

# GRAM NEGATİF BAKTERİLERDE AMİNOGLİKOZİD ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇ VE AMİNOGLİKOZİDLERİ DEĞİŞTİRİCİ ENZİMLER

Deniz GÜR

*Resistance to aminoglycoside antibiotics in Gram negative bacteria and aminoglycoside modifying enzymes.*

Aminoglikozid grubu antibiyotikler, ilk kullanılmaya başlandıklarından beri infeksiyon hastalıklarının tedavisinde en sık tercih edilen antibiyotikler arasında yer almışlardır. Bu grup ilaçlara karşı direnç, kullanımlarına paralel olarak artış göstermiş ve özellikle hastane infeksiyonlarının tedavisinde sorun yaratmaya başlamıştır. Gram negatif bakterilerin aminoglikozid antibiyotiklere karşı geliştirdikleri dirençte ribozoma bağlanmalarını veya membrandan transportlarını engelleyen mutasyonların da rol oynamalarına karşın bu mutantlar klinikte nadirdir (13,15). Bu antibiyotiklere karşı en önemli direnç mekanizması, sentezlenen enzimler yoluyla ilacın modifikasyonudur. Bu yazıda enzimatik direnç özetlenmeye çalışılmıştır.

## Enzimatik direnç

Aminoglikozidlere dirençli suşların ortaya çıkışı, çoğunlukla bu enzimleri kodlayan plazmidlerin alınması sonucu olmaktadır (3,4,5,13). Enzimlerden birçoğu transpozonlarca kodlanmakta, bu da direncin hızla yayılımını kolaylaştırmaktadır.

Aminoglikozidleri değişime uğratan enzimler, amino gruplarının asetilasyonu, hidroksi gruplarının nükleotidilasyon ya da fosforilasyonu ile aminoglikozid molekülünü modifiye edebilmektedir (7,12). Bu bir inaktivasyon değil, modifikasyondur (12). Bu enzimler ile sitoplazmik membrandan geçişleri sırasında değiştirilen aminoglikozidler, ribozomlara bağlanamamakta ve etki gösterememektedir.

Aminoglikozidleri modifiye eden enzimleri kodlayan birçok genin DNA dizileri belirlenmiştir. Bu genlerden geliştirilen proplar kullanılarak yapılan DNA hibridizasyon çalışmaları, bu genlerin kökeni, sıklığı ve yayılımı ile ilgili bilgilerin edinilmesinde esas olmuştur. Direnç genlerinin hem aminoglikozidleri sentezleyen organizmalardan köken aldığı, hem de normal hücre metabolizmasında rol oynayan enzimleri kodlayan genlerden türediği düşünülmektedir. Örneğin, tüm *S.marcescens*'lerde *aac(6')*-Ic geninin bulunduğu ve aminoglikozidlere duyarlı olan suşlarda sessiz olduğu belirlenmiştir (16). Genel olarak aminoglikozid direnç genleri kontrol edilmemektedir. Bu genlerin transkripsiyonu yapısaldır ve aminoglikozidlere karşı devamlı bir koruma sağlamaktadır.

Aminoglikozidlerin etki mekanizmalarının ribozomlar üzerinde olması nedeniyle bu enzimlerin de sitoplazmada yer aldıkları ileri sürülmüş ve AAC(3)-IVa enzimi için bu görüş desteklenmiştir. Buna karşın, ANT(3'')-Ia proteininin periplazmada yerleştiği bildirilmektedir (16). Aminoglikozidleri değiştiren enzimlerin hücre içinde bulunduğu yer, organizmanın direnç düzeyini belirlemede rol oynayabilir; örneğin enzimlerin periplazmada bulunmasının direnci artırdığı saptanmıştır (16).

## Enzimlerin isimlendirilmesi

Enzimler, enzimatik modifikasyon tipine göre, AAC (asetiltransferaz), ANT (nukleotidiltransferaz) ve APH (fosfotransferaz) olarak isimlendirilmektedir. Modifiye ettiği bölge parantez içinde bir rakamla belirtilmektedir; (2'), (3), (6'), (2''), (3''), (6) ve (9) gibi. Benzer etki gösteren enzimlerin ayırdedilmesi için buna I, II, III, IV, V vs. olarak Romen rakamları eklenmektedir. Protein tanımlaması ise a, b, c vs. olarak yapılmaktadır. Örneğin, AAC(6')-Ia ve AAC(6')-Ib, aynı direnç profilini oluşturan iki farklı proteindir. Bunları kodlayan genler ise *aac(6')-Ia* ve *aac(6')-Ib* olarak gösterilmektedir (11).

Bir aminoglikozid molekülü birçok farklı enzim için substrat olabilir; örneğin, Gram negatif bakterilerde gentamisin AAC(2')-I, AAC(6')-II, AAC(3)-I, AAC(3)-III, ANT(2'')-I vs. enzimleri tarafından modifiye edilebilir (Tablo).

Ayrıca bir enzim birçok farklı aminoglikozidi değişikliğe uğratabilir (3). Örneğin, ANT(2'')-I enzimi, gentamisin, tobramisin ve dibekasini modifiye edebilmektedir; AAC(6')-I ise tobramisin, amikasin, netilmisin, 2'-N-etilnetilmisin ve 5-episosomisini değiştirmektedir. Aminoglikozidleri modifiye eden enzimlerden bazıları sadece Gram pozitif bakterilerde bulunmaktadır. Bunlardan AAC(6')-APH(2'') enzimi bifonksiyonel bir enzimdir. Protein iki domainden oluşmaktadır. Amino terminali AAC(6')-I, karboksi terminali ise APH(2'') aktivitesinden sorumludur (16). Bazı enzimler ise belirli bakteri türlerinde bulunmaktadır; örneğin, AAC(2')-I enzimi *Providencia/Proteus* grubuna özgü bir enzimdir. AAC(6')-II ise şimdide değin sadece *Pseudomonas*'da gözlenmiştir. Çoğunlukla Gram pozitiflerde bulunan APH(3')-III enzimi Gram negatif bakterilerden sadece *Campylobacter*'de saptanmıştır.

## Aminoglikozit direncinin epidemiyolojisi

Hastanelerde aminoglikozid antibiyotiklere direnç oluşturan enzimlerin sıklığı, o merkezde kullanılan aminoglikozidlere bağlıdır (1,2,3,6,14). Miller ve arkadaşlarının (8,9,10) yaptıkları çalışmalarda farklı ülkelerden toplanan 5564 *Enterobacteriaceae* suşunun % 61.1'inde 13 aminoglikozid direnç mekanizması tek başına bulunurken, kalan % 38.9'unda çoğul (birden fazla) direnç mekanizması saptanmıştır. AAC(3)-II, AAC(6')-I, ANT(2'') ve AAC(3)-I enzimleri en sık saptanan enzimlerdir. Bu enzimlerden gentamisin, tobramisin ve netilmisine direnç oluşturan AAC(3)-II enzimi, Latin Amerika ve Avrupa'da yüksek oranda bulunmasına karşın, Yunanistan-Türkiye grubunda çok az gözlenmiştir. Bu grup bakterilerde amikasin direnci AAC(6')-I'c bağlıdır ve bu ya tek başına ya da diğer direnç mekanizmalarıyla birlikte bulunmuştur (8,9). 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 plazmid ve transpozonlara çok rahat rekombine olabilmesine bağlı olduğu bildirilmektedir (8). *Pseudomonas*'larda ise permeabiliteye bağlı direnç ile birlikte AAC(6')-II (tobramisin, netilmisin, amikasin) ve ANT(2'')-I (gentamisin, tobramisin) en sık gözlenen enzimler olmuştur (8,10).

Son yıllarda aminoglikozidlere direnç oluşturan enzimlerin araştırılmasında kullanılan moleküler teknikler, bu alanda birçok soruya yanıt getirmiştir. Enzimlerin kökeni, evrimi ve yayılımı ile ilgili bu yeni bilgiler ışığında gelecekte ortaya çıkabilecek direnç mekanizmalarını tahmin etmek, bunlar için şimdiden önlem alınabilmesi ve yeni antibiyotiklerin geliştirilebilmesi için önem taşımaktadır.

Tablo. Aminoglikozidleri modifiye eden enzimlerin özellikleri.

Direnç mekanizması	Klonlanan genler	Aminoglikozid direnç profili
<b>ASETİLASYON</b>		
AAC(1)		Apr,(But), Liv, Par, Rib, (Neo)
AAC(3)-I	<i>aac(3)-Ia</i> <i>aac(3)-Ib</i>	Gm, Astm, Sis
AAC(3)-III	<i>aac(3)-IIIa</i> <i>aac(3)-IIIb</i> <i>aac(3)-IIIc</i>	Gm, Tob, Dib, 5-epi, Sis, Kan, Neo, Par, Liv
AAC(3)-IV	<i>aac(3)-IVa</i>	Gm, Tob, Net, 6'Net, 2'Net, Apr
AAC(3)-V	<i>aac(3)-Va</i> <i>aac(3)-Vb</i> <i>aac(3)-Vc</i>	Gm, Tob, Net, 6'Net, 2'Net
AAC(3)-VI	<i>aac(3)-VIa</i>	Gm, 6'Net
AAC(3)-?		Par
AAC(3)-VII	<i>aac(3)-VIIa*</i>	
AAC(3)-VIII	<i>aac(3)-VIIIa*</i>	
AAC(3)-IX	<i>aac(3)-IXa*</i>	
AAC(3)-X	<i>aac(3)-Xa*</i>	
AAC(6')-I	<i>aac(6')-Ia</i> <i>aac(6')-Ib</i> <i>aac(6')-Ic</i> <i>aac(6')-Id</i> <i>aac(6')-Ie**</i> <i>aac(6')-If</i> <i>aac(6')-Ig</i> <i>aac(6')-Ih</i> <i>aac(6')-Ii**</i> <i>aac(6')-Ij</i>	Tob, Net, Amik, 2'Net, 5-epi          ek olarak Astm
AAC(6')-II	<i>aac(6')-IIa</i> <i>aac(6')-IIb</i>	Dib, 5-epi, Gm, Net, 2'Net, Tob
AAC(6')-III	<i>aac(6')-IIIc</i>	Sadece 2'Net (düşük düzeyde AAC(6')-I aktivitesi)
AAC(6')-APH(2'')	<i>aac(6')-aph(2'')**</i>	Amik, Astm, Dib, 5-epi, Gm, Net, 2'Net, 6'Net, Tob
ACC(2')-I	<i>aac(2')-Ia</i>	Dip, Gm, Tob, Net, 6'Net
<b>ADENİLASYON</b>		
ANT(2'')-I	<i>ant(2'')-Ia</i> <i>ant(2'')-Ib</i> <i>ant(2'')-Ic</i>	Gm, Tob, Dib
ANT(3'')-I	<i>ant(3'')-Ia</i>	Strept, Spect
ANT(4')-I	<i>ant(4')-Ia**</i>	Tob, Amik, Isep, Dip

(Devam)

ANT(4')-II	<i>ant(4')-IIa</i> <i>ant(4')-IIb</i>	Tob, Amik, Isep
ANT(6)-I	<i>ant(6)-Ia**</i>	Strept
ANT(9)-I	<i>ant(9)-Ia**</i>	Spect
<b>FOSFORİLASYON</b>		
APH(2'')	<i>aph(2'')</i>	AAC(6')-APH(2'')'a bkz.
APH(3')-I	<i>aph(3')-Ia</i> <i>aph(3')-Ib</i> <i>aph(3')-Ic</i>	Kan, Neo, Par, Rib, Liv, GmB
APH(3')-II	<i>aph(3')-IIa</i>	Kan, Neo, Par, Rib, But, GmB
APH(3')-III	<i>aph(3')-IIIa**</i>	Kan, Neo, Par, Rib, Liv, But, GmB, Amik, Isep
APH(3')-IV	<i>aph(3')-IVa</i>	Kan, Neo, Par, Rib, But
APH(3')-V	<i>aph(3')-Va*</i> <i>aph(3')-Vb*</i> <i>aph(3')-Vc*</i>	Neo, Par, Rib
APH(3')-VI	<i>aph(3')-VIa</i> <i>aph(3')-VIb</i>	Kan, Neo, Par, Rib, But, GmB, Amik, Isep
APH(3')-VII	<i>aph(3')-VIIa</i>	Kan, Neo(Amik)
APH(4)-I	<i>aph(4)-Ia</i> <i>aph(4)-Ib</i>	HigromisinB
APH(3'')-I	<i>aph(3'')-Ia*</i>	Strept
APH(6)-I	<i>aph(6)-Ia*</i> <i>aph(6)-Ib*</i>	Strept

5-epi: 5-episisomisin, Amik: amikasin, Apr: apramisin, Astm: fortimisin (astromisin), But: butirosin, Dib: dibekasin, Gm: gentamisin, GmB: gentamisinB, Isep: isepamisin, Kan: kanamisin, Liv: lividomisin, Neo: neomisin, Net: netilmisin, 2'Net:2'-N-etilnetilmisin, 6'Net:6'-etilnetilmisin, Par: paromomisin, Rib: ribostamisin, Sis: sisomisin, Spect: spektinomisin, Strept: streptomisin, Tob: tobramisin.

\* Actinomyces'den klonlanmış.

\*\* Sadece Gram pozitif organizmalarda direnç oluşturuyor.

#### KAYNAKLAR

- 1- Adwan MK, Kocabiyik S, Alaeddinoğlu NG: Effect of drug usage on aminoglycoside susceptibilities of *Pseudomonas aeruginosa* isolates, *Int J Exp Clin Chemother* 3: 179 (1990).
- 2- Akalın HE, Lolans V: Comparison of enzyme-mediated aminoglycoside resistance in Gram-negative bacilli isolated in Turkey and the United States, *J Infect Dis* 148: 1128 (1983).
- 3- Amyes SGB, Gemmell CG: Antibiotic resistance in bacteria *J Med Microbiol* 36: 4 (1992).
- 4- Courvalin P, Carlier C: Resistance towards aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics in bacteria, *J Antimicrob Agents* 8 (Suppl A): 57 (1981).

- 5- Davies JE: Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes, "Lorian V (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*" kitabında s.691, Williams and Wilkins, Baltimore (1991).
- 6- Dornbusch K, Miller GH, Hare RS, Shaw KJ, ESGAR: Resistance to aminoglycoside antibiotics in Gram-negative bacilli and staphylococci isolated from blood. Report from a European collaborative study, *J Antimicrob Chemother* 26: 131 (1990).
- 7- Foster TJ: Plasmid determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria, *Microbiol Rev* 47: 361 (1983).
- 8- Miller GH and the Aminoglycoside Resistance Study Groups: Increasing complexity of aminoglycoside resistance mechanisms in Gram-negative bacteria, *APUA Newsletter* 12(2): 1 (1994).
- 9- Miller GH and the Aminoglycoside Resistance Study Groups: The most frequently occurring aminoglycoside resistance mechanisms-Combined results of surveys in eight regions of the world, *J Chemother* 1995 (baskıda).
- 10- Miller GH and the Aminoglycoside Resistance Study Groups: The changing nature of aminoglycoside resistance mechanisms and the role of isepamicin-A new broad-spectrum aminoglycoside, *J Chemother* 1995 (baskıda).
- 11- Miller GH and the Aminoglycoside Resistance Surveys Team: The utilisation of aminoglycoside resistance phenotypes for the determination of aminoglycoside resistance mechanisms, *Schering-Plough Research Institute Booklet* (1995).
- 12- Neu HC: The emergence of bacterial resistance and its influence on empiric therapy, *Rev Infect Dis* 5(Suppl): 9 (1983).
- 13- Phillips I, Shannon K: Aminoglycoside resistance, *Br Med Bull* 40: 28 (1984).
- 14- Sanders CC: Bacterial proteins involved in antimicrobial drug resistance *Curr Topics Infect Dis Clin Microbiol* 2: 115 (1988).
- 15- Shannon K, Phillips I: Mechanisms of resistance to aminoglycosides in clinical isolates, *J Antimicrob Chemother* 9: 91 (1982).
- 16- Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH: Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes, *Microb Rev* 57: 138 (1993).