidim ve sefotaksim 1983'de klinik kullanıma girmesinin hemen sonrasında *E.coli* ve *Klebsiella spp.* Direnç ortaya çıktı. Bu bakterilerde yeni β-laktamazlar bulundu. GSBL'ler bu bakterilerde penisilinaz salınımından sorumlu olan TEM-1 ve SHV-1 de tek bir amino asit değişikliği ile yeni sınıf antibiyotiklere direncin ilk örneğiydi. GSBL'ler β-laktamaz inhibitörleri ile inaktivasyona artmış bir duyarlılık gösterir ve sefamisinleri (sefoksitin ve sefotetan) ve karbapenemleri hidrolize edemezler. Henüz β-laktam+β-laktamaz inhibitörleri universal olarak GSBL salgılayan *E.coli* ve *Klebsiella spp.* etkili değildir. Buda bakterilerdeki genetik geçmişin kompleks olduğunu ve diğer β-laktamazları üreterek (şekizden fazla farklı β-laktamaz) β-laktamaz inhibitörlerinin etkinliğini azaltığını düşündürmektedir (13).

Kromozomal Genlerce Kodlanan β-laktamazlar

Gerçekte tüm gram negatif bakteriler bir miktar kromozomal olarak kodlanan β-laktamazlar salgırlar. Üretilen β-laktamazlar türler için ve bazen subtipler için spesifikdir. β-laktamaz aktivitesi özellikle ampisilin duyarlı tiplerde sıklıkla çok düşüktür. Ancak hem induksiyona hem de kromozom üzerindeki β-laktamaz geninin sayısındaki değişikliklere bağlı olarak bu enzimlerin aktiviteleri artabilir. İndüksiyonu regüle eden genlerdeki mutasyonlar yapı-

Tablo 1. β-laktamaz'ların Bush-Jacoby-Medeiros Fonksiyonel Klasifikasyon Şeması

Grup	Enzim tipi	Klavulanatla inhibisyon	Moleküler sınıfı	Enzim Sayısı	Örnekler
1	Sefalosporinaze	hayır	C	57	Enterobacter cloacae P99 (C), MIR-1 (P)
2a	Penisilinaze	evet	A	20	Bacillus cereus I, Staphylococcus aureus (B)
2b	Geniş spektrum	evet	A	16	SHV-1 (B), TEM-1 (P)
2be	Genişletilmiş spektrum	evet	A	81	Klebsiella oxytoca K1 (C), TEM-3 (P), SHV-2 (P)
2br	İnhibitör dirençli	azalmış	A	13	TEM-30 (IRT-2) (P)
2c	Karbesilinaze	evet	A	15	AER-1 (C), PSE-1 (P), CARB-3 (P)
2d	Kloksasilinaze	evet	D veya A	21	Streptomyces cacaoi (C), OXA-1 (P)
2e	Sefalosporinaze	evet	A	19	Proteus vulgaris (C), FEC-1 (P)
2f	Karbapenemaze	evet	A	3	IMI-1 (C), NMC-A (C), Sme-1 (C)
3	Karbapenemaze	hayır	B	15	Stenotrophomonas maltophilia L1 (C), IMP-1 (P)
4	Penisilinaze	hayır		7	Burkholderia cepacia (C), SAR-2 (P)
B- her ikisi,	C- kromozomal, P- plasmid				

sal olarak indüklenebilir β -laktamazların aşırı üretimine yol açabilir ve üçüncü jenerasyon sefalosporin alan hastalarda tedavi sırasında direnç ortaya çıkabilir. Bush grup 1'e ait kromozomal olarak kodlanan β -laktamazların çoğu sefalosporinleri hidrolize eder ve klavulanik asitin inhibisyonuna dirençlidir. Bu β -laktamazlar plasmidler tarafından kodlanan β -laktamazlara dirençli olan 3.jenerasyon β -laktamazların çoğunu inaktive eder (9).

K.pneumoniae'in çoğunda bulunan kromozomal β -laktamazlar hariç kromozomal olarak kodlanan β -laktamazların hemen hepsi plasmidler tarafından kodlanan β -laktamazlardan biokimyasal olarak farklıdır. Kromozomal genler bazen plasmidler içine inkorpore olabilir ve bu şekilde birçok β -laktama ve β -laktamaz inhibitörlerine direnç ortaya çıkabilir (14).

Aminoglikozid Direnci

Aerobik bakteriler arasında aminoglikozid direnci sıklıkla modifiye edici enzimlere bağlıdır. Bu enzimler plasmidler yada kromozomlar üzerindeki genlerle kodlanır. Transposonlarla taşınan enzimlerde vardır. Otuzdan fazla aminoglikozid modifiye edici enzim tanımlanmıştır. Bu enzimler üç genel reaksiyonu gerçekleştirebilme kapasitesindedir: N-acetylation, O-nucleotidylolation, and O-phosphorylation. Bu genel reaksiyonların her biri için spesifik amino ve hidroksil gruplarını atake edebilen birkaç farklı enzim vardır.

Enzimatik aminoglikozid direnci sitoplazmik membranı geçme sırasında antibiyotiğin modifiye edilmesi ile gerçekleşir. Farklı aminoglikozidlere direnç ilaç uptake hızına karşılık ilaç inaktivasyon hızındaki farklılığın sonucudur. Direnç seviyesini tespit eden önemli bir faktörde antibiyotiğe modifiye edici enzimin afinitesidir. Bir enzim bir aminoglikozid için yüksek afiniteye sahipse, ilacın inaktivasyonu çok düşük konsantrasyonlarda bile olur (9).

Son yıllarda plasmid aracılıklı aminoglikozid direncinde enterokoklar arasında belirgin bir artış vardır. Aminoglikozid modifiye edici enzimi taşıyan plasmidler heterojendir ve klinik etkileri sıklıkla birlikte taşınan β -laktamazlarla şiddetlenmektedir. Buda enterokok enfeksiyonlarında kombine tedavi kullanıldığında sinerjinin kaybolmasına neden olmaktadır. *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis* de artan sıklıkta aminoglikozidlere direnç gelişmeye başlamıştır. Buda plasmid aracılıklı aminoglikozid modifiye edici enzimlerin türler arası ve türler içinde yayılmasına bağlıdır (9).

Kloramfenikol Direncinden Sorumlu Enzim

Gram pozitif ve gram negatif organizmalarda kloramfenikol direnci kloramfenikol asetiltransferase olarak bilinen enzim tarafından gerçekleştirilir. 3-O-acetylation ile ilacı inaktive eden intrasölüler bir enzimdir ve plasmidlerce taşınır veya kromozomal olarak kodlanır. Bu enzimin aktif bölgelerinde benzerlik olmasına rağmen gram pozitif ve gram negatif organizmalarda izole edilen enzim arasında önemli farklılıklar vardır (9).

Makrolid, Lincosamid, Streptogramin (MLS) İnaktive Eden Enzim

Eritromisin ve diğer makrolidlerde direnç sıklıklaribozomal hedef bölgesindeki değişikliğe veya efflux pompasına bağlı olarak gelişmesine rağmen son zamanlarda ilacı inaktive eden enzimde tanımlanmıştır. Eritromisin este-

rase ilaçlardaki lakton halkasını hidrolize ederek inaktive edebilmektedir. Bu plasmid aracılıklı direnç yüksek düzeyde eritromisin direncinden sorumludur. Bu enzim dışında bu gruptaki ilaçları inaktive eden yine plasmid aracılıklı başka enzimlerde tanımlanmıştır (9).

2. Permeabilitesi

Beta-laktamlara bakteri direncinde permeabilitenin rolü gram negatif organizmalarda önemlidir. Gram pozitif bakterilerde diffüz kapsüler materyal ve kafes tarzındaki peptidoglikan tabakalar β -laktam antibiyotiklerinin girişine yapışal bir engel oluşturmaz. Bu nedenle antibiyotiğin aktivitesi penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanmasına ve β -laktamazlara karşı stabilitesine bağlıdır. Gram negatif bakterilerin ayırt ettirici özelliği bir zar ve kovalen bağlarla birbirine bağlı peptidoglikandan oluşan dış membrandır. Yapısal olarak iç yaprakçıkta fosfolipidleri içeren proteinden zengin asimetrik lipit çift kat ve dış yaprakçıkta lipopolisakaritlerden oluşur. Fonksiyonel olarak bu dış membran içi su dolu kanallar içeren moleküller bir elektir (Porinler) ve β -laktam gibi küçük hidrofilitik molekülleri bu kanallar vasıtasıyla organizma içine girer. *E.coli* K12'nin dış membranı OmpC ve OmpF adlandırılan iki porine sahiptir (15). Dış membran permeabilitesinde azalma genellikle β -laktamin enzimatik hidrolizi ile birlikte olur ve direnç gelişir. Dış membran aracılığı ile antibiyotiğin difüzyon hızı sadece porin kanallarının sayısı ve özelliklerine göre değil aynı zamanda antibiyotiğin fizikokimyasal özelliklerinin de fonksiyonudur. Genel olarak büyük antibiyotik molekülleri, daha fazla negatif yük taşıyanlar ve hidrofobisite derecesi büyük olanlar fizikokimyasal özellikleri böyle olmayanlara göre daha güç veya az penetre olurlar.

Bazı spesifik porinler mutasyonlar sonucunda kaybolarak antibiyotik direnci gelişebilir. Özellikle tedavi sırasında aminoglikozid ve karbapenemlere direnç gelişimi porin kaybı sonucu gelişebilir. İmipenem dirençli *P.aeruginosa* kromozomal β -laktamaz aktivitesi ve spesifik giriş kanallarının (D2 porin) kaybı arasındaki etkileşime bağlı olarak ortaya çıkar (16).

Nalidiksik asit ve diğer kinolonlara, *S.marcescens* ve *P.aeruginosa*'larda direnç gelişmesi dış membrandaki porinlerde değişme sonucu gelişmektedir. Yine aynı mekanizma ile plasmid aracılıklı kloramfenikol dirençli *E.coli*'lerde direnç tanımlanmıştır (17).

Antibiyotiklerin özellikle aminoglikozidlerin dış membranı geçtikten sonra sitoplazmik membrandan da (iç membran) geçmesi gerekir. Bu geçiş enerji gerektirir ve proton motive edici güçlerle gerçekleştirilir. Proton motive edici güçte değişme ile birlikte aminoglikozidlere uzun süreli tedavi esnasında geri dönüşümlü direnç gelişebilir. *E.coli*, *S.aureus* ve *salmonella* spp. Defektif elektron transport sistemleri neticesinde gelişen direnç tanımlanmıştır (9).

3. Antibiyotiğin Aktif Pompa Sistemi İle Dışarı Çıkarılması (Efflux)

Antimikrobiyal ajanların aktif effluksu birçok patojende gittikçe artan sıklıkta dirençten sorumlu mekanizma olarak tanımlanmaktadır. *E.coli*, *Shigella* ve diğer enterik organizmaların bazı suşları ilaç effluksu ile çoklu ilaç direncine yol açan membran transporter sistemi ekspresse

ederler. Bu organizmaların çoğu farklı sınıftaki antibiyotiklerin aktif effluksuna yol açan çok komponentli, düzenli, enerji bağımlı transporter sistemine sahiptir. Gram negatif organizmalardaki tetrasiklin direncinden sıklıkla bu mekanizma sorumludur. Tetrasiklinin organizma içinde birikmesindeki azalmasından hücre membranına karşı antibiyotiğin aktif effluksu sorumludur. Bu direnç belirleyicileri kromosomlarda veya plasmidlerde bulunabilir, ancak sıklıkla transpoze edilebilir genetik elementler içindedir (9).

S.pneumoniae, *S.pyogenes*, *S.aureus* ve *S.epidermidis* bazı suşları makrolid, streptograminler ve azalidlere karşı dirençten sorumlu mekanizma aktif effluksdur. Bu effluks mekanizması streptokoklarda mef, stafilokoklarda msr genince yürütülür. Benzer effluks sistemi grup B streptokoklarda mreA olarak adlandırılan gen tarafından kodlanır (18,19).

Aktif effluks mekanizması *P.aeruginosa* β-laktam direncinin tam gelişimine de katkıda bulunur (20). Enterik bakterilerde ve stafilokoklarda kinolanların aktif effluksu tespit edilmiştir. Bu effluks birden fazla antibiyotik direnç transporter (ör., norA) veya spesifik kinolon effluks pompası (ör., EmrAB, AcrAB) ile ilişkilidir (9).

4. Hedef Bölgelerinde Değişme

Tetrasiklinler, makrolidler, linkosamidler ve aminoglikozidler içeren birden fazla antimikrobial ajan grubunda direnç ribosomal bağlanma yerlerindeki değişme sonucudur. Antibiyotiğin ribosomlar üzerindeki hedef bölgelere bağlanmadaki yetersizliği protein sentezini ve hücre büyümesini inhibe etmedeki yersizliğe yol açar. MLS'ler için bu aerobik ve anaerobik gram pozitif organizmalar arasında birden fazla ajana direncin esas mekanizmasıdır. Bu direnç belirleyicileri farklı sınıflar için kromozomlar veya plasmidler üzerinde lokalizedir. Tetrasiklin direnci, tetrasiklinlerin ribosomlara bağlanmasına engel olan tetM geni aracılığıyla gerçekleşir. tetM belirleyicileri gram pozitif, Mikoplazma, Neisseria, ureaplasma, Camplobacter türlerinde bulunur (9).

Ribosomların 30S subünitinin S12 proteininde mutasyon sonucunda streptomisin ribosoma bağlanması engellenir. Özellikle bu enterokoklardaki streptomisin direncinden sorumludur. Ribosomal direnç diğer aminoglikozidlerde seyrek olur. Ancak birden fazla mutasyon sonucunda gelişebilir (9).

5. Hücre Duvarındaki Prekürsör Hedeflerde Değişme

Glikopeptid antibiyotikler peptidoglikan prekürsörlerinin terminal ucunda bulunan D-alanin-D-alanine bağlanır. Büyük glikopeptid molekülleri hücre duvarı içinde bu bağlanma ile prekürsörlerin birleşmesini önler. Enterokoklardaki vankomisin direnci genotip, hedef bölgedeki değişikliğin tipine, vankomisin direnç seviyesine ve teikoplanine duyarlı yada dirençli olması bazında A'dan G'ye kadar sınıflandırılır. A sınıfı direnç *E.faecium* ve *E.faecalis* suşlarında yüksek düzeyde vankomisin ve teikoplanin direncini tanımlar. Plasmid üzerindeki vanA geni kodlar ve konjugasyonla diğer gram pozitif bakterilere aktarılabilir. B sınıfı direnç yüksek seviyeli vankomisin direncini ve teikoplanin duyarlılığını tanımlar. vanB geni diğer enterokoklara konjugasyonla kendini transfer edebilir. C sınıfı direnç *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus* ve *E. flavescens* 'in tüm izolatlarında yüksek

düzenli vankomisin direncini ve teikoplanin duyarlılığını tanımlar. vanC1, vanC2 ve vanC3 olarak bilinen kromozomal genler tarafından kodlanır. vanE ve vanG olarak bilinen diğer genler değişik seviyelerde glikopeptid direnci ile birlikte diğer enterokok türlerinde bulunmuştur (21-23).

1987'den bu yana ABD ve Japonya'dan vankomisin dirençli *S.epidermitis*, *S.haemolyticus* ve *S.aureus* salgınları bildirilmektedir. Bu direnç paterni heterojendir ve tam anlamıyla anlaşılmamıştır (24).

6. Hedef Enzimlerde Değişme

Beta laktam antibiyotikler sitoplazmik membrandaki PBP'lere kovalanmış bağ ile bağlanarak bakteriyi inhibe eder. Bu hedef proteinler bakteri hücre duvarı formunda peptidoglikan sentezini katalize eder. PBP'lerde değişme β-laktam antibiyotik direncine yol açabilir. β-laktam antibiyotiklere gram pozitif bakteri direnci hem antibiyotiğin PBP'lere olan affinitesinde azalma hem de bakteri tarafından üretilen PBP miktarında değişme sonucu gelişir. *S.pneumoniae*'nin penisilin dirençli suşlarında PBP'lerde çeşitli değişiklikler (bazı PBP'lerin affinitesinde azalma, Bazı PBP kaybı ve yeni PBP'lerin ortaya çıkması gibi) tanımlanmıştır. *S.aureus* ve *E.faecium* yeni PBP'lerin ortaya çıkmasını indükleyebilir. İndüklenebilir PBP'lerin penisilinlere düşük affinitesi vardır. Benzer direnç *N. gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, ve *H. influenzae* suşlarında da tanımlanmıştır (25,26).

Kinolonlarla ilişkili olarak DNA gyrase ve topoisomerase IV enzimlerini kodlayan gyr A ve gryB genlerinde görülen nokta mutasyonları sonucu hücre duvar permeabilitesinde azalma, effluks ve enzim koruma mekanizmaları ile özellikle enterik bakterilerde çoklu direnç gelişimi gözlenmiştir (27).

7. Antibiyotik İnhibisyonunun Baypas'ı

Spesifik antibiyotiklere bir diğer direnç gelişme mekanizması orijinal suştan farklı olarak büyüme faktör gereksinimleri farklı olan yeni suşların ortaya çıkması sonucu gelişir. Bu mutantlar normalde hedef enzimler tarafından sentez edilen substratlara ihtiyaçları vardır. Eğer çevrede bu substrat varsa, organizma sentez yapan enzimin inhibisyonuna rağmen çoğalır. Bu mekanizma ile sulfonamidlere ve trimetopirime yüksek düzeyde direnç gelişebileceği tanımlanmıştır (9).

Kaynaklar

1. Krause RM. The origin of plagues: old and new. *Science* 1992;257:1073-8.
2. Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997;24:19-45.
3. Gold HS, Moellering RC, Jr. Antimicrobial-drug resistance. *N Engl J Med* 1996;335:1445-53.
4. Lupski JR. Molecular mechanisms for transposition of drug-resistance genes and other movable genetic elements. *Rev Infect Dis* 1987;9:357-368.
5. Thompson R. R plasmid transfer. *J Antimicrob Chemother* 1986;18(Suppl C):13-23.
6. Courvalin P. Transfer of antibiotic resistance genes between gram-positive and gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:1447-51.
7. Georgopapadakou N. Mechanisms of antibiotic resistance. In: Long SS, Pickering LK, Prober CG, eds. *Principles and Practice of Pediatrics Infectious Diseases*, 2nd ed, Churchill Livingstone, Philadelphia 2003:1432-42.

8. Collis CM, Hall RM. Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:155-62.
9. Opal SM, Medeiros AA. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6. ed, Churchill Livingstone, USA 2005:253-70.
10. Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997;24:19-45.
11. Zscheck KK, Murray BE. Genes involved in the regulation of beta-lactamase production in enterococci and staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1966-70.
12. Bush K, Jacoby GA, Madeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1211-33.
13. Babic M, Hujer AM, Bonomo RA. What's new in antibiotic resistance? Focus on beta lactamases. *Drug Resis Updates* 2006;9:142-56.
14. Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA. Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alphamethoxy-beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34:2200-9.
15. Nikaido H. Role of permeability barriers in resistance to β -lactam antibiotics. *Pharmacol Ther* 1985;27:197-231.
16. Livermore DM. Interplay of impermeability and chromosomal beta-lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2046-8.
17. Sanders CC, Sanders WE, Jr, Goering RV, Werner V. Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones, beta-lactams, and aminoglycosides with special reference to cross-resistance between unrelated drug classes. *Antimicrob Agents Chemother* 1984;26:797-801.
18. Sutcliffe J, Tait-Kamradt A, Wandrack L. *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolid but sensitive to clindamycin; a common resistance pattern made by an efflux system. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1817-1824.
19. Clancy J, Dib-Hajj F, Petitpas JW, Yuan W. Cloning and characterization of a novel macrolide efflux gene, *mreA*, from *Streptococcus agalactiae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2719-23.
20. Srikumar R, Li XZ, Poole K. Inner membrane efflux components are responsible for beta-lactam specificity of multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 1997;179:7875-81.
21. LeClercq R, Dutka-Malen S, Brissonnoel A, et al. Resistance of enterococci to aminoglycosides and glycopeptides. *Clin Infect Dis* 1992;15:495-501.
22. Quintiliani R, Evers S, Courvalin P. The *vanB* gene confers various levels of self-transferable resistance to vancomycin in enterococci. *J Infect Dis* 1993;167:1220-3.
23. LeClercq R, Dutka-Malen S, Duval J, Courvalin P. Vancomycin resistance gene *vanC* is specific to *Enterococcus gallinarum*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2005-8.
24. Center for Disease Control and Prevention. Reduced susceptibility of *S.aureus* to vancomycin -japan, 1996. *MMWR* 1997;46:624-35.
25. Farber BF, Eliopoulos GM, Ward JI, et al. Multiply resistant viridans streptococci: Susceptibility to beta-lactam antibiotics and comparison of penicillin-binding protein patterns. *Antimicrob Agents Chemother* 1977;3(Suppl C):47-51.
26. Mendelman PM, Chaffin DO, Kalaitzoglou G. Penicillin-binding proteins and ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae*. *J Antimicrob Chemother* 1990;25:525-34.
27. Nakamura S, Nakamura M, Kojima T, Yoshida H. *gyrA* and *gyrB* mutations in quinolone-resistant strains of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:254-5.