

BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERE KARŞI OLUŞAN DİRENÇ MEKANİZMALARI

Dr. Birdal YORGANCIGİL *

Beta-laktam antibiyotikler günümüzde en sık kullanılan antibiyotik türevlerinin başında gelir. Bu antibiyotikler "penisiline bağlanan proteinler" (PBP) adı verilen enzimler üzerinde etki göstererek bakterilerin hücre duvar sentezini inhibe eder. Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç PBP'de oluşan değişiklikler ile, beta-laktamaz enzimleri ile ve permeabiliteye bağlı olarak gelişebilir. Klinikte en sık karşılaşılan direnç beta-laktamaz enzimleri yoluyla olur. Beta-laktamaz enzimleri dört grup altında incelenirler.

Direncin kontrol altına alınabilmesi için, var olan antimikrobiyal bileşikler dikkatli kullanılmalıdır. Bu yüzden, antibiyotik kullanımının uygun süre ve dozlarda olduğu denetlenmelidir. Her hastanede enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve antibiyotik kullanım komitelerinin kurulması gereklidir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotikler, beta-laktam, direnç

* Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
ISPARTA

Resistance mechanisms against beta-lactam antibiotics

Beta-lactam antibiotics are widely used. They inhibit the cell wall synthesis of bacteria by acting on the enzymes called "penicillin binding proteins". In bacteria, resistance against beta-lactam antibiotics develops by three distinct mechanisms; resistance due to the changes in penicillin binding proteins, beta-lactamase enzymes and resistance due to permeability. Resistance mediated by beta-lactamase enzymes are clinically the most frequent mechanism. Beta-lactamase enzymes are studied in four groups.

Current antimicrobial agents should be used with due precautions for the control of resistance. Thus, antibiotic use must be in restraint from the viewpoint of duration and dosage. Necessary precautions for the prevention of infections should be taken and "antibiotic control committees" should be established in each hospital.

Key words: Antibiotics, beta-lactams, resistance

Yazışma Adresi:

Dr. Birdal YORGANCIGİL
PK: 90
32000 ISPARTA

Tel:246 232 6657
Fax:246 232 9422
e-mail: biryor@hotmail.com
+ Bu çalışma KLİMİK (Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları) Derneği tarafından 20 Haziran 1998 de Isparta da düzenlenen "Hastane Enfeksiyonları"

Beta-laktam antibiyotikler günümüzde en sık kullanılan antibiyotik türlerinin başında gelir. Çok yaygın olarak kullanılmalarının sonucu olarak da beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç giderek artmaktadır. Beta-laktam antibiyotikler "penisiline bağlanan proteinler" (PBP) adı verilen enzimler üzerinde etki göstererek bakterilerin hücre duvar sentezini inhibe ederler.

Bakterilerde beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç PBP'de oluşan değişiklikler ile, beta-laktamaz enzimleri yoluyla ve permeabiliteye bağlı olarak gelişir.^{1,2,3}

1. PBP'de oluşan değişiklikler ile gelişen direnç: Bu direnç kromozomal mutasyonlar sonucunda ortaya çıkar. Bu ya PBP'nin beta-laktam antibiyotiğe afinitesinin azalması yolu ile, ya PBP sayısında azalma olması veya beta-laktam antibiyotiklere düşük afinite gösteren yeni PBP'in sentezlenmesi yoluyla olur.²

Bakterilerde iki grup PBP belirlenmiştir. Birincisi, düşük molekül ağırlıklı PBP (DD-karboksipeptidazlar), ikincisi de yüksek molekül ağırlıklı PBP'dir (transpeptidaz ve transglikolizazlar).⁴ Yüksek molekül ağırlıklı PBP'deki değişikliğe bağlı oluşan penisilin direnci Gram olumsuzlarda Gram olumsuzlardan daha fazladır.¹

Gram olumlu koklarda PBP modifikasyonu ve by-pass edilmesi en önemli direnç mekanizmalarıdır.⁵ Gram olumlu koklardan özellikle *Staphylococcus aureus*'da gözlenmiş olan metisilin direnci klinikte son derece önem taşımaktadır, çünkü metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* aynı zamanda sefalosporinler, karbapenem ve monobaktamlar da dahil olmak üzere bütün beta-laktam antibiyotiklerine karşı direnç göstermektedir. *Staphylococcus aureus*'daki bu metisilin direnci tek olup orijini henüz tanımlanamamış bir DNA'nın elde edilmesine bağlıdır. Bu DNA beta-laktamlar tarafından inhibe edilmeyen bir PBP üretmektedir.^{1,2,5-7}

Pnömonoklarda beta-laktamaz sentezi saptanamamıştır. Penisiline direnç tamamen PBP ile ilişkilidir.⁸ *Streptococcus pneumoniae*'da altı adet PBP bulunur. Bunlar PBP 1a, PBP 1b, PBP

2a, PBP 2b, PBP 2x(2') ve PBP 3'dür. Bu penisilin bağlayan proteinlerin PBP 3'dür. Bu penisilin bağlayan proteinlerin molekül ağırlıkları 43000-98000 arasında değişmekte olup PBP 1a, PBP 1b, PBP 2a, PBP 2b ve PBP 2x'de olduğu gibi yüksek molekül ağırlıkta olan PBP'deki değişikliklerin dirençte rol oynadığı belirlenmiştir. Bu değişikliğin de, mutasyonlar sonucu aminoasit değişikliği ile oluştuğu düşünülmektedir. Pnömonoklarda penisilin direnci basamak tarzında oluşur. Penisiline dirençli, değişikliğe uğramış PBP'in beta-laktam antibiyotiklerin büyük çoğunluğuna karşı da afinitelerinde azalma vardır. Buna bağlı olarak, penisiline dirençli pnömonokoklar sıklıkla sefalosporinlere karşı da bir çapraz direnç gösterir. Özellikle PBP 1a ve PBP 2x sefalosporinlere karşı oluşan dirençte rol oynar.^{8,9} *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* düşük dozda ki penisilinlere intrinsek olarak dirençlidir. Beta-laktamaz üretmeyen suşlardaki direnç, düşük afiniteli bazı PBP'lerin aşırı üretimi ile ilişkilidir.^{1,2,5}

PBP'lerdeki değişikliklere bağlı direnç Gram olumsuz mikroorganizmalarda daha az yaygındır. Bununla birlikte *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Acinetobacter calcoaceticum* ve *Bacteroides fragilis*'in klinik izolatlarında PBP değişiklikleri bildirilmiştir. *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın beta-laktamaz üretmeyen suşlarındaki penisilin direnci düşük afiniteli PBP'ler ile oluşur.^{1,2,5} *Neisseria meningitidis* suşlarında penisilin bağlayan proteinlerden PBP 2'de oluşan değişiklik sonucu penisiline karşı gelişen azalmış duyarlılık, transformasyonla duyarlı bakterilere aktarılabilir.¹⁰

2. Beta-laktamaz enzimlerine bağlı

direnç: Beta-laktamazlar penisilinler, sefalosporinler ve benzeri beta-laktam antibiyotikleri hidrolize eden ve bu antibiyotiklere direnç gelişimine neden olan enzimlerdir. Beta-laktam antibiyotiklere karşı klinikte en çok gözlenen direnç mekanizmasıdır. Doğada pek çok Gram olumlu ve Gram olumsuz bakteri beta-laktamaz enzimi üretmektedir. Ancak bunlar arasında

Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları

Tablo 1. Beta-laktamaz grupları ve genel özellikleri.

B-laktamaz	Molekül sınıfı	Tercih edilen substrat	CA ^a	Örnek enzimler
1	C	Sefalosporinler	-	Gram olumsuz bakterilerin AmpC enzimleri ; MIR – 1
2a	A	Penisilinler	+	Gram olumlu bakterilerin penisilinazları
2b	A	Penisilinler, Sefalosporinler	+	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	+	TEM-3 ila TEM-26, SHV-2 ila SHV-6, Klebsiella oxytoca K1
2br	A	Penisilinler	+/-	TEM-30 ila TEM-36,TRC-1
2c	A	Penisilinler, karbenisilin	+	PSE-1, PSE-3, PSE-4
2d	D	Penisilinler, kloksasilin	+/-	OXA-1 ila OXA-11, PSE-2 (OXA-10)
2e	A	Sefalosporinler	+	Proteus vulgaris'in induklenebilir sefalosporinazları
2f	A	Penisilinler, Sefalosporinler, karbapenemler	+	Enterobacter cloacae'nin NMC-A'sı, Serratia marcescens'in Sme-1'i
3	B	Birçok beta-laktam, karbapenemler dahil	-	Stenotrophomonas maltophilia'nın L1'i, Bacteroides fragilis'in CcrA'sı
4	ND ^b	Penisilinler	-	Pseudomonas cepacia'nın penisilinazı

CA^a: Klavulanik asit ND^b: belirlenmemiş

Stafilokok ve Enterobakteriyal beta-laktamazlar, klinikte önemli direnç sorunu yarattıkları için en çok üzerinde durulan enzimlerdir.¹¹ Beta-laktamaz üretimi, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere Gram olumsuz bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere direncindeki en önemli mekanizmadır.^{12,13} Beta-laktamazlar Gram olumlu bakterilerde hücre dışı enzimler olup hücre zarı dışında faaliyet gösterirler. Gram olumsuz bakterilerde de periplazmik boşluk içinde yer alırlar.² Beta-laktamazlar amid, amidin ve benzeri karbon azot bağlarını parçalayan enzimlerdir. Substratları olan antibiyotik ile karşılıklı etkileşerek kompleks bir ara ürün oluştururlar ve plazmid aracılığı ile sentezlenen enzimlerin özellikleri birbirinden oldukça farklıdır.^{1,5,11}

Beta-laktam antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucu farklı substrat özgüllüğü gösteren çok çeşit ve sayıda beta-laktamaz enzimi saptanmıştır. Bu enzimlerin sayısının artması sonucu farklı zamanlarda birçok sınıflandırma şeması önerilmiştir. Yaygın kabul gören ilk şema 1960'larda Richmond ve Sykes tarafından önerilmiştir.⁵ Zamanla bu şemada hatalar ve eksiklikler görülünce, 1989'da Karen ve Bush tarafından değiştirilmiş ve yeni bir uyarılma ile beta-laktamazlar en son olarak 1995 yılında Bush-Jacoby-Medeiros tarafından sınıflandırılmıştır.¹⁴ Moleküler düzeydeki mekanizmalara dayanan sınıflamanın ilk temellerini ise 1980

yılında Ambler atmıştır.⁵ Amino asit dizilerine dayanılarak yapılan bu moleküler sınıflandırmada beta-laktamazlar A, B, C ve D olmak üzere dört grupta toplanmaktadır. A, C ve D grupları serin enzimlerini içermekte, B grubunda ise çinko enzimleri bulunmaktadır.¹⁵⁻¹⁷ Her dört sınıfın da kromozomal ve plazmid kökenli temsilcileri vardır.⁵ Sınıf A serin penisilinazlar, Sınıf B metallo-enzimler, Sınıf C serin sefalosporinazlar ve Sınıf D oksasilini hidrolize eden serin beta-laktamazları içermektedir.¹⁸ Klinik olarak en önemli beta-laktamazlar Sınıf A ve Sınıf C'ye aittir.⁵

Bush tarafından önerilen şemada, hem plazmid hem de kromozomal özellikli enzimler vardır. Bu sınıflandırmada önceki sınıflandırmalarda kullanılan substrat profili, inhibitör profili ve molekül ağırlığı ile izoelektrik nokta gibi fiziksel özelliklere oksasilin, sefoksitin ve nitrosefin, ayrıca tazobaktam ile inhibisyon da eklenerek enzimler 4 grupta toplanmıştır (Tablo 1).^{14,18} Tablo 1'de, beta-laktamazların en son sınıflandırma şeması molekül sınıfları, tercih edilen substrat ve beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlılıkları verilmiştir.

1) Grup I kromozomal beta-laktamazlar:

Bu grupta bulunan beta-laktamazlar sefalosporinazlardır. Bu enzimlerin moleküler sınıfı "C"dir.^{5,15,17} *Salmonella* dışında hemen tüm Gram olumsuz bakterilerde kromozom

kontrolünde sentezlenen beta-laktamazlar bulunur. Ancak miktar, sentez yolu ve dirençteki rolleri açısından farklılıklar gösterir. Enzimler, indüklenebilen enzimler ve yapısal enzimler olarak bulunabilmekte ve yüksek düzeyde veya düşük düzeyde olabilir. *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* ve *Shigella spp.*de düşük düzeyde sentezlenen yapısal enzimler vardır ve miktarları ampisilin ve dar spektrumlu sefalosporinlere karşı direnç oluşturmaya kadar düşük düzeydedir. Buna karşın *Escherichia coli*, izolatlarının %2'sinde AmpC enzimlerinin aşırı sentezi sonucu yüksek düzeyde direnç oluşabilmektedir.¹⁵ İndüklenebilir kromozomal enzimler klinikte sık karşılaşılan Gram olumsuz bakterilerde bulunur. *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Serratia spp.*, *Morganella morgani*, *Providencia stuartii* ve *Providencia rettgeri*'deki sentezlenen kromozomal beta-laktamazlar indüklenebilen türdedir.^{2,9,15,17,19} Klonlama çalışmaları, kromozomal tip-1 beta-laktamaz indüksiyonunda, AmpR, AmpC ve AmpD olarak adlandırılan 3 genin rol oynadığını göstermiştir. Bu genler *Enterobacteriaceae* ailesinin tüm üyelerinde bulunmaz; örneğin *Escherichia coli*'de AmpC ve AmpD genleri vardır, ancak AmpR kaybolmuştur.

Salmonella'larda ise AmpC geni eksiktir.^{15,20} *Klebsiella pneumoniae*'de saptanan bir beta-laktamaz olan (MIR-1) ciddi tedavi sorunlarına yol açmaktadır.¹¹ Ayrıca son yıllarda plazmidler ile yayılan ve gittikçe çeşitleri ve sayıları artan AmpC tipi enzimler de bildirilmiştir.²¹ FOX-1, LAT-1, MIR-1, MOX-1, BIL-1, CMY-1, CMY-2 ve CMY-3 enzimleri ise bu grupta bulunan *Enterobacter* ve *Citrobacter* türlerinin kromozomlarından köken almış olan plazmid kontrolündeki beta-laktamazlardır.^{14,15}

Normalde, bakteri tarafından beta-laktamazlar bir repressör mekanizma ile düşük düzeyde sentezlenirken ortama bir penisilin ya da sefalosporin eklendiğinde enzim sentezinde birkaç yüz kat artış olabilmektedir.¹⁵ Farklı beta-laktam antibiyotikler değişik oranlarda olmak üzere Grup I beta-laktamazları indükle-yebilirler. Ancak, indükleyici yani beta-laktamın ortadan kalkmasıyla bakteri tekrar eski bazal

beta-laktamaz sentezine geri döner. Bu yüzden bu mekanizma ile klinikte kalıcı bir direnç söz konusu olmaz. Esas sorun bu enzimleri doğal olarak fazla miktarda sentezleyen mutant suşlar nedeniyle oluşur. İndüklenebilir kromozomal beta-laktamaz taşıyan bu Gram olumsuz bakterilerde normalde 10^{-5} - 10^{-7} arasında bir sıklıkla baskılanmış mutantlar bulunur. Bu baskılanmış mutantlarda beta-laktamaz enzimlerinin sentezi devamlı ve yüksek düzeyde olmaktadır.^{2,15} Böyle bakterilerle oluşan enfeksiyonların bir indükleyici antibiyotik ile tedavisi sırasında duyarlı bakterilerin ortadan kalkması, anti-biyotik etkisine dirençli doğal mutantların ortamda çoğalması ile tedavi başarısızlıkları olabilmektedir. Bunun yanı sıra dirençli bakterilerin hastane mikroflorasına yerleşmesine bağlı olarak ta hastane enfeksiyonu epidemilerine neden olabilmektedir.²⁶ Son yıllarda, yeni kuşak sefalosporinlere karşı Gram olumsuz bakterilerde gözlenen dirençte daha çok bu suşların rol oynadığı bildirilmektedir.^{2,11} Grup 1 kromozomal betalaktamazlar klavulanik asit ve sulbaktama dirençlidirler. Buna karşın aztreonam, kloksasilin ve karbapenem grubu antibiyotiklere karşı duyarlıdır.¹⁸

2) Grup II plazmid kontrolündeki beta-laktamazlar:

Bu grup beta-laktamazlar en geniş kategoriyi oluşturmakta olup, A ve D molekül sınıfını içermektedirler. Bu beta-laktamazlar penisilinleri, sefalosporinleri, kloksasilini, karbenisilini, karbapenemleri ve monobaktamları hidrolize etmelerine göre 6 alt gruba ayrılırlar.¹⁷ Bunların en büyük grubu türler arasında kolayca yayılabilen geniş spektrumlu beta-laktamazlardır. Gram olumsuz bakterilerde gözlenen beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç büyük oranda plazmid kontrolündeki beta-laktamazlara bağlıdır.² Moleküler sınıf A'da olan ve 2b, 2be ve 2br alt grubunda bulunan TEM ve SHV grubu enzimler, sık soyutlanan türlerde yaygın olmaları ve plazmidlerce taşınmaları nedeniyle klinik açıdan önem taşımaktadırlar.^{2,15,21} Grup 2b'de yer alan TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 "geniş spektrumlu" enzimlerdir. Bu enzimlere ampisilin, karbenisilin, tikarsilin, sefalotin gibi beta-laktam antibiyotiklere direnç oluşturmaları nedeniyle geniş spektrumlu denilmiştir. TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 beta-

Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları

laktamazları *Enterobacteriaceae* ailesinde yaygın olarak bulunur. Bu betalaktamaz penisilinler ve birinci kuşak sefalosporinleri etkin bir şekilde parçaladıkları halde geniş spektrumlu beta-laktamlara (yeni sefalosporinler, monobaktamlar) sınırlı etki gösterirler veya etkisizdirler.^{19,20} Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır.² Geniş spektrumlu enzimler içinde en fazla bilinen enzim TEM-1 enzimidir.¹⁸ TEM-1 beta-laktamazı özellikle *Escherichiacoli* suşlarında ampisilin ve amoksisilin direncine neden olan mekanizmalar arasında en sık görülenidir. Ayrıca TEM-1 enzimi, diğer *Enterobacteriaceae* üyelerinde olduğu gibi *Haemophilus*, *Vibrio* ve *Neisseria* gibi diğer cinslerde de bulunur. SHV-1 özellikle *Klebsiella pneumoniae* suşlarında bulunur.^{5,21} Oksiimino beta-laktamlar ve monobaktamlar gibi antibiyotiklerin yaygın kullanımı sonucunda TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi ana enzimlerden 1-4 amino asit değişikliği ile genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (Extended spectrum beta-lactamases; ESBL) olarak adlandırılan genişlemiş spektrumlu beta-laktamlara da etki eden yeni enzimler gelişmiştir.^{14,15,21} Bu genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar Grup 2b'de bulunur. Bu enzimler sefotaksim, seftazidim, seftriakson ve aztreonam gibi yeni kuşak beta-laktamlara direnç oluşturmakta, sefoksitin, sefotetan ve klavulanik asit gibi beta-laktamaz inhibitörlerine duyarlı kalmaktadırlar.^{2,14,18,20}

Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar TEM-3'den TEM-27'ye, SHV-2'den SHV-7'ye kadar numaralandırılmıştır. Bu enzimler özellikle *Klebsiella* ve *Escherichiacoli* suşlarında yaygındır.¹⁸ Yine bu grupta bulunan PER-1 enzimini içeren *Pseudomonaslar* seftazidime çok dirençlidir. Buna karşın seftazidim-klavulanik asit'e çok duyarlıdır. PER-1 enzimi ayrıca *Salmonella* larda da gösterilmiştir.^{2,18} Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sentezleyen organizmalar ile kolonizasyon ve enfeksiyon oluşmasında en önemli risk faktörleri yoğun bakım ünitesinde bulunmak, yakın zamanda ameliyat geçirmiş olmak, instrumentasyon, hastanede uzun süre kalma ve antibiyotik tedavisi almış olmaktadır.^{2,18}

Moleküler sınıf D'de ve beta-laktamaz sınıflandırmasında 2d grubunda yer alan OXA grubu enzimlerin tercih ettikleri substrat kloksasilindir.^{5,14,15} OXA-10 enzimi, OXA-1'den OXA-10'a kadar olan OXA enzimlerine oranla daha geniş spektrumlu bir enzimdir.

Sefoperazona yüksek direnç oluşturmakta, eğer çok miktarda sentezlenirse aztreonam, sefotaksim ve seftriakson duyarlılıklarında azalmaya yol açabilmektedir. Son yıllarda bu enzimlerin de genişlemiş spektrumlu mutantlarının çıktığı saptanmıştır. Aynı TEM ve SHV enzimlerinde olduğu gibi OXA enzimlerinin genlerinde oluşan mutasyonlar enzim molekülünde genellikle 1-4 amino asitin değişmesine, dolayısıyla farklı bir enzim molekülünün oluşmasına yol açar. Bu genişlemiş spektrumlu türevler (OXA-11,14-17) özellikle nozokomiyal enfeksiyon etkenlerinde saptanmaları nedeniyle giderek önem kazanmaktadır.^{14,21} Bunlardan ilki OXA-11 enzimi olup bir *Pseudomonas* suşunda bulunmuştur. Yine farklı *Pseudomonas* suşlarında OXA-14, OXA-15, OXA-16 ve OXA-17 beta-laktamazları tanımlanmıştır. OXA-15 enziminin OXA-2'den, diğerlerinin ise OXA-10'dan türediği saptanmıştır.¹⁸ OXA-11, OXA-14, OXA-15 ve OXA-16 beta-laktamazları seftazidim direncine, OXA-17 de sefotaksim direncine yol açar.¹⁸ Bu genişlemiş spektrumlu OXA grubu enzimlerin önemi klavulanik asit ve sulbaktama dirençli olmaları ve hastane enfeksiyonlarından izole edilen suşlarda saptanmalarıdır.^{2,18} Yine *Pseudomonas aeruginosa*'da ve *Acinetobacter* suşlarında PER-1 benzeri enzim, ESBL özelliği gösterir.²² Bu şekilde TEM, SHV ve OXA enzimlerinden türeyen genişlemiş spektrumlu beta-laktamazların hidrolize edebildiği beta-laktam antibiyotik paneli ana enzimden farklıdır ve 3. kuşak sefalosporinler ve aztreonam gibi ana TEM, SHV ve OXA beta-laktamazlarına dirençli bilinen antibiyotikleri de hidrolize etme kapasitesindedir.^{18,22} Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda ESBL enzimlerinin varlığı gösterilmiştir.^{2,22} 2f grubunda *Enterobactercloacae* ve *Serratia marcescens*'in karbapenemleri hidrolize eden enzimleri bulunur. Bu mikroorganizmalar da son yıllarda hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan etkenlerdir.² Ayrıca *Enterobacter cloacae*, *Serratia*

marcescens, *Proteus vulgaris* ve *Bacteroides fragilis*'de plazmid kontrolünde bulunan beta-laktamazlar saptanmıştır. Yine son yıllarda özellikle *Escherichia coli* suşlarında klavulanata dirençli TEM benzeri (inhibitörlere dirençli TEM; IRT) enzimlerin varlığı da gösterilmiştir.²¹ *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'de de plazmid kontrolünde penisilinaz bulunur. *Staphylococcus aureus*'da bulunan bu enzimler bakteriyofajlar aracılığı ile duvarlı hücrelere geçebilir.^{2,15,16,18,19,23,24}

3) Grup III beta-laktamazlar: Bu grup metallo-beta-laktamazlar olup moleküler sınıf B' de yer alırlar.¹⁴ Aktiviteleri için çinko iyonlarına gereksinimleri vardır. Geniş ve dar spektrumlu penisilin ve sefalosporinlere ek olarak imipenem ve meropenem gibi karbapenemleri de inaktive eden karbapenemazlardır.^{14,25} Genellikle topraktaki tienamisin benzeri bileşiklerde doğal olarak bulunan beta-laktamazlar olup EDTA ile inhibisyon ve klavulanik asite direnç özellikleri nedeniyle kolay tanınırlar. Bu enzimler a, b ve c olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar. Alt grup 3a, *Bacillus cereus* II, *Bacteroides fragilis* (Ccr A) ve *Stenotrophomonas maltophilia* (L1 enzimi) kromozomal beta-laktamazlarından oluşur. Bu enzimler penisilinleri, karbapenemlerden ve sefalosporinlerden daha etkili olarak hidrolize edebilirler. Alt grup 3b beta-laktamazları büyük ölçüde *Aeromonas* cinsinden türeyip *Aeromonas hydrophila*'da bulunur ve bazen gerçek karbapenemaz olarak adlandırılır, çünkü grup 3a enzimlerinin aksine sefalosporinler ve penisilin üzerinde hiç hidrolitik etkileri yoktur. Bu da onların zor belirlenmesine neden olur. Alt grup 3c'de sadece bir enzim vardır. O da *Legionella gormanii*'deki beta-laktamazdır. Bu genişletilmiş spektrumlu metallo beta-laktamaz enzimi olup 3a ve 3b'deki gruplardan daha geniş etki spektrumuna sahiptir ve çoğu sefalosporinleri hidrolize edebilir.²⁵ Ayrıca *Serratia marcescens* *Serratia marcescens* ve *Pseudomonas aeruginosa*'da da grup 3 beta-laktamazlar saptanmıştır.^{2,15-17,26}

4) Grup IV beta-laktamazlar: Klavulanik asit ile pek de iyi inhibe edilmeyen küçük bir penisilinazlar grubundan oluşur. Biri dışında

hepsi kromozomlarla kodlanırlar. Bu grup beta-laktamazların yapıları henüz tam olarak saptanamamıştır. Bu gruba örnek olarak *Pseudomonas cepacia*'daki beta-laktamazlar verilebilir.¹⁷

Tüm bu 4 grup, beta-laktamaz fonksiyonlarındaki çeşitliliği sergiler. Bu çeşitlilik invivo koşullarda daha da artar. Çünkü, tek bir bakteride multipl beta-laktamaz tipleri aynı anda görülebilir ve bu çok sık olan bir durumdur. Sıklıkla, klinik izolatlar hem türe spesifik kromozomal beta-laktamazlar, hem de iki veya üç farklı plazmidle belirlenen beta-laktamaz üretirler. Böylece kromozomal ve plazmid kökenli beta-laktamazlar bazen içiçe geçerler. Bu özellikle nozokomiyal enfeksiyonlara yol açan bakterilerde görülür. Hastane enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan enzimler, Grup I'deki kromozomal beta-laktamazlar, Grup II'deki "Extended broad spectrum" (EBS) enzimler ve Grup III'deki beta-laktamazlardır. Klinik izolatlar aynı zamanda farklı fonksiyonel gruplara ve moleküler sınıflara (A,B,C,D) ait olan multipl kromozomal beta-laktamazlar üretebilirler.^{2,5,17}

3-Permeabiliteye bağlı direnç: Hücre membranının geçirgenliğinin azalması Gram olumsuz bakteriler için özellikle önem taşır. Bu bakterilerin membranları Gram olumlu bakteri membranlarına nazaran daha komplike bir yapıya sahiptir. Gram olumsuz bakterilerde beta-laktam molekülleri dış membran proteini "outer membrane protein" (OMP) adı verilen, porin proteinlerinden oluşan porlar yoluyla geçer. Porinlerin özellikleri, porinlerin sayıları ve antibiyotiğin yük, çözünürlük, büyüklük gibi özellikleri hücre içine giriş hızını belirler. Bu nedenlere bağlı olarak antibiyotik reseptörlere ulaşmamakta ve etkisini gösterememektedir.

Gram olumsuz bakterilerde bu tür direnç görülmez. Bununla birlikte bu mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Permeabilitenin azalmasına bağlı olan direnç özellikle enzimatik direnç ile birlikte ise önemli düzeyde bir dirençce yol açmaktadır. Klinikte nadir olmakla birlikte bu tip direnç son yıllarda özellikle *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında ve *Escherichia coli*'de de bildirilmiştir.^{1,2} Yine

Beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç mekanizmaları

Pseudomonas aeruginosa suşlarının direncini, beta-laktam antibiyotikleri pompalamasına borçlu olduğu da sanılmaktadır.⁵

SONUÇ

Beta-laktam antibiyotiklerin ve bunların inhibitör kombinasyonlarının çok sık kullanımı, hem var olan direnç mekanizmalarının artması, hem de yeni direnç mekanizmalarının ortaya çıkması nedeniyle gittikçe artan bir tedavi sorununu gündeme getirmektedir. Bunun için her merkezde, bakterilerin beta-laktam antibiyotiklere karşı duyarlılıkları önerilen standart yöntemlerle araştırılmalı ve direnç oranları bölgesel ve ülke çapında saptanmalıdır. Geniş spektrumlu beta-laktamaz oluşturan suşların genellikle has-tane enfeksiyonları epidemileri yaptığı göz önünde bulundurularak, ESBL üreten suşların saptanması halinde gerekli epidemiyolojik çalışmalar başlatılmalıdır. Beta-laktam antibiyotiklere karşı gelişen direnç mekanizmalarının üstesinden gelebilmek için çok az sayıda yeni beta-laktam antibiyotikler geliştirilmektedir. Direncin kontrol altına alınabilmesi için, var olan bileşiklerin son derece tedbirli bir şekilde kullanılması gereklidir. Bu yüzden, endike olan durumlarda yeterli süre ve dozda antibiyotik kullanımının denetlenmesi ve her hastanede enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınması ve antibiyotik kullanım komitelerinin kurulması gerekir.

KAYNAKLAR

1. Quintiliani JR, Courvalin P. Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH (eds): Manual of Clinical Microbiology, 6th ed., American Society of Microbiology. Washington 1995; pp.1308-24.
2. Gür D. Hastane enfeksiyonlarında önem kazanan Gram olumsuz bakterilerde antibiyotiklere direnç mekanizmaları. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 1997; 1: 38-45.
3. Clopra I, Hodgson J, Metcalf B, Poste G. The search for antimicrobial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics. Antimicrob Agents Chemother March 1997; 497-503.
4. Masova I, Mobasheny S. Kindship and diversification of bacterial penicillin binding proteins and beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother Jan 1998; 1-17.
5. Livermore DM. Beta-lactamase mediated resistance and opportunities for its control. J Antimicrob Chemother 1998; 41, Suppl. D, 24-41.
6. Wilke A. Stafilokoklarda metisiline direnç mekanizmaları ve belirlenmesi. ANKEM Dergisi 1992; 6(2): 228-91.
7. Yokoyama T, Honda J, Kawayama T, Kajimura K, Ozumi K. Increased incidence of beta-lactamase plasmid negative, high level methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Kurume Med J 1996; 43 (3):199-206.
8. Gür D. Streptococcus pneumoniae: İzolasyon, tanı ve antibiyotiklere direnç. ANKEM Dergisi 1995; 9(3): 243-51.
9. Öztürkeri H: Streptococcus pneumoniae'de penisiline direnç mekanizmaları. Klimik Dergisi 1997; 10(2): 51-4.
10. Tekin M, Gönüllü N, Kaygusuz A, Öngen B, Töreci K. Beta-laktamaz oluşturmada penisiline azalmış duyarlılık gösteren iki Neisseria meningitidis suşu. ANKEM Dergisi 1997; 11(4): 466-8.
11. Akova M. Beta-laktam antibiyotiklerin klinik kullanımı ve beta-laktamazlara bağlı direnç gelişimi. ANKEM Dergisi 1994; 8 (4): 305-10.
12. Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactam resistance in Gram negative bacteria: global trends and clinical impact. Clin Infect Dis 1992; 15: 824-26.
13. Gülay Z. Beta-laktamaz inhibitörlerine direnç: TEM benzeri enzimler. ANKEM Dergisi 1997; 11(2):213-19.
14. 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.
15. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 557-84.
16. Gür D. Beta-laktamazlar. Flora-İnfeksiyon Hast Klinik Mikrobiyoloji Dergisi 1997; 2-3: 3-18.
17. Medeiros AA. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. Clin Infect Dis 1997; 24, 19-45.
18. Gür D. AmpC ve geniş spektrumlu beta-laktamazlarda son gelişmeler. ANKEM Dergisi 1997; 11(2): 209-12.
19. Çalangu S. Sefalosporinler. Klinik Uygulamalarda Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar'da, Ed: Akalın E. Güneş Kitabevi 1994: 103-22.
20. Büyükbaba Ö, Katranç H, Nakipoğlu Y, Derbentli Ş. Gram olumsuz çomaklarda indüklenbilir beta-laktamaz belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin değerlendirilmesi. ANKEM Dergisi 1997; 11(4): 419-28.
21. Yuluğ N. Beta-laktamazlar ve klinik açıdan önemi. ANKEM Dergisi 1997; 11(2): 205-7.
22. Kaygusuz A, Öngen B, Gürler N, Töreci K. Çocuk hastalardan izole edilen Enterobacteriaceae suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz sıklığı. ANKEM Dergisi 1997; 11(4): 432-44.
23. Kanra G. Penisilinler. Sefalosporinler. Klinik Uygulamalarda Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal İlaçlar'da, Ed: Akalın E. Güneş Kitabevi 1994:91-102.
24. McManus MC. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. Am J Pharmacol 1997; 54(12): 1420-33.
25. Arnyes SGB. Carbapenemases. ANKEM Dergisi 1997; 11(2): 221-5.
26. Gür D. Beta-laktamazların sınıflandırılması. Flora-İnfeksiyon Hast Klinik Mikrobiyoloji Dergisi 1996; 1(2): 80-86.