

PSEUDOMONAS AERUGINOSA DİRENÇ MEKANİZMALARI: AKTİF POMPA SİSTEMLERİ

Hüseyin Agah TERZİ

Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, SAKARYA

ÖZET

Pseudomonas aeruginosa kaynaklı infeksiyonların tedavisinde antibiyotik direnci her geçen gün önemi artan bir konu olup yapısal olarak farklı birçok antibiyotiğe kazanılmış dirençle ilişkili atım pompa sistemleri dikkat çekicidir.

P.aeruginosa atım pompa sistemleri arasında önemli bir yeri olan RND ailesi; MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN ve MexXY-OprM gibi atım pompa sistemlerini içermektedir. İlk tanımlanan atım pompası olan MexAB-OprM farklı sınıflardaki ilaçların hücreden dışarı atılmasını sağlamaktadır. MexAB-OprM'ye yüksek derecede benzerliği olduğu sekans çalışmalarıyla gösterilen MexCD-OprJ pompasının da çeşitli antimikrobiyal ajanların atımında rol oynadığı gösterilmiştir. Benzer şekilde MexEF-OprN de dışarı atımı destekleyen bir diğer pompa sistemidir. Diğer RND atım pompalarının dirence katkıları ve ekspresyonlarını kontrol eden faktörler henüz tanımlanmaya başlanmıştır.

Bu derlemede *P.aeruginosa* antibiyotik direnç mekanizmalarından atım pompa sistemleri hakkında mevcut durum ayrıntılı olarak incelenecektir.

Anahtar sözcükler: atım pompaları, direnç mekanizmaları, *Pseudomonas aeruginosa*

SUMMARY

Pseudomonas aeruginosa Resistance Mechanisms: Efflux Pump Systems

The rise of antibiotic resistance is an increasingly important threat, particularly for infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. One of the primary mechanisms driving this resistance is the overexpression of efflux pump systems, which enable resistance to a wide range of drugs with different constitutional features.

The RND family of efflux pumps, including MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, and MexXY-OprM, represent an important set of efflux systems in *P.aeruginosa*, with a broad range of drug specificities. MexAB-OprM was the first efflux pump found to target multiple classes of drugs. MexCD-OprJ exhibits a high degree of sequence similarity to MexAB-OprM, and has also been shown to extrude a variety of antimicrobial agents. The other efflux pump, MexEF-OprN is able to export. The contributions of the remaining RND efflux pumps to resistance, and the mechanisms governing their expression, have yet to be fully elucidated.

This review focuses on details of efflux pump systems in *P.aeruginosa* resistance mechanisms.

Keywords: efflux pumps, *Pseudomonas aeruginosa*, resistance mechanisms

GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa yüzeyel deri infeksiyonlarından fulminan sepsise kadar geniş bir yelpazede yer alan hastalıklara neden olmaktadır⁽⁵⁾. Bakterinin hem doğal direnci hem de antibiyotiklere direnç geliştirme kabiliyeti, meydana gelen infeksiyonların tedavisinde çoğu

kez zorluklar meydana getirmektedir⁽³²⁾.

Dış membranının geçirgenliğinin az olması (*Escherichia coli* dış membranının geçirgenliğinin 1/100'ü kadar), çeşitli atım pompalarının yapısal ekspresyonu ve doğal olarak bulunan kromozomal AmpC β-laktamaz (sefalosporinaz olarak da bilinir) varlığı söz konusu direncin kaynağı olarak kabul edilmektedir⁽⁴¹⁾.

İletişim adresi: Hüseyin Agah Terzi, Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, SAKARYA

GSM: (0536) 462 86 54

e-posta: agah.terzi@yahoo.com

Alındığı tarih: 07.06.2016, Yayına kabul: 29.09.2016

Pseudomonas'larda β -laktamazlardan sonra en önemli direnç mekanizmaları aktif dışa pompalama sistemleridir. Günümüzde aktif dışa pompalama sistemleri en iyi *P.aeruginosa*'da araştırılmıştır. Aktif dışa pompalama sistemleri yapısal olup normalde düzenleyici genler ile kontrol altındadır. Bu genlerdeki mutasyonlar aktif dışa pompalama sistemlerinin aşırı çalışmasını ve antimikrobiaların de dışarı atılmasına neden olmaktadır⁽⁴¹⁾. *P.aeruginosa*'da MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM aktif dışa pompalama sistemlerinden en iyi tanımlanmış olanı MexAB-OprM aktif dışa pompalama sistemleridir⁽¹⁸⁾. MexAB-OprM aktif pompalama sistemi imipenem hariç tüm β -laktamlara ve kinolonlara direnç oluşturması ile önemlidir⁽¹⁸⁾.

Son zamanlarda artan dirence vurgu yapılarak *P.aeruginosa* izolatlarının direnç mekanizmalarının anlaşılması üzerinde önemle durulmaktadır⁽³⁾. Bu derlemede *P.aeruginosa*'nın antibiyotik direncinde önemli yere sahip mekanizmalardan olan atım pompa sistemleri hakkında mevcut durumun ayrıntılı olarak ortaya konmaya çalışılacaktır.

Atım Aracılı Direnç Mekanizması

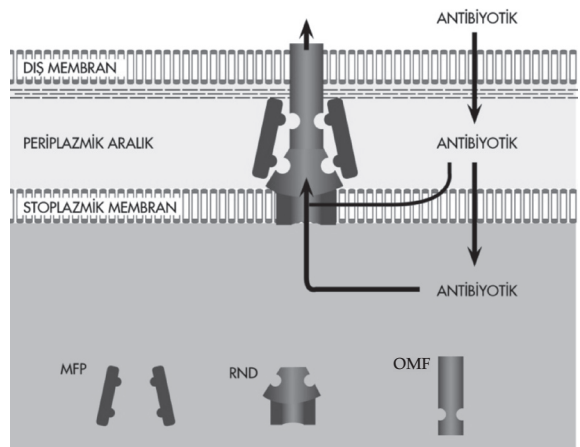
Atım pompaları; aminoasit dizi benzerliği, dışarı atımı sağlamak için gerekli olan enerji kaynağı ve farklı pompaların substrat spesifitelerine bağlı olarak Adenozin 3'-trifosfat (ATP) bağlayan kaset ("ATP binding cassette", ABC), küçük çoklu ilaç direnciyle ilişkili ("Small multidrug resistance", SMR) protein ailesi, majör kolaylaştırıcı süperailisinin ("Major facilitator superfamily", MFS), direnç nodülasyon bölümü ("Resistance-nodulation-division", RND) ve çoklu ilaç ve toksik bileşik parçalama ("Multidrug and toxic compound extrusion") olmak üzere beş üst aileye ayrılmaktadır^(37,45). *P.aeruginosa* genomunun dizi analizinde beş üst ailede atım sistemleri gösterilmekle birlikte pompaların çoğu RND ailesine ait olup 12 farklı RND sistemi (iki metal katyon transport proteini dahil) tanımlanmıştır⁽⁴⁰⁾.

RND pompaları tipik olarak; bir periplazmik membran füzyon proteini (MFP), bir dış membran faktörü (OMF) ve bir sitoplazmik membran transport proteininden (RND) mey-

dana gelen üçlü bir sistemden oluşur (Şekil 1). Bu bileşik bütün membranı kapsayan bir kanal oluşturarak ilaçların periplazmik aralık ve sitoplazmadan hücre dışına transportunu sağlar. Bu pompaları kodlayan genler *P.aeruginosa* kromozomu üzerindeki operonlara yerleşmişlerdir⁽¹⁸⁾.

Her operon MFP ve RND transport proteinlerini kodlayan en az iki genden oluşur. 12 operonun 6 tanesinde üçlü sistemi tamamlayan OMF geni varken diğer operonlarda OMF geni yoktur. Bazı operonların yanında operonun aynı veya farklı bölgesinde transkribe edilen düzenleyici genler vardır ve bunlar pompa ekspresyonunun aktivatörü veya baskılayıcısı olarak görev alırlar⁽¹⁸⁾.

P.aeruginosa'daki 10 RND pompası (iki metal katyon transport proteini hariç); MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY, MexJK, MexGHI-OpmD, MexVW, MexPQ-OpmE, MexMN ve triABC olarak adlandırılır (Tablo 1). Bunlara ek olarak daha önceleri muhtemel bir RND tipi atım pompası bileşenleri olarak bilinen PA2528-PA2527-PA2526-OpmB gen bölgelerinin MuxABC-OpmB olarak adlandırılan RND tipi atım pompasını kodladığı bildirilmiştir⁽²³⁾. Bu pompaların bazılarının substratları ortak iken kendi ekspresyonlarına özgü farklı fenotiplere de sahiptirler. Bu pompaların substratları antibiyotikler, biosidler, boyalar, deterjanlar, organik çözücüler, aromatik hidrokarbonlar ve homoserin laktonlardır^(35,38) (Tablo 1).



Şekil 1. *P.aeruginosa*'daki RND atım pompalarının yapısı ve fonksiyonu.

MFP: membran füzyon proteini; RND: direnç nodülasyon bölümü-sitoplazmik membran transport proteini; OMF: dış membran faktörü.

Tablo 1. *P.aeruginosa*'daki RND atım pompalarının özellikleri^(18,23,38).

Atım Pompası	Komponent	Fonksiyon ^a	Düzenleyici ^b	Substrat (Antibiyotikler)	Substrat (Ek bileşikler)
MexAB-OprM	MexA MexB OprM	MFP RND OMF	MexR NalD	Florokinolonlar, β -laktamlar ve β -laktamaz inhibitörleri, tetrasiklinler, kloramfenikol, makrolidler, novobiyosin, trimetOprim ve sülfonamidler	Biyosidler (ör/triklosan), deterjanlar, boyalar, HSL ^c , aromatik hidrokarbonlar
MexCD-OprJ	MexC MexD OprJ	MFP RND OMF	NfxB	Florokinolonlar, β -laktamlar, kloramfenikol, tetrasiklin, novobiyosin, trimetOprim ve makrolidler	Biyosidler (ör/triklosan), deterjanlar, boyalar, aromatik hidrokarbonlar
MexEF-OprN	MexE MexF OprN	MFP RND OMF	MexT	Florokinolonlar, kloramfenikol, trimetOprim	Biyosidler (ör/triklosan), aromatik hidrokarbonlar
MexXY	MexX MexY OprM/Opm	MFP RND OMF	MexZ	Florokinolonlar, β -laktamlar, tetrasiklin, aminoglikozidler makrolidler ve kloramfenikol	
MexJK	MexJ MexK OprM/OpmH	MFP RND OMF	MexL	Tetrasiklin, eritromisin	Biyosidler (ör/triklosan)
MexGHI-opmD	MexG MexH MexI OpmD	? MFP RND OMF	SoxR	Florokinolonlar	Vanadium
MexVW	MexV MexW OprM	MFP RND OMF		Florokinolonlar, tetrasiklin eritromisin ve kloramfenikol	
MexPQ-opmE	MexP MexQ OpmE	MFP RND OMF		Florokinolonlar, tetrasiklin makrolidler ve kloramfenikol	
MexMN	MexM MexN OprM	MFP RND OMF		Kloramfenikol, tiamfenikol	
triABC	TriA TriB TriC OpmH	MFP MFP RND OMF			Triklolan
MuxABC-OpmB	MuxA MuxB MuxC OpmB	MFP RND RND OMF		Aztreonam, makrolidler, novobiyosin, ve tetrasiklin	

^a: MFP: membran füzyon proteini; RND: direnç nodülasyon bölümü-sitoplazmik membran transport proteini; OMF: dış membran faktörü;

^b: Düzenleyici proteinler atım pompa gen ekspresyonlarını kontrol eder

^c: Homoserin lakton

?: fonksiyonu bilinmeyen bir protein kodlar

MexAB-OprM Atım Pompası

P.aeruginosa'daki ilk keşfedilen çoklu ilaç atım pompası olan MexAB-OprM; florokinolonlar, tetrasiklinler, kloramfenikol, β -laktamlar, β -laktamaz inhibitörleri, makrolidler, novobiyosin, trimetoprim ve sülfonamidler gibi farklı sınıflardaki ilaçların hücreden dışarı atılmasını sağlamaktadır⁽¹⁸⁾.

MexAB-OprM operonunun ekspresyonunu çeşitli düzenleyici gen bölgeleri etkilemektedir. Düzenleyici proteinlerden MarR ailesinden bir represör olan MexR, MexAB-OprM operonunun transkripsiyonunu baskılar ve kendi ekspresyonunda negatif yönde öz düzenlenim yapar^(11,37). MexAB-OprM operonunun ikinci bir düzenleyici faktörü olan NalD, TetR ailesinden

bir baskılayıcıdır. NaID'nin bağlanması proximal MexA başlatıcısından itibaren ekspresyonu sınırlar⁽²⁶⁾.

MexAB-OprM ekspresyonuna ilişkin iki özellik gösterilmiştir. Birincisi, MexAB-OprM'nin üreme fazı bağımlı ekspresyonudur⁽¹²⁾. Üreme döngüsü ilerledikçe ve hücre yoğunluğu arttıkça, geç log faz/erken sabit fazda maksimum ekspresyon oluşana kadar MexAB-OprM transkripsiyonu da artar. Üreme fazı bağımlı "up-regülasyonun" bir "quorum sensing" sinyali gerektirdiği ileri sürülmektedir⁽⁴⁶⁾. MexAB-OprM ekspresyonuyla ilişkili gösterilen ikinci özellik; OMF geni OprM'nin MexAB'den bağımsız eksprese edilmesidir⁽⁵⁰⁾.

RND atım pompalarından MexAB-OprM, β -laktam sınıfında en geniş substrat profiline sahiptir. Fakat MexAB-OprM atım pompasının *P.aeruginosa*'daki imipenem direncinde etkisi yoktur. İmipenem direncinde etkisiz oluşu aşırı üretim yapan mutantlardaki meropenem minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinde artış görülmesine rağmen imipenem MİK değerlerinde artış olmaması ile açıklamaktadır⁽¹⁸⁾. Cabot ve ark.⁽⁶⁾'nın çalışmasında meropenem dirençli izolatlar arasında *MexB* atım pompa genlerinin aşırı ekspresyonu sıklıkla bildirilmektedir. Bir başka çalışmada ise, *MexB* aşırı eksprese eden izolatların % 62.5'inde meropenem direncine ilave olarak % 90 oranında *OprD* ekspresyonunda azalma bildirilmiştir⁽⁴⁹⁾. Karbapenem dirençli izolatlarda MexAB-OprM ve MexCD-OprJ atım pompalarının incelediği bir çalışmada meropenem dirençli izolatlarda *MexB* transkripsiyonunda artış olduğu bildirilmiştir⁽¹³⁾. *MexB*'de ve *MexD*'de artış görülmeyen bazı izolatlarda atım pompa inhibisyon testinin pozitif bulunması da bu izolatlarda başka atım pompalarının aktif olabileceği ileri sürülmüştür⁽¹³⁾.

MexCD-OprJ Atım Pompası

MexAB-OprM'ye yüksek derecede benzerliği olduğu gösterilen MexCD-OprJ; florokinolonlar, β -laktamlar, kloramfenikol, tetrasiklin, novobiyosin, trimetoprim ve makrolidler gibi çeşitli antimikrobiyal ajanların hücreden dışarı atılmasını sağlamaktadır⁽¹⁸⁾. MexAB-OprM'den farklı olarak MexCD-OprJ'nin β -laktamlarda

geniş bir substrat profili yoktur.

MexCD-OprJ'nin ekspresyonu, *nfxB* geninin ürünüyle kontrol altında tutulur, bu gen MexCD-OprJ ekspresyonunu negatif yönde düzenler⁽³⁴⁾. *nfxB*'deki mutasyonların; *nfxB*'nin baskılayıcı aktivitesini değiştirerek MexCD-OprJ'nin aşırı ekspresyonuna sebep olduğu ileri sürülmektedir; bunlara da *nfxB* tipi mutantlar denilmektedir. Laboratuvar ve klinik izolatlarda *nfxB*'de baz değişiklikleri, delesyonlar ve inserasyon sekans (IS) elemanı ile ilişkili çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır⁽³⁴⁾.

Atım pompa sistemlerinin incelendiği bir başka çalışmada ise karbapenem dirençli izolatlarda MexXY-OprM (% 37.5)'den sonra ikinci sıklıkta MexCD-OprJ (% 31) aşırı ekspresyonu görülmüştür⁽¹³⁾. Benzer bir çalışmada ise *MexD* aşırı ekspresyonu tespit edilen florokinolon dirençli *P.aeruginosa* izolatlarının tümünde topozimerazdaki mutasyonlarla açıklanamayan yüksek florokinolon MİK değeri bulunmuş ve dolayısıyla MexCD aşırı üretiminin antibiyotik direnci üzerine etkisini anlamlı bulmuşlardır⁽³⁰⁾. Diğer bir çalışmada ise izole kinolon dirençli gruptaki izolatların tümünde *MexD* aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir. Ayrıca yalnız kinolon ve karbapenem dirençli grupta incelenen genlerden *OprD*, *MexB* ve *MexF* genlerinde sadece bir izolatta anlamlı değişiklik, *MexD* aşırı ekspresyonu ise tüm izolatlarda saptanmış ve bu pompa kinolon direnciyle ilişkili bulunmuştur⁽⁴⁴⁾.

P.aeruginosa PAO1 suşlarında MexCD-OprJ çoklu ilaç atım pompa indüksiyonunun araştırıldığı bir çalışmada MexCD-OprJ'nin önemli dezenfektanlarla indüklendiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar dezenfektanların sık olarak kullanıldığı hastanelerde MexCD-OprJ'nin *P.aeruginosa*'daki intrensek çoklu ilaç direncinde önemli rol oynadığını göstermiştir⁽²⁷⁾. Klinikle ilişkili biosidler MexCD-OprJ'yi indüklediğinden *P.aeruginosa*'da kullanılan antibiyotiklere direnci de arttırmaktadır. Muhtemelen bunun dışında çeşitli bileşenlerde MexCD-OprJ operonunu indükleyebilir. Bu nedenlerden dolayı MexCD-OprJ, MexAB-OprM ve MexXY-OprM'e ilave olarak *P.aeruginosa*'da kinolonlara ve diğer antibakteriyel ajanlara dirençte önemli bir rol oynayabilir⁽⁴²⁾.

MexEF-OprN Atım Pompası

1997 yılında tanımlanan MexEF-OprN ürünlerinin, MexAB-OprM ve MexCD-OprJ bileşenlerine aminoasit benzerliği gösterilmiştir⁽¹⁵⁾. MexEF-OprN; florokinolonlar, kloramfenikol ve trimetoprimin hücreden dışarı atılmasını sağlamaktadır. Fakat pompanın kullanımda olan β -laktamlara belli bir afinitesi yoktur⁽¹⁵⁾.

MexEF-OprN regülasyonunda, MexAB-OprM'nin ve MexCD-OprJ'nin operon ekspresyonunu baskılayan negatif regülatör proteinler görev almamaktadır. Birçok faktör MexEF-OprN transkripsiyonunu kontrol edebilmektedir. *MexT*, transkripsiyonel aktivatörlerin LysR ailesinden olan ve MexEF-OprN ekspresyonunu pozitif yönde düzenleyebilen bir protein kodlar^(14,29).

MexEF-OprN ekspresyonu, histon benzeri nükleotid düzenleyici protein ailesinin bir üyesi olan MvaT tarafından da kontrol edilir. MvaT; virülans genlerinin, "housekeeping" genlerin ve biofilm oluşumunda gerekli olan genlerin global düzenleyicisi olarak görev alır^(7,47). MvaT, DNA'ya bağlanır ve adenin-timinden (AT) zengin bölgenin karşısında yüksek bir afiniteyle oligomerleşir. Sonuç olarak belli genlerin ekspresyonu susturulur⁽⁴⁷⁾. MvaT'nin delesyonu *MexT* veya *MexS*'ye bağımlı olmayan MexEF-OprN ekspresyonunda artışa neden olmaktadır⁽⁴⁷⁾.

Kompleks bir ko-regülatör yol olan MexEF-OprN atım pompasının aşırı yapımı ile *OprD* porininin "down-regülasyonunun" veya "up-regülasyonunun" eş zamanlı olduğu yolda florokinolon ve karbapenemlerin her ikisinin potensine etki eden mutasyon meydana gelir. Günümüzde *P.aeruginosa*'da MexEF-OprN ve *OprD*'nin ko-regülasyonu ile direkt veya indirekt bağlantılı olarak üç protein; *MexT*, *MexS* ve MvaT tanımlanmıştır⁽¹⁸⁾.

MexT aracılığıyla MexEF-OprN aşırı eksprese eden *P.aeruginosa* suşları, atım pompasının substratları olan antibiyotiklere dirençli hale gelir. Fakat bu suşlar MexEF-OprN atım pompası tarafından çıkarılmayan imipeneme de duyarlılığını kaybederler. Daha doğrusu, imipeneme olan duyarlılığın kaybı, eş zamanlı olan *OprD* ekspresyonunda ve *OprD*'de azalmayla ilişkilidir^(15,29). Atım pompasının aşırı ekspresyo-

nu ile porin kaybı arasındaki bağlantı için *MexT* ile ko-regülasyon gerekmektedir. Çalışmalar *MexT*'nin tek başına, transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel düzeyde *OprD*'yi "down-regüle" edebildiğini ve *OprD* miktarında anlamlı bir azalmaya yol açabildiğini göstermiştir^(15,29).

MexS'deki mutasyonlar, eş zamanlı olarak MexEF-OprN aşırı ekspresyonu ve *OprD* ekspresyonunun "down-regülasyonu" ile ilişkilidir. MexEF-OprN'nin regülasyonunda, *MexS*'nin inaktivasyonu ile *MexT* için efektör molekül vazifesi gören ve aktivasyonu takiben *OprD* ekspresyonunun "down-regülasyonuna" aracılık eden metabolitlerin oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir⁽³⁹⁾.

MexEF-OprN ekspresyonunun *MexT* ve MvaT ile regülasyonu, *OprD* ko-regülasyonu ile imipenem duyarlılığına etki edebilir. Fakat MexEF-OprN ve *OprD*'nin ko-regülasyonu her zaman gözlenmez. Örneğin yakın zaman önceki bir çalışmada, MexEF-OprN'yi aşırı eksprese eden izogenik bir mutant, imipenem duyarlılığında, *OprD* transkript düzeylerinde veya dış membrandaki *OprD* düzeylerinde hiçbir değişiklik göstermemiştir. *MexT*, *MexS* ve mvaT regülatör genlerinin dizi ve ekspresyon analizinde, mutantta her hangi bir genetik değişiklik görülmemesi eş zamanlı *OprD* regülasyonu olmadan MexEF-OprN regülasyonunun alternatif bir yolu olduğunu akla getirmektedir⁽⁴⁸⁾. Son zamanlardaki çalışmalar *P.aeruginosa*'da MexEF-OprN'nin regülasyonunun daha kompleks olduğunu ve daha tanımlanmamış yolların olabileceği ileri sürmektedir.

MexXY Atım Pompası

MexXY, *P.aeruginosa* kromozomundan 1999 yılında klonlanmıştır. Pompa, MexAB-OprM, MexCD-OprJ ve MexEF-OprN sistemleriyle benzer özellikler göstermektedir⁽²⁴⁾. Fakat diğer atım pompa sistemlerindeki operonlardan farklı olarak MexXY'de dış membran proteini kodlayan gen yoktur. Bunun yerine MexXY fonksiyonel bir üçlü sistem oluşturmak için OprM ile ve muhtemelen OpmB, opmG, opmH ve opmI gibi diğer dış membran proteinleriyle de bağlantı kurabilmektedir^(8,28). Florokinolonlar, spesifik β -laktamlar (Ör/sefepim), aminoglikozidler, tetrasiklin, kloramfenikol ve eritromisin

MexXY'nin substratlarıdır⁽³³⁾. Hücreler tetrasiklin, eritromisin, gentamisin varlığında ürettiği zaman MexXY ekspresyonu indüklenir. Sokak suşlarında MexXY delesyonu bu antibiyotiklere olan duyarlılığı artırır. Bu durum bu pompanın intrinsek dirence katkısının olduğu düşünmektedir. MexXY'nin florokinolonlara karşı intrinsek dirence katkısı yoktur. Çünkü bu ajanlar MexXY ekspresyonunu indükleyemezler⁽¹⁹⁾.

Üst yollara lokalize olan fakat MexXY'de farklı yerde transkribe olan *MexZ* geni ürünü, operonun ekspresyonunu negatif yönde düzenler. *MexZ*, transkripsiyonel regülatörlerden TetR ailesine aittir ve karakteristik bir N-terminal sarmal-kıvrım-sarmal ("helix-turn-helix") DNA bağlanma bölgesi içerir⁽²⁰⁾.

MexJK Atım Pompası

MexJK operonunda da OMF kodlayan gen bulunmaz, fakat üç bileşenli sistem ya *OprM* ya da *OprH*'in ilavesiyle oluşturulur. MexJK-OpmH triklozanı hücreden dışarı atarken, MexJK-OprM eritromisini ve tetrasiklini dışarı atar. MexJK'nun sokak suşunda ("wild type") eksprese edilmediği bildirilmiştir⁽⁹⁾.

Diğer RND Atım Pompaları

Diğer RND atım pompalarının dirence katkıları ve ekspresyonlarını kontrol eden faktörler tanımlanmaya yeni başlamıştır. Çeşitli fenotiplerdeki klinik izolatlardaki "up" veya "down-regülasyonları" yeni bildirilmektedir. MexGHI-OpmD ekspresyonu sokak suşunda bulunmaktadır ve transkripsiyonel regülatörlerden MerR ailesine ait olan SoxR, redoks aktif proteininin kontrolü altındadır^(2,31). Norfloksasin, MexGHI-OpmD'nin antibiyotik olarak tek substratı olarak bildirilmiştir fakat bu pompa vanadium gibi antibiyotik dışı bileşikler de dışarı atabilmektedir. İlginç olarak MexGHI-OpmD eksprese edebilen bir mutantta tetrasiklin ve tikarsilin-klavulanata duyarlılıkta azalma görülmüştür⁽²⁾. Diğer bir çalışmada MexI ve opmD mutantları da kanamisin, spektinomisin, karbenisilin, nalidiksit asit, tetrasiklin ve kloramfenikole duyarlılıkta azalma göstermiştir⁽¹⁾. Belki de *P.aeruginosa*'daki MexAB-OprM mutantlarında görülen MexCD-OprJ ve MexEF-OprN aşırı ekspresyonu gibi, MexGHI-OpmD'nin

kayıbı, diğer RND atım pompalarının aşırı ekspresyonuna neden olmaktadır⁽¹⁶⁾.

MexVW; florokinolon, tetrasiklin, kloramfenikol ve eritromisini dışarı atmak için OprM'yi ve henüz tanımlanmamış dış membran proteinlerini kullanmaktadır⁽¹⁷⁾. MexPQ-OpmE, alıcı ("recipient") izolatta florokinolon, tetrasiklin, kloramfenikol ve bazı makrolidlerin MİK değerlerini yükseltmiştir. MexMN'nin OprM'nin bileşimini içeren alıcıda kloramfenikole ve tiamfenikole karşı duyarlılık azalmıştır⁽²⁵⁾.

triABC, *P.aeruginosa*'da en son tanımlanan RND atım pompasıdır. triABC, substrat dışı atımında gerekli olan MFB'leri kodlayan triA ve triB ile diğer RND operonlarından ayrılır. OMF opmH, triABC ile birlikte triklozanı dışarı atabilen bir pompa oluşturur. Bu pompa için substrat olarak bir antibiyotik bildirilmemiştir⁽²²⁾.

MuxABC-OpmB; *P.aeruginosa*'da RND sistemine ait en son bildirilen atım pompasıdır⁽²³⁾. Mutant suşlarla yapılan çalışmalarda bu pompanın yokluğunda aztreonam, makrolidler, novobiyosin ve tetrasikline dirençte artış gözlenmiştir⁽²³⁾.

PA2528-PA2527-PA2526-OpmB geni, *MuxABC-OpmB* olarak adlandırılan RND tipi atım pompasını kodlamaktadır. MuxABC-OpmB sistemi iki RND bileşeni (MuxB ve MuxC), bir MFP (MuxA) ve bir OMP (OpmB) içermektedir. Bunun gibi bir RND atım pompası ilk olarak *E.coli*'de (MdtABCD) bildirilmiştir⁽⁴⁾. *P.aeruginosa*'da ise en son bildirilen atım pompasıdır⁽²³⁾.

SONUÇ

P.aeruginosa, bakteriyel dirençte bilinen birçok enzimatik ya da mutasyonel mekanizmalara sahiptir. Bu mekanizmalar çoğu kez eş zamanlı olarak bulunmakta ve çoklu dirence neden olmaktadır^(21,32). *MexB* transkripsiyonundaki artışın genel olarak meropenem direnciyle ilişkili bulunduğu bir çalışmada, *MexB* mRNA'da anlamlı bir değişiklik göstermeyen yüksek düzey meropenem dirençli bir izolata dizi analizinde *nalB* mutasyonu gösterilmiştir⁽¹⁰⁾. *MexB* mRNA'da daha yüksek bir artış olması beklenen bu izolatta incelenen diğer atım pompa genlerinden *MexF* ve *MexY* aşırı ekspresyonu da tes-

pit edilmemiş ve atım pompa inhibitörünün etkisine de rastlanılmamıştır. Bu bulgulara bakıldığında çoğu izolatin birden çok direnç mekanizmasına sahip olduğu ve atım ilişkili direncin de bu mekanizmalardan sadece bir tanesi olabileceği sonucuna varmışlardır⁽¹⁰⁾. Başka bir çalışmada ise izole karbapenem dirençli izolatlarda görülen *OprD* miktarındaki azalma ile imipenem ve meropenem MİK değerlerindeki eş zamanlı artış, *OprD*'nin karbapenem direncindeki etkisini kuvvetle desteklese de atım pompalarının aşırı ekspresyonlarının da eş zamanlı olarak görülebilmesi direnç gelişimindeki sinerjistik etkinin rolünü düşündürmektedir⁽⁴³⁾.

Dirençli klinik izolatlardaki bazıları için hala tanımlanmış net bir mekanizma yoktur. Bu yüzden yüksek düzey dirençli izolatlarda çeşitli mekanizmaların sinerjistik etkisi söz konusudur. Mevcut direnç fenotipik farklılıklar ya da genetik değişikliklerle bütünüyle ifade edilemeyebilir.

KAYNAKLAR

1. Aendekerk S, Diggle SP, Song Z et al. The MexGHI-OpmD multidrug efflux pump controls growth, antibiotic susceptibility and virulence in *Pseudomonas aeruginosa* via 4-quinolone-dependent cell-to-cell communication, *Microbiology* 2005;151(Pt 4):1113-25.
<http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.27631-0>
2. Aendekerk S, Ghysels B, Cornelis P, Baysse C. Characterization of a new efflux pump, MexGHI-OpmD from *Pseudomonas aeruginosa* that confers resistance to vanadium, *Microbiology* 2002; 148(Pt 8):2371-81.
<http://dx.doi.org/10.1099/00221287-148-8-2371>
3. Aykan ŞB, Çiftçi İH. Changes in antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates over the past 11 years in Turkey: a meta-analysis, *Mikrobiyol Bul* 2015;49(3):352-65.
<http://dx.doi.org/10.5578/mb.9734>
4. Baranova N, Nikaido H. The baeSR two-component regulatory system activates transcription of the yegMNOB (mdtABCD) transporter gene cluster in *Escherichia coli* and increases its resistance to novobiocin and deoxycholate, *J Bacteriol* 2002;184(15):4168-76.
<http://dx.doi.org/10.1128/JB.184.15.4168-4176.2002>
5. Blondel-Hill E, Henry DA, Speert DP. *Pseudomonas*, "Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML, Tenover JC, Tenover FC (eds). Manual of Clinical Microbiology, 9. baskı" kitabında s.734-48, ASM Press, Washington (2007).
6. Cabot G, Ocampo-Sosa AA, Tubau F et al. Overexpression of AmpC and efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from bloodstream infections: prevalence and impact on resistance in a Spanish multicenter study, *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(5):1906-11.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01645-10>
7. Castang S, McManus HR, Turner KH, Dove SL. H-NS family members function coordinately in an opportunistic pathogen, *Proc Natl Acad Sci* 2008;105(48):18947-52.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0808215105>
8. Chuanchuen R, Murata T, Gotoh N, Schweizer HP. Substrate-dependent utilization of OprM and OpmH by the *Pseudomonas aeruginosa* MexJK efflux pump, *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(5):2133-36.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.49.5.2133-2136.2005>
9. Chuanchuen R, Narasaki CT, Schweizer HP. The MexJK efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* requires OprM for antibiotic efflux but not for efflux of triclosan, *J Bacteriol* 2002;184(18):5036-44.
<http://dx.doi.org/10.1128/JB.184.18.5036-5044.2002>
10. El Amin N, Giske CG, Jalal S, Keijsers B, Kronvall G, Wretling B. Carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: alterations of porin OprD and efflux proteins do not fully explain resistance patterns observed in clinical isolates, *APMIS* 2005;113(3):187-96.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2005.apm1130306.x>
11. Evans K, Adewoye L, Poole K. MexR repressor of the MexAB-OprM multidrug efflux operon of *Pseudomonas aeruginosa*: identification of MexR binding sites in the MexA-MexR intergenic region, *J Bacteriol* 2001;183(3):807-12.
<http://dx.doi.org/10.1128/JB.183.3.807-812.2001>
12. Evans K, Poole K. The MexA-MexB-OprM mul-

- tidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa* is growth-phase regulated, *FEMS Microbiol Lett* 1999;173(1):35-9.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13481.x>
13. Giske CG, Buaro L, Sundsfjord A, Wretling B. Alterations of porin, pumps, and penicillin-binding proteins in carbapenem resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbial Drug Resistance* 2008;14(1):23-30.
<http://dx.doi.org/10.1089/mdr.2008.0778>
 14. Kohler T, Epp SF, Curty LK, Pechere JC. Characterization of MexT, the regulator of the MexE-MexF-OprN multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*, *J Bacteriol* 1999;181(20):6300-05.
 15. Kohler T, Michea-Hamzehpour M, Henz U, Gotoh N, Curty LK, Pechere JC. Characterization of MexE-MexF-OprN, a positively regulated multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*, *Mol Microbiol* 1997;23(2):345-54.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.2281594.x>
 16. Li XZ, Barre N, Poole K. Influence of MexA-MexB-OprM multidrug efflux system on expression of the MexC-MexD-OprJ and MexE-MexF-OprN multidrug efflux systems in *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 2000;46(6):885-93.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/46.6.885>
 17. Li Y, Mima T, Komori Y et al. A new member of the tripartite multidrug efflux pumps, MexVW-OprM, in *Pseudomonas aeruginosa*, *J Antimicrob Chemother* 2003;52(4):572-75.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg390>
 18. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms, *Clin Microbiol Rev* 2009;22(4):582-610.
<http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00040-09>
 19. Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T. Contribution of the MexX-MexY-OprM efflux system to intrinsic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(12):2242-46.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.44.9.2242-2246.2000>
 20. Matsuo Y, Eda S, Gotoh N, Yoshihara E, Nakae T. MexZ- mediated regulation of MexXY multidrug efflux pump expression in *Pseudomonas aeruginosa* by binding on the MexZ-MexX intergenic DNA, *FEMS Microbiol Lett* 2004;238(1):23-8.
 21. McGowan JE Jr. Resistance in nonfermenting gram negative bacteria: multidrug resistance to the maximum, *Am J Infect Control* 2006;34(5 Suppl 1):29-37. PMID:16813979
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.226>
 22. Mima T, Joshi S, Gomez-Escalada M, Schweizer HP. Identification and characterization of TriABC-OpmH, a triclosan efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* requiring two membrane fusion proteins, *J Bacteriol* 2007;189(21):7600-09.
 23. Mima T, Kohira N, Li Y et al. Gene cloning and characteristics of the RND-type multidrug efflux pump MuxABC-OpmB possessing two RND components in *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbiology* 2009;155(Pt 11):3509-17.
<http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.031260-0>
 24. Mine T, Morita Y, Kataoka T, Mizushima T, Tsuchiya T. Expression in *Escherichia coli* of a new multidrug efflux pump, MexXY, from *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(2):415-17.
 25. Mima T, Sekiya H, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. Gene cloning and properties of the RND-type multidrug efflux pump, MexPQ-OpmE and MexMN-OprM from *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbiol Immunol* 2005;49(11):999-1002.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1348-0421.2005.tb03696.x>
 26. Morita Y, Cao L, Gould VC, Avison MB, Poole K. nalD encodes a second repressor of the MexAB-OprM multidrug efflux operon of *Pseudomonas aeruginosa*, *J Bacteriol* 2006;188(24):8649-54.
<http://dx.doi.org/10.1128/JB.01342-06>
 27. Morita Y, Murata T, Mima T et al. Induction of MexCD-OprJ operon for a multidrug efflux pump by disinfectants in wild-type *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *J Antimicrob Chemother* 2003;51(4):991-94.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg173>
 28. Murata T, Gotoh N, Nishino T. Characterization of outer membrane efflux proteins OpmE, OpmD and OpmB of *Pseudomonas aeruginosa*: molecular cloning and development of specific antisera, *FEMS Microbiol Lett* 2002;217(1):57-63.

- <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2002.tb11456.x>
29. Ochs MM, McCusker MP, Bains M, Hancock RE. Negative regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane porin OprD selective for imipenem and basic amino acids, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43(5):1085-90.
30. Oh H, Stenhoff J, Jalal S, Wretling B. Role of efflux pumps and mutations in genes for topoisomerases II and IV in fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains, *Microb Drug Resist* 2003;9(4):323-28.
<http://dx.doi.org/10.1089/107662903322762743>
31. Palma M, Zurita J, Ferraras JA, et al. *Pseudomonas aeruginosa* SoxR does not conform to the archetypal paradigm for SoxR-dependent regulation of the bacterial oxidative stress adaptive response, *Infect Immun* 2005;73(5):2958-66.
<http://dx.doi.org/10.1128/IAI.73.5.2958-2966.2005>
32. Pechere JC, Kohler T. Patterns and modes of beta-lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, *Clin Microbiol Infect* 1999;5(Suppl 1):15-8. PMID:11869272
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.1999.tb00719.x>
33. Poole K. Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in gram-negative bacteria, *Curr Pharm Biotechnol* 2002;3(2):77-98.
<http://dx.doi.org/10.2174/1389201023378454>
34. Poole K, Gotoh N, Tsujimoto H et al. Overexpression of the MexC-MexD-OprJ efflux operon in nfxB-type multidrug resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Mol Microbiol* 1996; 21(4):713-24.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.1996.281397.x>
35. Poole K, Srikumar R. Multidrug efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: components, mechanisms, and clinical significance, *Curr Top Med Chem* 2001;1(1):59-71.
<http://dx.doi.org/10.2174/1568026013395605>
36. Saier MH, Paulsen IT, Sliwinski MK, Pao SS, Skurray RA, Nikaido H. Evolutionary origins of multidrug and drug-specific efflux pumps in bacteria, *FASEB J* 1998;12(3):265-74.
37. Saito K, Eda S, Maseda H, Nakae T. Molecular mechanism of MexR-mediated regulation of MexAB-OprM efflux pump expression in *Pseudomonas aeruginosa*, *FEMS Microbiol Lett* 2001;195(1):23-28.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1097\(00\)00539-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-1097(00)00539-5)
38. Schweizer HP. Efflux as a mechanism of resistance to antimicrobials in *Pseudomonas aeruginosa* and related bacteria: unanswered questions, *Genet Mol Res* 2003;2(1):48-62.
39. Sobel ML, Neshat S, Poole K. Mutations in PA2491 (MexS) promote MexT-dependent MexEF-OprN expression and multidrug resistance in a clinical strain of *Pseudomonas aeruginosa*, *J Bacteriol* 2005;187(4):1246-53.
<http://dx.doi.org/10.1128/JB.187.4.1246-1253.2005>
40. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL et al. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen, *Nature* 2000; 406(6799):959-64.
<http://dx.doi.org/10.1038/35023079>
41. Strateva T, Yordanov D. *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance, *J Med Microbiol* 2009;58(9):1133-48.
<http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.009142-0>
42. Terzi HA. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotiklere direnç mekanizmalarında aktif atım pompaları ve porin proteinlerinin etkisinin araştırılması, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Uzmanlık Tezi. Sakarya (2012).
43. Terzi HA, Kulah C, Atasoy AR, Ciftci IH. Investigation of OprD porin protein levels in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates, *Jundishapur J Microbiol* 2015;8(12):e25952.
44. Terzi HA, Kulah C, Ciftci IH. The effects of active efflux pumps on antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, *World J Microbiol Biotechnol* 2014;30(10):2681-7.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11274-014-1692-2>
45. Van Bambeke R, Balzi E, Tulkens PM. Antibiotic efflux pumps, *Biochem Pharmacol* 2000;60(4):457-70.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952\(00\)00291-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952(00)00291-4)
46. Van Delden C, Iglewski BH. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections, *Emerg Infect Dis* 1998;4(4):551-60.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid0404.980405>
47. Westfall LW, Carty NL, Layland N, Kuan P, Colmer-Hamood JA, Hamood AN. mvaT mutation modifies the expression of the *Pseudomonas*

- aeruginosa multidrug efflux operon MexEF-OprN, *FEMS Microbiol Lett* 2006;255(2):247-54.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2005.00075.x>
48. Wolter DJ, Hanson ND, Lister PD. Novel mechanism of MexEF-OprN efflux pump overexpression in *Pseudomonas aeruginosa* without coregulation of OprD expression, 48th Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother, abstr. C1-1058, Washington (2008).
49. Xavier DE, Picao RC, Girardello R, Fehlberg LC, Gales AC. Efflux pumps expression and its association with porin down-regulation and β -lactamase production among *Pseudomonas aeruginosa* causing bloodstream infections in Brazil, *BMC Microbiology* 2010;10:217.
<http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-10-217>
50. Zhao Q, Li XZ, Srikumar R, Poole K. Contribution of outer membrane efflux protein OprM to antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* independent of MexAB, *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(7):1682-86.