

KİNOLONLARDA DİRENÇ PROBLEMİ

Zeynep GÜLAY

Kinolon grubu antibiyotikler, gerek hastane gerekse toplum kökenli infeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kabul gören ve buna paralel olarak kullanım sıklığı da giderek artan antimikrobiyal ajanlardır (7). Ancak bu yaygın kullanım sonucunda bu grup antibiyotiklere direnç oranlarının giderek arttığı gözlenmektedir. Gram negatif bakteri türleri arasında *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* için siprofloksasin direnç oranları sırası ile % 1-14, % 13.3-26, % 24.1-37.7, % 42.7-48.5 olarak bildirilmektedir (8,22). Bir çalışmada, genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Klebsiella pneumoniae* suşlarında siprofloksasin direncinin % 18 olduğu gösterilmiştir (16). Gram pozitif türlere bakıldığında metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* izolatlarının çoğu kinolonlara duyarlıyken, MRSA suşlarında % 80'lere varan direnç oranları bulunmaktadır (5,9). Benzer şekilde enterokok türlerinin çoğu bu grup ajanlara dirençlidir (5). *Streptococcus pneumoniae* suşlarındaki direnç oranları ülkeden ülkeye değişmektedir (6). Amerika Birleşik Devletlerinde siprofloksasin direnci % 1.4 oranında iken, Kanada'da % 3 ve Hong Kong'da % 12'ye varan direnç oranları bildirilmiştir. Piyasaya son çıkan kinolonlar (levofloksasin ve moksifloksasin) özellikle solunum yolu infeksiyonlarının tedavisini hedeflemektedir (5). Solunum sistemi infeksiyonlarının tüm infeksiyonlar arasında sıklık açısından ilk sırada geldiği ve kinolonların kullanım kolaylığı göz önüne alındığında, kinolon kullanımının ve buna paralel olarak bu ajanlara karşı direncin daha da artacağı görülmektedir.

Kinolonların etki mekanizmaları

Florokinolonlar DNA sentezini inhibe ederek etki gösterirler (4,6,7). Hedefleri olan DNA giraz ve topoizomerez IV, tip 2 topoizomerezlar sınıfında yer alan enzimlerdir. Tip 2 topoizomerezlar bir DNA segmentinin her iki ipliğini kesip aradan bir başka DNA segmentini geçiren ve daha sonra da keşiği onaran enzimlerdir. DNA giraz bu işlemleri DNA süper sarmalları oluştururken veya tam tersine süper sarmalları kaldırırken uygular. Böylelikle DNA replikasyonu sırasında, replikasyon çatalının önündeki süper sarmalları kaldırır ve DNA ipliklerinin düğümlenmeden birbirinden ayrılmasını sağlar. Topoizomerez IV ise replikasyon sonunda iki yüzük gibi birbirlerine geçmiş yeni DNA ipliklerinin birbirinden ayrılmasını ve hücre bölünmesi sırasında yavru hücrelere eşit olarak dağılmasını sağlar. Florokinolonlar, enzim-DNA kompleksine bağlanarak topoizomerizasyonu engeller ve replikasyon çatalı, RNA polimeraz ve DNA helikazın önünde fiziksel bir bariyer oluşmasına neden olur. Replikasyon

çatalının enzim-DNA-ilaç kompleksi ile çarpışması hücre ölümü ile sonlanacak bir dizi olayı tetikler.

DNA giraz ve topoizomerez IV yapısal olarak birbirine benzeyen, her ikisi de iki alt ünitenin tekrarından oluşan tetramerik proteinlerdir. DNA giraz, Gyr A ve Gyr B; topoizomerez IV ise bunların homoloğu olan Par C ve Par E (stafilokoklarda Grl A ve Grl B olarak da adlandırılır) alt ünitelerinden oluşmuştur. Bu iki enzimin işlevleri, daha çok *E.coli* ve *Staphylococcus aureus*'da çalışılmıştır. Buna göre florokinolonlar her iki proteine de bağlanmalarına rağmen, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerdeki öncelikli hedefleri birbirinden farklıdır. *E.coli*'de DNA giraz, *S.aureus*'da ise topoizomerez IV birincil hedeftir. Yalnız C-8 pozisyonunda metoksi grubu taşıyan yeni florokinolonların öncelikli hedefinin Gram pozitiflerde de DNA giraz olduğu bildirilmektedir (17).

Kinolonlara direnç mekanizmaları

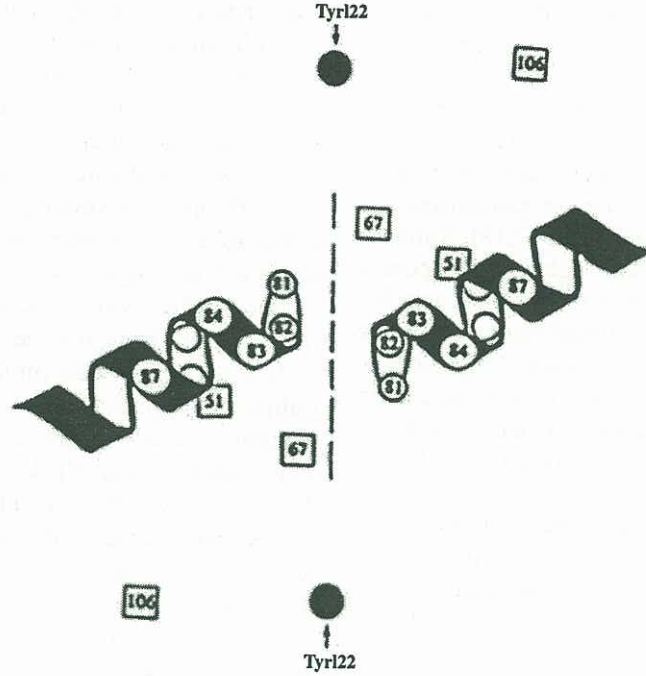
Kinolon direnci, ya ilacın hedefindeki değişimlerden ya da ilacın hedefine etkin konsantrasyonda ulaşamamasından kaynaklanmaktadır (6,7,18,19,22). Bazen de her iki mekanizma birlikte görülmektedir. Bazı fungusların kinolonları parçalayabilmelerine rağmen, henüz bakterilerde enzimatik bir direnç mekanizması bildirilmemiştir. Aşağıdaki bölümde bu mekanizmalara değinilecektir.

1- Hedef enzimlerdeki değişimler

Kinolon direnç mekanizmaları arasında üzerinde en fazla çalışılan, hedef enzimlerdeki değişimlerdir. Bu değişimler, enzim alt ünitesini kodlayan genlerdeki spontan mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, geniş bir bakteri popülasyonunda az sayıda (10^{-6} - 10^{-9}) mutant bulunabilmektedir. Gram negatif bakterilerdeki kinolon direncinin daha çok Gyr A ünitesindeki değişimlere bağlı olduğu belirlenmiştir. Dirençli bakterilerin Gyr A alt üniteleri ele alındığında, dirence neden olan amino asit değişimlerinin genellikle amino ucundaki enzim aktif bölgesinde bulunan bir tirozin (Tyr-122) molekülünün çevresinde yer aldığı görülmektedir. Bu tirozin molekülü topoizomerizasyon sırasında kesilmiş DNA uçlarına kovalanarak bağlanmaktadır (7). Kristallografik analizler de dirence yol açan aminoasit değişimlerinin kinolonların bağlandığı kısmı oluşturan üç boyutlu bir bölgede toplandığını göstermektedir (2) (Şekil 1). Bu bölgeye kinolon direncini belirleyen bölge (quinolone resistance determining region; QRDR) adı verilmektedir. Örneğin, Gyr A'da en sık görülen mutasyon olan Serin 83-Triptofan değişimi, norfloksasinin giraz-DNA kompleksine bağlanmasını belirgin biçimde azaltmaktadır. QRDR, *E.coli* suşlarında Gyr A'nın 67-106. aminoasitleri arasında bulunmaktadır.

Bu bölge, *E.coli* yanısıra *Acinetobacter* spp., *Salmonella* spp., *P.aeruginosa* ve başta *S.aureus* olmak üzere Gram pozitif koklarda, türe bağlı değişimler dışında, yüksek düzeyde ko-

runmuştur (22). Par C, Gyr B ve Par E alt ünitelerinde de benzer QRDR bölgelerinin varlığı gösterilmiştir (7).



Şekil 1. Kinolon direncine yol açan Gyr A mutasyonları.

Florokinolonların hedefi olan enzimler ve direnç profilleri türler arasında değişkenlik göstermektedir. Daha önce de belirtildiği gibi, genel olarak Gram negatif bakterilerde ilacın birincil hedefi DNA girazken; Gram pozitif bakterilerde topoizomera IV'tür (6,22). Bakterilerin değişik florokinolonlara duyarlılıkları, birincil hedefin hangi enzim olduğuna ve hedef enzimlerin kinolon afinitelerindeki farklara göre değişmektedir (6,7). Kinolon direnci, her biri Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) düzeylerini yükselten birkaç mutasyon sonucunda gelişmektedir. İlk mutasyon, ilacın birincil hedefi olan enzimde meydana gelir. Bu mutasyon, hem ortaya çıkan aminoasit değişikliğinin etkisi, hem de ikincil hedefin ilaca afinitesine bağlı olarak MİK düzeylerine yansır. Bir başka deyişle, eğer ikincil hedefe bağlanabilmek için yüksek ilaç konsantrasyonlarına gerek varsa o zaman MİK düzeyleri belirgin biçimde artacaktır. Buna karşın, her iki hedefin ilaca duyarlılığı birbirine yakınsa MİK düzeylerinde belirgin bir artış saptanmayacaktır. Kinolonların seçici baskısı devam ediyorsa, ilk mutasyonu izleyen ikinci basamakta etkinliğini koruyan ve böylelikle ana hedef haline gelmiş ikincil hedefi etkileyen yeni bir mutasyon meydana gelir. Bu mutasyon sonucunda MİK düzeylerinin yükseldiği görülür. İlaç kullanımı sürüyorsa, bundan sonra da hedef enzimlerden hangisi ilaca

daha duyarlı ise öncelikle onu hedefleyen daha ileri mutasyonlar ve aminoasit değişimleri gerçekleşir ve genellikle MİK düzeyleri de giderek artar. Florokinolon direncinde genel olarak yukarıda özetlendiği gibi basamak tarzında yükselen direnç gelişmesine rağmen, bazı tür ve kinolon kombinasyonlarında durum farklıdır. Örneğin, *S.aureus* ve *P.aeruginosa* gibi türlerde birincil hedefteki tek bir mutasyon bile siprofloksasin direncine yol açabilmektedir. Bu nedenle, tedavide bu tip tür-kinolon kombinasyonlarından kaçınılması gereklidir (11).

Yine ilk basamak mutasyonların varlığının saptanmasında, bunlardan daha kolay etkilenen nalidiksik asit duyarlılığının florokinolon duyarlılığına kıyasla daha iyi bir gösterge olduğu belirtilmektedir (22).

İnfeksiyon bölgesindeki ilaç konsantrasyonları MİK düzeylerinden yüksek olan (bir başka deyişle terapötik indeksi yüksek olan) florokinolonların birinci basamakta mutant seçme olasılıkları düşüktür. Çünkü bu tip mutantlar gelişse bile, yeni MİK değerleri de ilaç konsantrasyonundan düşük olacağı için etkilenip öleceklerdir. Buna karşın, kinolon geçişinin az olduğu infeksiyon bölgeleri ve MİK düzeyine yakın ilaç konsantrasyonları dirençli mutant seçilmesini kolaylaştırmaktadır (6).

2- İlaç geçirgenliğindeki değişimler

Kinolonların Gram negatif bakterideki hedeflerine ulaşabilmeleri için dış membranı ve ardından da sitoplazmik membranı aşmaları gerekir. Florokinolonlar moleküler yapılarının küçük olması ve porinler ile sitoplazmik membrandan geçmelerine engel olmayacak iyonik özellikleri nedeniyle hücre içine kolaylıkla girebilmektedir. Ancak, Omp F gibi bazı porin proteinlerinin kaybı veya değişimi, ilacın sitoplazma içerisindeki konsantrasyonunu düşürerek yüksek düzeyde olmasa da florokinolon direncine yol açabilmektedir (9).

Son yıllarda, florokinolonların hücre içinde etkin konsantrasyona ulaşmasını engelleyen temel mekanizmanın **aktif pompa sistemleri** olduğu belirlenmiştir (7,18). Antimikrobiyal ajanın hücre dışına atılmasını sağlayan aktif pompa sistemlerinin varlığı 20 yıl kadar önce tetrasiklinler için belirlenmiştir (13). Günümüzde ise bu mekanizmanın birçok antibiyotik sınıfına karşı doğal veya kazanılmış dirençte önemli olduğu anlaşılmıştır. Hatta Gram negatif bakterilerin çeşitli antibiyotiklere doğal direncindeki temel rolü eskiden sanıldığı gibi dış membranın değil, aktif pompa sistemlerinin oynadığı belirlenmiştir (1,14,15).

Biyolojik membranlar hidrofilik moleküller için etkin bir bariyer oluşturmalarına karşın, hem hidrofil hem lipofil özellik taşıyan amfilik bileşikler bu membranlardan kolaylıkla geçebilmektedir. Bu nedenle evrim sırasında hücreler amfilik bileşiklerin potansiyel zararlı etkilerinden korunabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar arasında en önemlisi aktif pompa sistemleridir. Aktif pompa sistemleri her tür hücrede (bakteri, maya, küf, insan vb.) bulunmakta ve çeşitli substratları yanı sıra çoğunluğu amfilik olan ilaçlardan da (örneğin antibiyotikler) hücreleri korumaktadır.

Aktif pompa sistemleri, kullandıkları enerji kaynağı, transport yolu, filogenetik özellikleri, yapısal özellikleri ve substrat profillerine göre, **birincil** ve **ikincil aktif transport sistemleri** olarak iki ana gruba ayrılırlar (1). Birincil aktif transport sistemleri arasında, ATP-bağlayan kaset (ATP-binding cassette; ABC) üst ailesine bağlı olan altı aile antibiyotik atılımından sorumludur. Bu aileler özellikle ökaryot hücrelerden antibiyotik atılımında rol oynamaktadır. İkincil aktif transport sistemleri (antiport, simport ve uniportlar) ise 5 üst aile SMR [(Small Multidrug Resistance), MET (Multidrug Endosomal Transporter), MAR (Multi Antimicrobial Resistance), RND (Resistance-Nodulation-Division) ve MFS (Major Facilitator Superfamily)] içerisindeki 10 aileden oluşmaktadır. SMR ve RND üst aileleri sadece prokaryot hücrelerde bulunmaktadır. Sayılan tüm pompa sistemleri arasında ABC üst ailesine ait 4 aile ve MET üst ailesi dışında kalanlar prokaryot hücrede çeşitli antibiyotik sınıflarının atılımında rol oynamaktadır (15). Gram negatif bakterilerin antibiyotik direnci açısından en önemli grup RND üst ailesidir. Bu ailenin üyeleri tipik olarak üç proteinden meydana gelir ve **üç elemanlı pompa sistemleri** olarak adlandırılırlar. Burada iç (sitoplazmik) zar üzerindeki pompa proteini, periplazmik aralıktaki bir membran füzyon proteini aracılığıyla dış membrandaki bir kanal sistemi ile ilişkilidir. Bu yapısal

organizasyon substratların dışarıdan alındığı gibi tekrar dışarı atılmasını sağlamaktadır. Bu sistemlere örnek olarak *E. coli*'nin Acr AB-Tol C, *P.aeruginosa*'nın Mex AB-OprM pompaları verilebilir (10,14,18,20,21). Her iki sistem de florokinolonlar, beta-laktam ajanlar, tetrasiklinler, kloramfenikolün aralarında yer aldığı çeşitli antibiyotiklerin bakteri hücresinden atılımından sorumludur.

Bakterilerdeki pompa sistemleri, substratları olan ilaçlardan herhangi birinin kullanımı ile indüklenebilir ve tüm substratlara karşı direnç gelişimine neden olur (15). Örneğin, *P.aeruginosa* suşlarında, bir beta-laktam ile tedavi sırasında, Mex AB-Opr M ve/veya diğer üç elemanlı pompa sistemlerini kontrol eden regülatör genlerdeki mutasyon ve pompa sistemlerinin aktivasyonu sonucunda, bu suşlar sadece beta-laktamlara değil aynı zamanda kinolonlar, kloramfenikol, tetrasiklinler, trimetoprim de dirençli hale gelmektedir (1,14,15,21). Buna **mar (multiple antibiotic resistance) fenotipi** adı verilmektedir. *E.coli* suşlarında da özellikle kinolonların kullanımı ile benzer bir fenotipin indüksiyonu görülebilmektedir. Hatta salisilatlar gibi antibiyotik dışı maddeler de pompa sistemlerini indükleyebilmektedir.

Kinolon grubu antibiyotiklerin atılımı ile ilgili pompalar, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *S.maltophilia*, *S.aureus*, *S.pneumoniae* gibi insan sağlığı açısından önemli bir çok türde bulunmaktadır (Tablo). Gram negatif bakterilerin kinolon pompa sistemleri RND, Gram pozitiflerinki ise genellikle MFS üst ailesinde yer almaktadır (18,19). Genellikle kinolon direncinin görülebilmesi için pompa sistemlerinin aşırı üretimi gereklidir. Bu da pompa proteinlerinin ekspresyonunu artıran ve kontrol genlerini ilgilendiren kromozomal bir mutasyondan kaynaklanmaktadır. Pompa sisteminin indüklenmesi ile sadece florokinolonlara değil, pompanın substratları olan beta-laktamlar, kloramfenikol, tetrasiklinler, trimetoprim gibi farklı antibiyotiklere karşı **çok direnç** görülmektedir (**mar** fenotipi) (18).

Pompa sistemleri giraz genlerinde tek nokta mutasyonu taşıyan izolatlarda direnç açısından sinerji göstererek MİK düzeylerinin yükselmesine neden olmaktadır. Aktif pompa genlerinin delesyonu ile bu tip suşların MİK düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. Hatta aktif pompa sistemlerinin florokinolonların hücre içi düzeylerini azaltarak iki veya daha fazla mutasyon taşıyan suşların seçilmesini kolaylaştırdığı da öne sürülmektedir. Bu nedenlerle tedavi açısından pompa inhibitörlerinin üzerinde durulmaktadır.

Kinolon grubu ajanların yapılarına bağlı olarak pompa sistemlerinden etkilenmeleri değişebilmektedir. Hidrofobik ve C-7 pozisyonunda büyük bir grup taşıyan kinolonların pompa sistemlerinden daha az etkilendiği bildirilmektedir (17).

3- Diğer direnç mekanizmaları

Jacoby ve ark. (12)'nin bir çalışmasında, *Klebsiella pneumoniae* klinik izolatlarında plazmid kökenli florokinolon direncinden söz edilmektedir. Ancak bu mekanizmanın özellikleri henüz açık değildir.

Tablo. Bakterilerin kinolon direncinde önemli olan bazı pompa sistemleri.

Tür adı	Pompa ailesi	Pompa proteini	Füzyon proteini	Dış membran proteini	Düzenleyici gen
S.aureus	MFS	NorA	-	-	<i>FlqB</i> promoter mutasyonu; <i>arlS</i>
S. pneumoniae	MFS	PmrA	-	-	?
P.aeruginosa	RND	Mex B Mex D Mex F Mex Y	Mex A Mex C Mex E Mex X	Opr M Opr J Opr N Opr M	<i>mex R</i> <i>nfx B</i> <i>nfx C</i> ve <i>mex T</i> <i>mex Z</i>
B.cepacia	RND	Ceo B	Ceo A	Opc M	?
S.maltophilia	RND	Sme B	Sme A	Sme C	<i>smeRS</i>
E.coli	RND	Acr B	Acr A	Tol C	<i>acr R</i> <i>mar A</i> <i>rob A</i> <i>sox S</i>
H.influenzae	RND	Acr B	Acr A	?	?
Salmonella enterica var. typhimurium	RND	Acr B	Acr A	?	?
N. gonorrhoeae	RND	Mtr D	MtrC	Mtr E	<i>mtrR</i>

?: Kesin değil

Mutant önlenim konsantrasyonu ve kinolonlar

Antibiyotik direncinin gelişebilmesi için birbirini izleyen iki olayın gerçekleşmesi gerekmektedir. Bunlardan ilki dirençli mutantların ortaya çıkması, ikincisi ise bunların bakteri popülasyonu içerisinde avantajları nedeniyle seçilerek çoğalmalarıdır. Direnç ile ilgili genetik değişimler, DNA sentezi sırasında belirli bir sıklıkta doğal olarak oluşmaktadır. Dolayısıyla, bir bakteri topluluğunda antibiyotik ile karşılaşmadan önce de dirençli mutantlar bulunmaktadır. Spontan mutasyon adını verdiğimiz bu değişimlerin sıklığı 10^6 - 10^8 bakteride 1'dir. Mutant sayısı bu düşük düzeyde tutulabilir, seçilme ve çoğalma fazı engellenebilirse, az sayıdaki dirençli bakteri konak bağışıklık sistemince kolaylıkla temizlenebilir ve antibiyotiklerin klinik etkinliği korunabilir. Kinolon grubu antibiyotiklerle yapılan çalışmalarda dirençli mutantların seçilerek çoğaltıldığı bir antibiyotik konsantrasyon penceresi bulunduğu gösterilmiştir (**mutant seleksiyon penceresi**; MSP) (23). Bu pencerenin alt sınırı $MİK_{50}$ değeridir. Üst sınırı ise birinci basamak mutantlarının üremesini engelleyen antibiyotik konsantrasyonudur. Dolayısıyla, bu antibiyotik konsantrasyonunda ancak iki mutasyonu bir arada taşıyan (ikinci basamak) mutantlar üreyebilmektedir. Bir bakteri topluluğunda böyle bir mutantın bulunma olasılığı ise 10^{12} - 10^{16} bakteride 1'dir. Eğer bir enfeksiyon bölgesindeki bakteri sa-

yısı, böyle bir mutant görülme olasılığı olan sayıdan düşükse, bir seleksiyon süreci oluşmayacaktır. İşte, mutant üremesine engel olan veya belirgin ölçüde kısıtlayan bu antibiyotik konsantrasyonuna **mutant önlenim konsantrasyonu** (mutant prevention concentration; MPC) adı verilir ve teknik açıdan 10^{10} bakteri/ml içeren bir inokulum yoğunluğunda üreme görülmeyen en düşük konsantrasyon olarak hesaplanır. MSP'nin alt ve üst sınırları ölçülebilir değerler olduğuna göre bu pencerenin dar olduğu - bir başka deyişle, MİK ve MPC arasındaki farkın az olduğu- bileşikler dirençli mutant seçilmesinin engellenmesi açısından daha avantajlıdır. Örneğin, C-8 metoksi bileşiklerin bu açıdan diğer florokinolonlardan üstün olduğu bildirilmektedir. Bir bileşiğin MİK/MPC oranı **seleksiyon indeksi** olarak adlandırılmaktadır. Dolayısıyla, bir antibiyotiğe ait indeks değeri ne kadar düşükse ve antibiyotik serum konsantrasyonlarının MSP'de kaldığı süre ne kadar kısa ise, mutant seleksiyonu da o kadar az olacaktır. Günümüzde direnç probleminin engellenebilmesi için; seleksiyon indeksi düşük ve güvenli olarak MPC üzerindeki serum/doku konsantrasyonlarına ulaşılabilecek dozlarda uygulanabilen bileşiklerin geliştirilmesinin önemli olduğu belirtilmektedir. Bu stratejiler dışında, mutant seleksiyon penceresi kombine ilaç tedavisi ile tamamen de kapatılabilir (23).

Kinolon direncinin saptanması

a. Antibiyotik duyarlılık testleri ve yorumlu antibiyogram:

Kinolon grubu ajanların bakteri türlerine etkinlikleri birbirinden farklıdır. Bu durum olasılıkla bakteri hücrelerine penetrasyon, aktif pompa sistemlerinden etkilenme veya farklı topoizomerazlara öncelikle bağlanma gibi özellikler açısından da aralarında fark bulunmasının bir sonucudur. Ancak direnç, bu gruptaki tüm ajanları etkilemektedir ve bir kinolona dirençli olan bir bakteri diğer kinolonlara da dirençlidir veya duyarlılığı azalmıştır.

Bu nedenle bu grup antibiyotikler için yorumlu antibiyogramın etkinliği kısıtlıdır ancak bazı genel ilkeler bulunmaktadır (11):

- ◆ Öncelikle, yukarıda da belirtildiği gibi, kinolonların değişik patojenlere karşı etkinliği birbirinden farklıdır. Örneğin *Enterobacteriaceae* üyeleri ve nonfermentatif çomaklara en etkin olan ajan siprofloksasindir. Buna karşın, pnömokolar için moksifloksasin ve gemifloksasin etkinliğinin diğerlerinden üstün olduğu bildirilmiştir. Stafilokoklarda ise tüm kinolonlara karşı kolaylıkla direnç gelişebilmektedir.
- ◆ Ayrıca, *Enterobacteriaceae* üyeleri ele alındığında siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, moksifloksasinin etkinlikleri arasındaki fark son derece azdır. Dolayısıyla,

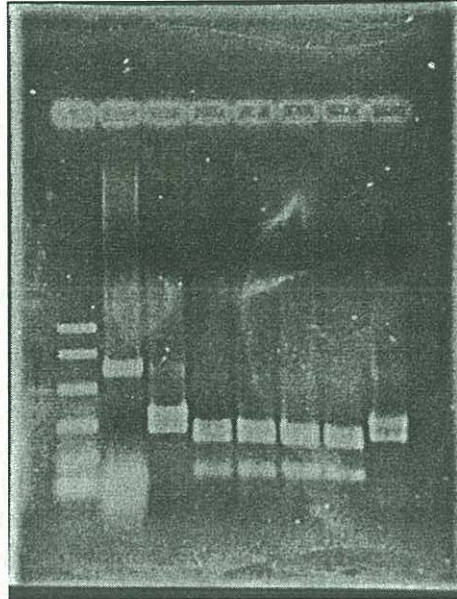
bir izolat bu ajanlardan birine dirençliyse; diğerlerine karşı in-vitro şartlarda duyarlı da gözükse, çok zorunlu olmadıkça bunların tedavide yer almalarından kaçınmak gereklidir.

- ◆ Bunlar dışında, nonfermentatif çomaklar ve Gram pozitif bakteriler, *Enterobacteriaceae* üyeleri ile kıyaslandıklarında kinolonlara doğal olarak daha az duyarlıdırlar. Bu nedenle, kinolon kullanımı sırasında bu türlerde kolaylıkla direnç gelişebileceği unutulmamalıdır.
- ◆ Son olarak, daha önce de belirtildiği gibi nalidiksik asidin, *Salmonella* spp., *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* gibi türlerde kinolon direncinin saptanması açısından florokinolonlardan daha avantajlı olduğu belirtilmektedir.

b. Moleküler yöntemler:

QRDR bölgesindeki değişikliklerin saptanması için PCR-single strand conformational polymorphism (SSCP) yöntemi kullanılabilmektedir (22). Yine *E.coli* suşlarında en sık görülen mutasyon olan Ser 83 mutasyonu *HinfI* restriksiyon enzimi kullanılarak saptanabilmektedir. Serin aminoasitinin değişmesi ile *gyr A* dizisindeki bir *HinfI* restriksiyon bölgesi kaybedilmektedir (Şekil 2).

Mutasyon varlığını saptayan bu hızlı yöntemler yanısıra tam değişimin ne olduğu ise ancak dizgi analizi ile saptanabilmektedir.



Şekil 2. *HinfI* restriksiyon analizi ile Ser 83 mutantlarının saptanması (1: Marker, 2: Kesilmemiş *gyr A* ürünü, 3 ve 4: Ser 83 mutantları, 5-7: Mutasyon bulunmayan suşlar).

Sonuç

Bu derlemeden de görüldüğü gibi kinolon grubu ajanlara karşı direnç ve buna paralel olarak direnç mekanizmaları ile ilgili bilgilerimiz gün geçtikçe artmaktadır. Klinik diren-

cin kontrolü için, çeşitli bakteri türlerinde kinolon direncinin izlenmesi, terapötik indeksi yüksek, mutant önlenim konsantrasyonu düşük ajanların geliştirilmesi ve tedavide kullanılması gereklidir.

KAYNAKLAR

- 1- Bambeke FV, Balzi E, Tulkens PM: Antibiotic efflux pumps, *Biochem Pharmacol* 60:45 (2000).
- 2- Cabral JH, Jackson AP, Smith CV, Shikotra N, Maxwell A, Lidington RC: Crystal structure of the breakage reunion domain of DNA-gyrase, *Nature* 388:903 (1997).
- 3- Doern GV: Antimicrobial use and the emergence of antimicrobial resistance with *Streptococcus pneumoniae* in the United States, *Clin Infect Dis* 33 (Suppl 3):S187 (2001).
- 4- Drlica K: Mechanism of fluoroquinolone action, *Curr Opin Microbiol* 2:504 (1999).
- 5- Hooper DC: New uses for new and old quinolones and the challenge of resistance, *Clin Infect Dis* 30:243 (2000).
- 6- Hooper DC: Mechanisms of action and resistance of older and newer quinolones, *Clin Infect Dis* 31 (Suppl 2):S24 (2000).
- 7- Hooper DC: Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance, *Emerg Infect Dis* 7:337 (2001).
- 8- Jones RN: Resistance patterns among nosocomial pathogens; trends over the past few years, *Chest* 119:397S (2001).
- 9- Kaye KS, Fraimow HS, Abrutyn E: Pathogens resistant to antimicrobial agents; epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management, *Infect Dis Clin North Am* 14:293 (2000).
- 10- Li Z, Nikaido H, Poole K: Role of MexA-MexB-Opr M in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 39:1948 (1995).
- 11- Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP: Interpretive reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes, *J Antimicrob Chemother* 48 (Suppl 1):87 (2001).
- 12- Martinez Martinez L, Pascual A, Jacoby GA: Quinolone resistance from a transferable plasmid, *Lancet* 351:797 (1998).
- 13- Mc Murray L, Petrucci RE Jr, Levy SB: Active efflux of tetracycline encoded by four genetically different tetracycline determinants in *Escherichia coli*, *Proc Natl Acad Sci USA* 77:3974 (1980).
- 14- Nikaido H: Antibiotic resistance caused by Gram negative multidrug efflux pumps, *Clin Infect Dis* 27 (Suppl 1):S32 (1998).
- 15- Nikaido H: Crossing the envelope; how cephalosporins reach their targets, *Clin Microbiol Infect* 6 (Suppl 3):22 (2000).
- 16- Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM et al: Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum β -lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing pneumonia, *Clin Infect Dis* 30:473 (2000).
- 17- Peterson LR: Quinolone molecular structure-activity relationships: what we have learned about improving antimicrobial activity, *Clin Infect Dis* 33 (Suppl 3):S180 (2001).
- 18- Poole K: Efflux mediated resistance to fluoroquinolones in Gram negative bacteria, *Antimicrob Agents Chemother* 44:2222 (2000).
- 19- Poole K: Efflux mediated resistance to fluoroquinolones in Gram positive bacteria and mycobacteria, *Antimicrob Agents Chemother* 44:2595 (2000).
- 20- Poole K, Tetro K, Zhao Q et al: Expression of multidrug resistance operon mex A-mex B-opr M in *Pseudomonas aeruginosa*; mexR encodes a regulator of operon expression, *Antimicrob Agents Chemother* 40:2021 (1996).
- 21- Pumbwe L, Piddock LJW: Two efflux systems expressed simultaneously in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 44:2861 (2000).
- 22- Thomson CJ: The global epidemiology of resistance to ciprofloxacin and the changing nature of antibiotic resistance: a 10 year perspective, *J Antimicrob Chemother* 43 (Suppl A):31 (1999).
- 23- Zhao X, Drlica K: Restricting the selection of antibiotic-resistant mutants: a general strategy derived from fluoroquinolone studies, *Clin Infect Dis* 33 (Suppl 3):S147 (2001).