

AMİNOGLİKOZİT GRUBU ANTİBİYOTİKLER VE BUNLARA KARŞI GELİŞEN DİRENÇ MEKANİZMALARI

Deniz GÜR

Aminoglycoside antibiotics and resistance mechanisms against them.

Aminoglikozit antibiyotikler klinikte, özellikle hastanede gelişen infeksiyonların tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır. Spektinomisin hariç tüm aminoglikozitlerin yapısında amino şekerleri bulunmaktadır. Spektinomisinin esas yapısının aminosiklitol olmasına karşın bu grubu dahil edilmiştir (6). Bu antibiyotikler streptidin veya 2-deoksistreptamin içermelerine göre iki esas gruba ayrılmaktadır (3,6,13). Streptidin içeren grupta klinik önemi olan tek bileşik streptomisindir. 2-deoksistreptamin içeren grup ise kendi içinde ikiye ayrılabilir. Bunlar 2-deoksistreptaminin 4'üncü ve 5'inci pozisyonda bağlandığı neomisin, paromamisin, lividomisin ve butirosin, ya da 4'üncü ve 6'inci pozisyonda bağlandığı kanamisin, amikasin, tobramisin, gentamisin, sisomisin ve netilmisindir (6,16).

Aminoglikozitlerin bakteri hücresinde giriş:

Aminoglikozitlerin hücre içine girişü üç evrede gerçekleşmektedir. Birinci evre enerji gerektirmemekte, bu evrede iyonik etkileşimler sonucu hücre yüzeyine bağlanma olmaktadır. Bu evredeki bakteri ölümü ortamındaki ilaç konsantrasyonuna bağlıdır (5). İkinci evre, enerji gerektiren Faz-I (EDP-I) olarak tanımlanmaktadır. Bu evrede aminoglikozitler, hücre içi ve dışı arasında oluşan proton gradienti ile hücre içine girmektedir. Bu evre hiperozmolarite, düşük pH ve anaerobik koşullarda engellenmektedir. Enerji gerektiren Faz-II (EDP-II) antibiyotiğin ribozomlara bağlanmasıından sonra oluşan, daha hızlı bir olaydır ve potasyum iyonlarının kaybı sonucu membran potansiyelinin artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (6,13).

Aminoglikozitlerin etki mekanizması:

Aminoglikozit antibiyotiklerin bakteri hücresindeki hedefleri ribozomlardır. Bu antibiyotikler ribozoma irreversible olarak bağlanarak translasyonu bozmakta ve mRNA'nın genetik kodunun yanlış okunmasına yol açmaktadır (6,7,12). Ayrıca bunların bakteri membranı bileşenleri ile etkileşime girdiği ve bakterisidal etkilerinin buna bağlı olduğu ileri sürülmektedir (6,7).

Aminoglikozitlere direnç mekanizmaları:

Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde aminoglikozitlere karşı direnç üç mekanizma ile oluşabilmektedir:

1. Ribozomal direnç.
2. Permeabiliteye bağlı direnç.
3. Enzimatik direnç (3,12,16).

1. Ribozomal direnç:

Aminoglikozitlerin ribozomlarda bağlandıkları bölge, 30s alt birimidir. Bu alt birim 21 protein ve tek bir 16s RNA molekülden oluşmaktadır. Bir ribozomal proteinde oluşan tek bir amino asit değişikliği, o ribozomun antibiyotiğe düşük afinite göstermesine yol açmaktadır (3). Bu tip direncin en iyi örneği, streptomisine karşı oluşan dirençte gözlenmektedir. Ribozomun 30s alt birimindeki S12 proteininde 42'inci pozisyonda bulunan lizin yerine asparajinin girmesi, streptomisinin ribozomlara bağlanmasını engellemekte ve mutant streptomisine tamamen dirençli hale gelmektedir (14). Bu mutantlar klinikte nadirdir ve diğer aminoglikozitlere karşı çapraz direnç göstermemektedirler (3). Streptomisine karşı ribozomal direnç *Neisseria gonorrhoeae*, enterokoklar, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas*'ın klinik izolatlarında bildirilmiştir (13,14,16).

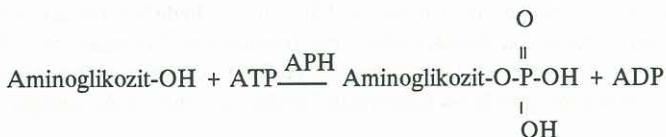
2. Permeabiliteye bağlı direnç:

Aminoglikozitlerin hücre membranından transportu, daha önce de değindiği gibi, oksijene bağımlı enerji gerektiren bir olaydır (3,12.) Anaerobik organizmalar ve anaerobik koşullarda üreyen fakültatif organizmalar bu nedenle aminoglikozitlere doğal bir direnç göstermektedir (3,6,13,14). Bu tip dirençte direnç düzeyinin yüksek olmamasına karşın tüm aminoglikozitlere direnç oluşmaktadır (3,12,13). Klinikte permeabiliteye bağlı direncin en sık gözleendiği bakteriler *Pseudomonas aeruginosa* suşlardır. Özellikle bu grup antibiyotiklerin yoğun olarak kullanıldığı hastanelerde permeabiliteye bağlı direnç gösteren *P.aeruginosa* susları artan bir sıklıkla bildirilmektedir (3). Enterokoklarda aminoglikozitlere karşı gözlenen direnç de bu tiptir (14). Permeabiliteye bağlı diğer türde bir direnç de EDP-I'in engellendiği mutantlarda gözlenmektedir. Bu mutantlara klinikte de rastlanmaktadır (6). Son yıllarda Dailkos ve arkadaşlarının (4,5) ileri sunduğu bir direnç mekanizması da "first-exposure adaptive" direnç adı verilen mekanizmadır. Bu tip direnç, ilaç ile ilk temasta sonra canlı kalabilen bakterilerde gözlenmektedir. Bakteri tüm aminoglikozitlere dirençli hale gelmekte, ancak ortamdan antibiyotik kaldırıldığında tekrar duyarlı hale geçmektedir. Bu fenomenin aminoglikozitlerin optimal dozlarının saptanmasında önemli olduğu belirtilmektedir (5). Aminoglikozitlerin tekrarlayan dozlar yerine tek bir yüksek dozda verilmesinin hem toksisiteyi hem de adaptif direnci önleyeceği ileri sürülmektedir (5).

3. Enzimatik direnç:

Aminoglikozit antibiyotiklere dirençli klinik izolatlarda en sık gözlenen mekanizma, plazmid kontrolünde sentezlenen enzimler ile bu antibiyotiklerin inaktive edilmesidir (3,6,13). Hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerde bulunan bu enzimler kataliz etikleri reaksiyona göre üç gruba ayrılmakta, antibiyotik molekülünde modifiye etikleri bölgelerde göre de isimlendirilmektedirler (3,11,13,16):

a. Fosfotransferazlar (APH): Aminoglikozit molekülündeki hidroksil grubunu fosforile etmektedir.



b. Adeniltransferazlar (AAD): Hidroksil grubunu adenile etmektedir. Bu enzimlerin bir çoğu kofaktör olarak ATP yerine nükleozit trifosfatları kullanabildiğinden, bunlara nükleotidil transferazlar (ANT) da denmektedir.



c. Asetiltransferazlar (AAC): Aminoglikozitteki amino grubunu asetile etmektedir.



Tablo 1'de Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde bulunan, aminoglikozit antibiyotikleri inaktive eden enzimler gösterilmiştir.

Tablo 1. Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde bulunan enzimler (3).

Enzim	Gram pozitif		Gram negatif
	Stafilocok	Streptokok	
Fosfotransferazlar			
APH (6)	-	-	+
APH (3')	+	+	+
APH (2'')	+	+	-
APH (3'')	+	-	+
APH (5'')	-	-	+
Nükleotidiltransferazlar			
AAD (6)	+	?	-
AAD (4') (4'')	+	-	-
AAD (2'')	?	-	+
AAD (3'') (9)	+	?	+
Asetiltransferazlar			
AAC (3)	?	-	+
AAC (2'')	-	-	+
AAC (6'')	+	+	+

+: Enzim var; -: Enzim yok; ?: Enzimin olduğuna dair bulgu var, kesinlik kazanmamış.

Tablo 2'de klinikte kullanılan bazı aminoglikozitlere karşı direnç oluşturan enzimler gösterilmiştir.

Aminoglikozitleri inaktive eden enzimlerden bazıları sadece yapısal olarak ilişkili bileşikleri etkilemektedir. Örneğin Gram pozitif bakterilerde bulunan APH (2'') enzimi 4,6-deoksistreptaminleri inaktive etmektedir (3). Buna karşın bazı enzimler birbirile ilişkili olmayan bileşiklere etki gösterebilmektedir. Örneğin Gram pozitif bakterilerin APH (3') (5'') - III enzimi hem 4,5 hem de 4,6 deoksistreptaminleri inaktive etmektedir. Enzimlerin substrat profilinin benzer olduğu durumlarda aynı bileşik farklı enzimler tarafından inaktive edilebilmektedir. Örneğin kanamisin B yedi farklı enzim tarafından değişime uğratılabilmektedir (3) (Tablo 2). Ayrıca bir bakteride aminoglikozitleri modifiye eden birden fazla enzim sentezlenmesi, bazı enzimlerin substratları olmayan antibiyotikler kullanıldığında bile seleksiyona uğrayacağını göstermektedir (3). Bu enzimler bakterilerde konstitutif olarak sentezlenmekte ve konakçıya bağlı bir direnç fenotipi göstermektedirler. Örneğin APH (3') (5'')-III enzimi *S. aureus*'da bulunduğuunda düşük oranda direnç oluştururken *Enterococcus faecalis*'de bulunduğunda yüksek düzeyde bir dirence yol açmaktadır. AAC (6'') enzimi *Pseudomonas*'ta geniş bir direnç spektrumu gösterirken, *E.coli*'de sadece kanamisine direnç oluşturmaktadır (3). Ayrıca bu enzimlerin tüm bakterilerde bulunabilmesine karşı dağılımlarında da bir özgüllük söz konusudur. Örneğin AAC (2') sıklıkla *Proteus* ve *Providencia* türlerinde gözlenirken ANT (2'') enzimi *Klebsiella* türlerinde daha yaygındır (6).

Tablo 2. Aminoglikozitleri inaktive eden enzimler ile oluşan direnç fenotipleri (6).

Enzim	kanA	ami	kanB	tob	gen	sis	net	neo	par	str	spc
AAC (2'')	r	r	s/r	s/r	r	r	r	s	s	s	s
AAC (6'')	r	r	r	r	s/r	r	r	r	s	s	s
AAC (3)	r	s	r	r	r	r	s/r	s/r	s/r	s	s
APH (3'')	r	s	r	s	s	s	s	r	r	s	s
APH (2'')	s/r	s/r	s/r	s/r	r	r	r	s	s	s	s
APH (3'')	s	s	s	s	s	s	s	s	s	r	s
APH (6)	s	s	s	s	s	s	s	s	s	r	s
APH (5'')	s	s	s	s	s	s	s	?	?	s	s
ANT (2'')	r	s	r	r	r	r	s	s	s	s	s
ANT (4'')	r	r	r	r	s	s	r	r	s	s	s
ANT (3'') (9)	s	s	s	s	s	s	s	s	s	r	r
ANT (9)	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	r

kan: kanamisin, ami: amikasin, tob: tobramisin, gen: gentamisin, sis: sisomisin, net: netilmisin, neo: neomisin, par: paramomisin, str: streptomisin, spc: spektinomisin, s: duyarlı r: dirençli

Aminoglikozitleri inaktive eden enzimler transpozonlarca da taşınabilmektedir (3,6). Tablo 3'de bu enzimleri kodlayan bazı transpozonlar gösterilmiştir. Bu transpozonlar aynı zamanda farklı grup antibiyotiklere de direnç oluşturmaktadır (6). Aminoglikozit antibiyotiklere direncin sikliği hem bu ilaçların kullanımına, hem de belirli enzimleri kodlayan genlerin sikligına bağlıdır (15). Örneğin gentamisin ve türevlerinin amikasinden daha sık kullanıldığı ülkelerde en sık gözlenen enzimler ANT (2") ve AAC (3)'dir. Amikasinin daha yaygın olarak kullanıldığı Uzak Doğu ülkelerinde ise en sık olarak AAC (6') enzimi bulunmaktadır.

Tablo 3. Aminoglikozitlere direnç oluşturan transpozonlar (6).

Transpozon	Enzim tipi	Direnç fenotipi
Tn5, Tn903, Tn 1699, Tn602	APH (3')	Neomisin, kanamisin
Tn7	APH (3")	Streptomisin
Tn4	ANT (3")	Streptomisin-spektinomisin
Tn1696, Tn1699, Tn1700	AAC (3)	Gentamisin-tobramisin
Tn732	ANT (2")	Gentamisin-tobramisin
Tn2401	AAC (6')	Kanamisin-tobramisin

Belirli aminoglikozit antibiyotiklerin kullanımı sonucu oluşan seleksyon baskısı, bunları inaktive eden enzimleri kodlayan genlerin ortaya çıkışına ve yayılmasına yol açmaktadır (15). Örneğin New York Veterans Administration Medical Center'da amikasin kullanımının üç kat artışı ile birlikte 18 ay içinde amikasin direncinin AAC (6')'a bağlı olarak % 2'den % >7'nin üzerine çıktıgı saptanmıştır. Buna benzer bir durum Hacettepe Üniversitesi Hastanesi'nde de gözlenmiştir. Akalin ve Lolans'ın (1) 1983 yılında yaptıkları kıyaslamalı çalışmada Illinois ve Hacettepe Üniversitesi hastanelerinde izole edilen *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* suşlarındaki aminoglikozitleri modifiye eden enzimleri tanımlanmıştır. Bu çalışmada her iki hastanede en sık saptanan enzim ANT-(2") olmuştur. Buna karşın Hacettepe izolatlarında % 10.7 oranında saptanan AAC-(6')-II enzimi ve % 28.5 oranında gözlenen AAC-(3)-II enzimi Illinois izolatlarında saptanmamış ve bu sonuç antibiyotik kullanımına bağlı seleksyon baskısının iki hastanede farklı oluşuna bağlanmıştır (1). Akalin ve arkadaşlarının (2) 1985 yılında yaptıkları benzer bir çalışmada ise gentamisine dirençli 300 Gram negatif bakteride en sık bulunan enzim ANT (2") dir. Bu enzim gentamisin ve tobramisine direnç oluşturmaktadır. Amikasine direnç oluşturan AAC (6') enzimi ise suşların % 8'inde saptanmıştır. Aynı tarihte amikasin direncinin % 0.9, gentamisin direncinin ise % 54.5 olduğu saptanmıştır (10). Akan ve arkadaşlarının (basılmamış çalışma) 1990 yılında 475 Gram negatif bakteri üzerinde yaptıkları çalışmada ise amikasin direncinin hastane izolatlarında %8'e ulaştığı saptanmıştır. Halen yürütülmekte olan bir çalışmada Hacettepe Hastanesi'nde izole edilen aminoglikozitre dirençli 50 Gram negatif bakteriden 32'sinde AAC (6') saptanmıştır. Bu bakterilerden 22'si *Enterobacteriaceae*'dir. Bu sonuç, son yıllarda Hacettepe Hastanesi'nde amikasin kullanımının artışı ile oluşan seleksyon baskısı ile açıklanabilir. Dornbusch ve arkadaşlarının (8) yaptıkları çalışmada Avrupa ülkelerinde Gram negatif bakterilerde en sık saptanan enzimler ANT (2"), AAC (3)-V ve AAC (6')-I, stafilocoklarda ise APH (2")+AAC (6') ve ANT (4')-I olmuş, amikasin ve netilmisine direncin son yıllarda artmış olması bu enzimlerin sikliğindaki artıa bağlanmıştır.

Aminoglikozit antibiyotikler kullanılırken seçilecek antibiyotik etkenin duyarlılığına göre belirlenmelidir. Bu da bakterinin sentezlediği enzimlere bağlıdır. Hastanelerde özellikle yoğun bakım ve yanık ünitelerinde aminoglikozitlere dirençli bakteriler daha sık saptanmaktadır (6). Bu bakterilerde 10'dan fazla antibiyotiğe karşı direnç oluşturan R plazmidlerinin bulunıldığı gösterilmiştir (9). Bu nedenle aminoglikozitlere direncin yayımı sadece bu grup antibiyotiklerin değil aminoglikozitler dışındaki antibiyotiklerin kullanımı ile de oluşabilmektedir (6). Hayvan deneyleri sub-inhibitör konsantrasyonları kullanıldığından aminoglikozitlerin barsak florasındaki dirençli bakterilerin seleksiyonuna yol açtığını göstermiştir (6). Bu nedenle aminoglikozitler uygun indikasyonlarda ve yeterli dozlarda uygulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Akalin H E, 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).
2. Akalin H E, Torun M, Alaçam R: Aminoglycoside resistance patterns in Turkey, *Scand J Infect Dis* 20: 199 (1988).
3. Courvalin P, Carlier C: Resistance towards aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics in bacteria, *J Antimicrob Agents 8 (suppl A)*: 57 (1981).
4. Daikos G L, Jackson G G, Lolans V T, Livermore D M: Adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics induced by first exposure down regulation, *J Infect Dis* 162: 414 (1990).
5. Daikos G L, Lolans V T, Jackson G G: First-exposure adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics in vivo with meaning for optimal clinical use, *Antimicrob Agents Chemother* 35: 117 (1991).
6. Davies J E: Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes "Lorian V (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2.baskı" kitabında s.790, Williams and Wilkins, Baltimore (1985).
7. Davis BD: Mechanism of bactericidal action of aminoglycosides, *Microbiol Rev* 51: 341 (1987).
8. Dornbusch K, Miller G H, Hare R S, Shaw K J, 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).
9. Elwell L P, Falkow S: The characterization of R plasmids and the detection of plasmid-specified genes "Lorian V (ed): *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2.baskı" kitabında s.683, Williams and Wilkins, Baltimore (1985).
10. Köksal İ, Tunçkanat F, Kardeş T, Akalin HE: Antibiotic sensitivity patterns of Gram-negative bacteria isolated from blood cultures, *Antibiotica Monitor VI*: 100 (1985).
11. Miller H, Hare S R, Shaw K J, Sabatelli F J: Survey of aminoglycoside patterns, *Schering-Plough Research*, Bloomfield, N.Y.
12. Pancoast S J: Aminoglycoside antibiotics in clinical use, *Med Clin North Am* 72: 581 (1988).
13. Phillips I, Shannon K: Aminoglycoside resistance, *Br Med Bull* 40: 28 (1984).
14. Sande M A, Mandell G L: Antimicrobial agents-The aminoglycosides "Goodman A, Rall T W, Nies A S, Taylor P (eds): *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8.baskı" kitabında s.1098, Pergamon Press, New York (1990).
15. Sanders CC: Bacterial proteins involved in antimicrobial drug resistance. *Curr Top Infect Dis Clin Microbiol* 2: 115 (1988).
16. Shannon K, Phillips I: Mechanisms of resistance to aminoglycosides in clinical isolates, *J Antimicrob Chemother* 9: 91 (1982).