

## BETA-LAKTAM ANTİBİYOTİKLERİN KLİNİK KULLANIMI VE BETA-LAKTAMAZLARA BAĞLI DİRENÇ GELİŞİMİ

Murat AKOVA

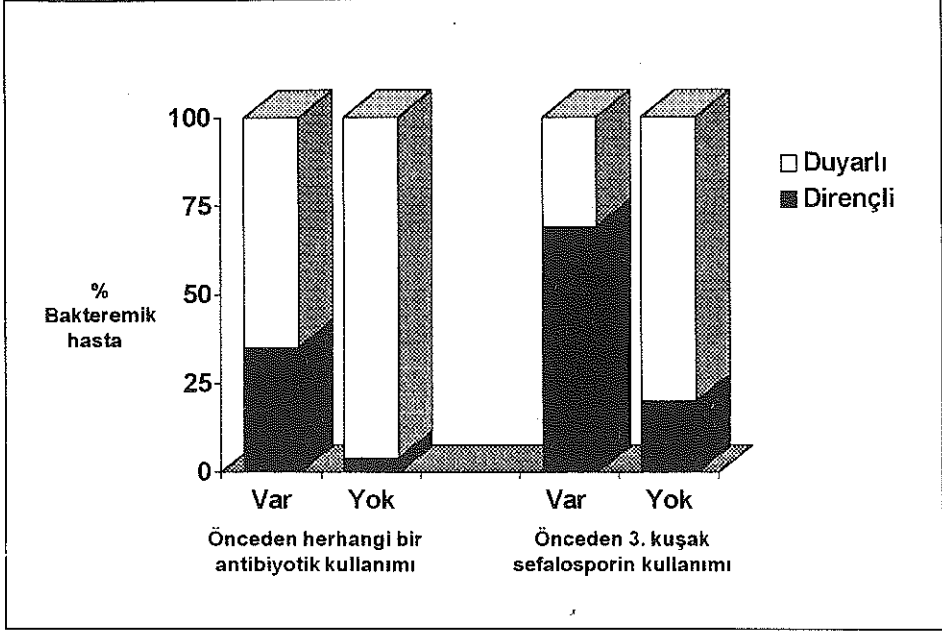
*Development of resistance due to the clinical use of beta-lactam antibiotics and beta-lactamases.*

### GİRİŞ

Beta-laktam antibiyotikler günümüzde gerek hastane içinde gerekse hastane dışında en sık kullanılan antibiyotik türevlerinin başında gelmektedir. Ancak bu denli yaygın kullanımın kaçınılmaz sonucu olarak beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç de giderek artmaktadır.

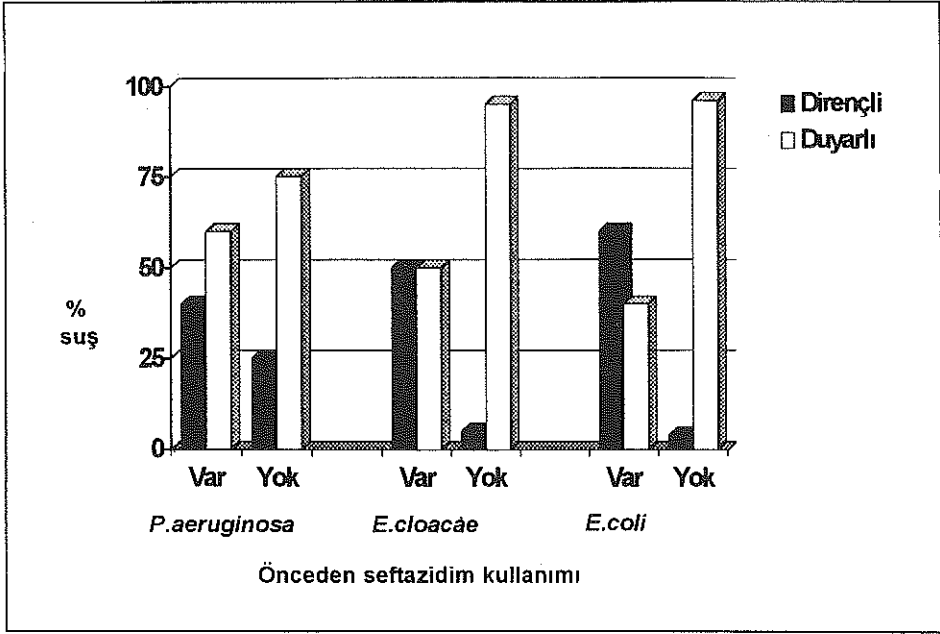
Klinikte beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişmesinden sorumlu mekanizmalar içinde en önemlisi, bakterilerin ürettiği beta-laktamaz enzimleridir (6, 8, 11). Doğadaki pek çok bakteri beta-laktamaz enzimi üretmektedir. Ancak bunlar arasında stafilokokal ve enterobakteriyal beta-laktamazlar, klinikte önemli direnç sorunu yarattıklarından en çok üzerinde durulan enzimlerdir (11). Bu yazıda Gram-negatif enterik bakterilerin beta-laktamazları örnek alınarak, klinikte beta-laktam kullanımı ve direnç gelişimi arasındaki ilişki incelenecektir.

Klinikte beta-laktam antibiyotik kullanımı ile direnç gelişmesi arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (4, 5, 15). Bu ilişki, özellikle altta yatan ciddi hastalığı olan, konakçı savunma mekanizmaları bozuk hastalarda beta-laktam antibiyotiklerle tedavi sonrasında belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Şekil 1'de Chow ve arkadaşları (4) tarafından yapılmış bir çalışmada *Enterobacter* cinsi ile gelişen bakteremilerde izole edilen bakterinin antibiyotik direnci ile aynı hastalarda daha önceden antibiyotik kullanımı arasındaki ilişki gösterilmektedir. Şekilden de anlaşıldığı üzere bakteremi gelişmeden önceki iki hafta içinde herhangi bir antibiyotik kullanan 103 hastadan 26'sında (% 35) çoklu direnç (tikarsilin, mezlosilin ve piperasilin gibi geniş spektrumlu penisilinler ve 3. kuşak sefalosporinlere karşı direnç) gösteren *Enterobacter* cinsi bakteri izole edilirken, daha önceden antibiyotik kullanmamış 26 hastanın ancak birinde (% 4) dirençli *Enterobacter* ile bakteremi gözlenmiştir ( $p=0.002$ ). Bakteremi öncesinde herhangi bir 3. kuşak sefalosporin kullanmış hastalarda dirençli *Enterobacter* bakteremisi görülme sıklığı ise çok daha anlamlı bulunmuştur (kullananlarda % 69, kullanmayanlarda % 20,  $p=0.001$ ). Önceden sefalosporin kullanan ve takiben dirençli *Enterobacter* bakteremisi geliştiren hastaların hepsinde bakterinin yüksek miktarda kromozomal beta-laktamaz sentezlediği gösterilmiştir. Ayrıca uni- ve multivariate analizde çoklu dirençli *Enterobacter* bakteremisi ile infeksiyon halinde hastalarda mortalitenin de anlamlı şekilde yükseldiği saptanmıştır.

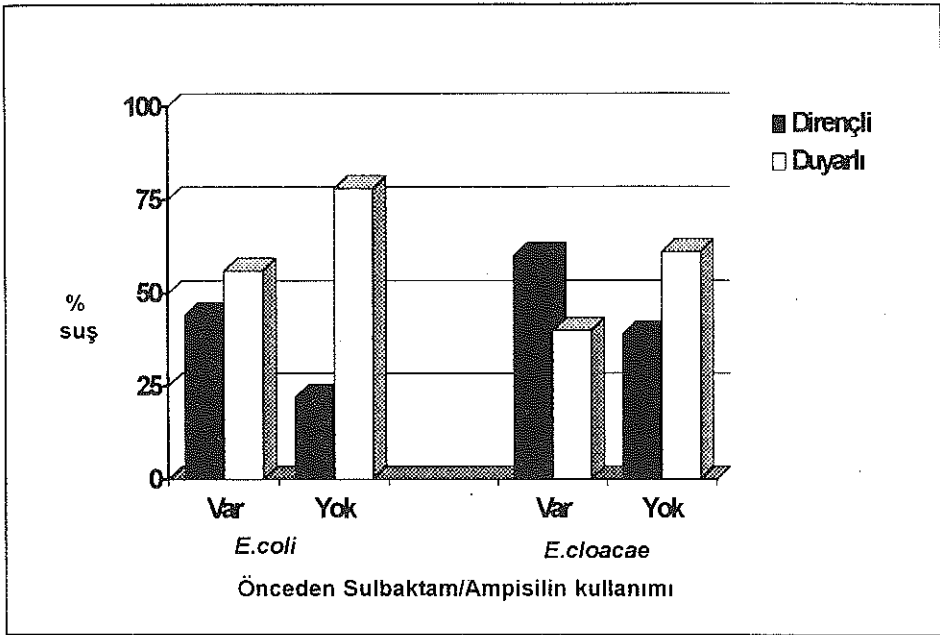


Şekil 1. Önceden antibiyotik kullanan hastalarda gelişen *Enterobacter* bakteremisinde çoklu antibiyotik direnci sıklığı (4).

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesinde yapılan çalışmalarda yukarıda özellenen araştırmaya benzer sonuçlar alınmıştır. Beta-laktam antibiyotikler Hacettepe'de en sık kullanılan antibiyotiklerin başında gelmektedir. 1992-1994 yılları arasında elde edilen verilere göre hastaneye yatarak antibiyotik tedavisi uygulanan hastaların yaklaşık % 55'ine bir beta-laktam türevi verilmektedir. Beta-laktam türevleri içinde en sık kullanılanlar ise bir 3. kuşak antipsödomonal sefalosporin olan seftazidim (% 14 hastada) ve bir beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonu olan sulbaktam/ampisilindir (% 26). Aynı yıllar içinde elde edilen verilere göre Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanelerinde izole edilen *Escherichia coli*'lerin % 22'si, *Enterobacter*'lerin ise % 44'ü sulbaktam/ampisiline dirençlidir. Seftazidime ise direnç oranları sırasıyla *E.coli* için % 13, *Enterobacter* için % 13 ve *Pseudomonas aeruginosa* içinse % 29 olarak bulunmuştur. Ancak dirençli bakteri infeksiyonu ile daha önceden antibiyotik kullanımı arasındaki ilişki araştırıldığında, son bir ay içinde antibiyotik kullanan hastalardan üretilen bakterilerin belirgin derecede daha yüksek beta-laktam direnci gösterdiği saptanmıştır (Şekil 2 ve 3).



Şekil 2. Önceden seftazidim kullanan hastalardan izole edilen bakterilerde seftazidime direnç oranları (Hacettepe 1992-1994 verileri).



Şekil 3. Önceden sulbaktam/ampisilin kullanan hastalardan izole edilen bakterilerde sulbaktam/ampisiline direnç oranları (Hacettepe 1992-1994 verileri).

## BETA-LAKTAMAZLAR ARACILIĞIYLA GELİŞEN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN MEKANİZMALARI

Beta-laktamaz etkisiyle beta-laktam halkası hidrolize uğrayarak açılır ve sonuçta antibiyotik etkisiz hale geçer. Her Gram-negatif bakteri, türe özgül ve genellikle az miktarda kromozomal beta-laktamaz sentezler (11). Ayrıca pek çok türde plazmid aracılığıyla sentezlenen beta-laktamazlar da bulunur. Kromozomal ve plazmid aracılığıyla sentezlenen enzimlerin özellikleri birbirinden oldukça farklıdır. Son yıllarda çok sayıda yeni enzimin beta-laktamaz ailesine katılması bu enzimlerin yeniden sınıflandırılmalarını gerekli kılmıştır. Bush (3) tarafından yapılan oldukça geniş kapsamlı bir sınıflamaya göre Grup 1'de *P.aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* gibi klinikte sık karşılaşılan Gram-negatif bakterilerdeki indüklenbilir kromozomal enzimler yer almaktadır. Grup 2 tüm önemli plazmid aracılığıyla sentezlenen enzimleri ve bunlar arasında son yıllarda tanımlanan 3.kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize eden "geniş spektrumlu" beta-laktamazları içermektedir.

İndüklenbilir kromozomal beta-laktamaz taşıyan Gram-negatif bakteriler klinikte karşılaşılan dirençli infeksiyonların önemli bir kısmında etken olarak ortaya çıkarlar (8, 15). Beta-laktamaz indüksiyonu sırasında normalde bakteri tarafından az (bazal) miktarda sentezlenen enzim ortamda bulunan bir indükleyicinin etkisiyle fazla miktarda sentezlenmeye başlar. Farklı beta-laktam antibiyotikler değişik oranlarda olmak üzere Grup 1 beta-laktamazları indükleyebilirler. Ancak normalde indüksiyon geçici ve geri dönüşebilir bir olay olup, indükleyicinin (yani beta-laktamın) ortadan kalkmasıyla bakteri tekrar eski bazal beta-laktamaz sentezine geri döner. Dolayısıyla bu mekanizmanın klinikte kalıcı bir dirence yol açması söz konusu değildir (8). Asıl sorun bu enzimleri doğal olarak fazla miktarda sentezleyen mutant ("dereprese") suşlar nedeniyedir (11,15). Bu mutantlar yukarıda sayılan bakteri topluluklarında normalde  $10^{-5}$  ile  $10^{-8}$  arasında bir sıklıkta bulunurlar (8,15). Öte yandan, çoğu 2. kuşak ve tüm 3. kuşak sefalosporinler, üreidopenisilinler ve aztreonam Grup 1 beta-laktamazlar için zayıf birer indükleyici olmalarına karşın, ortamda herhangi bir nedenle fazla miktarda bulunan enzim etkisine karşı son derece duyarlıdırlar (8). Dolayısıyla indüklenbilir beta-laktamaz taşıyan bakterilerle oluşan bir infeksiyonun tedavisinde tek başına kullanılmaları halinde, duyarlı olan bakterilerin ortadan kalkmasını takiben, antibiyotiğin etkisine dirençli doğal mutantların çoğalarak tedavinin başarısız kalmasına yol açmaları söz konusu olabilir (15).

Gram-negatif bakterilerdeki kromozomal beta-laktamazların indüksiyon mekanizması yakın zamanda ayrıntılı bir biçimde açıklanmıştır (2,7). Buna göre bu enzimler ampC adı verilen bir gen tarafından kodlanmaktadır. Bu gen ampR adı verilen komşu bir gen lokusunun ürünü olan AmpR adlı protein molekülü tarafından normalde baskılanmaktadır. İndükleyici beta-laktam antibiyotiğin bakteri sitoplazmik membranı üzerindeki penisilin bağlayan proteinlere (PBP) bağlanmasını takiben peptidoglikan (PG) sentezi bozulur. Ortaya çıkan PG yıkım ürünlerinin periplazmik boşlukta artan yoğunluğu sitoplazmik membran üzerinde bulunan AmpG adlı protein tarafından hissedilir. Bu etkileşim sonucu AmpG duyarlı

hale geçerek AmpR'de protein modifikasyonuna neden olarak baskılayıcı formdan aktive edici hale dönüştürür. Aktive olan AmpR, ampC'nin ekspresyonunu ve dolayısıyla da beta-laktamaz sentezinin artışı sağlar. İndüksiyonun olmadığı bazal koşullarda AmpD proteini AmpE adı verilen bir başka proteinle birleşerek AmpR'yi baskılayıcı formda tutar. Ortamda bir indükleyici olması halinde AmpG ve AmpD arasındaki denge AmpG lehine bozulur ve beta-laktamaz indüksiyonu başlar. Eğer bakteri hücrelerinde oluşacak bir mutasyonla AmpD ortadan kalkacak olursa AmpG'nin etkisi sürekli hale gelir ve ampC sürekli olarak eksprese edilerek yüksek miktarda beta-laktamaz sentezlenir. Bu durumda yukarıda bahsedilen "dereprese" mutant suşların ortaya çıkması söz konusudur (2).

Klinik açıdan son yıllarda önem kazanan bir diğer beta-laktamaz grubu plazmid aracılığıyla sentezlenen, dolayısıyla türler arasında kolayca yayılabilen ve substrat olarak yeni, geniş spektrumlu penisilin ve sefalosporinleri kullanan "geniş spektrumlu" beta-laktamazlardır (13). Bu grup enzimler genetik olarak eskiden beri bilinen TEM-1 veya SHV-1 beta-laktamazlarının amino asit dizilerinde meydana gelen ufak değişiklikler sonucunda ortaya çıkmışlardır. Önceleri sadece *E.coli* ve *K.pneumoniae*'de tanımlanan bu enzimler giderek diğer enterobakterilere de hızla yayılmaktadırlar (11, 13). Plazmid aracılığıyla sentezlenen beta-laktamazlar, kromozomal olanların aksine beta-laktam/beta-laktamaz inhibitör kombinasyonu ilaçlara karşı son derecede duyarlıdır. Dolayısıyla klinikte bu tip beta-laktamazları taşıyan bakterilerin neden oldukları infeksiyonlar adı geçen antibiyotik kombinasyonları ile etkin bir biçimde tedavi edilebilirler (10, 17). Ancak yakın zamanda plazmid aracılığıyla sentezlenen beta-laktamazlara ilişkin saptanan iki özellik bu tip beta-laktamaz taşıyan bakterilerle, klinikte daha da ciddi tedavi sorunlarının ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Bunlardan ilki *K.pneumoniae*'de bulunan ve plazmid aracılığıyla sentezlenmekle birlikte kromozomal beta-laktamazlara ait (beta-laktamaz inhibitörlerinden etkilenmeme ve sefoksitin ve diğer sefamisin türevlerini hidrolize uğratma gibi) özellikleri taşıyan bir beta-laktamaz (MIR-1)'dir (12). Diğer sorun normalde beta-laktamaz inhibitörlerine yüksek oranda duyarlı olan TEM veya SHV türevi beta-laktamazları yüksek miktarda sentezleyen ("hyperproducer") bakterilerin giderek artan oranda infeksiyon etkeni olarak ortaya çıkmasıdır (14, 16, 18). Beta-laktamaz inhibitörleri bu tür enzimleri kompetitif yolla inhibe ettiklerinden (1), fazla miktarda enzim sentezleyen bakterilerde enzimin bir kısmı inhibitörün etkisinden kurtularak ortamdaki antibiyotiği hidrolize edebilmektedir (1, 10, 14).

## SONUÇ

Beta-laktam antibiyotikler yaygın kullanımları ölçüsünde klinikte sık olarak direnç sorunu yaratan antibiyotiklerin başında gelmektedir. Ortaya çıkan direnç büyük miktarda ekonomik kaybın yanı sıra hastalarda yüksek mortalitenin ortaya çıkmasından da sorumludur. Bu sorunun çözümü için gerekenlerden en önemlisi diğer antibiyotikleri olduğu gibi beta-laktam türevlerini de uygun indikasyonlarda, uygun dozda ve yeterli sürede kullanmaktır. Özellikle altta yatan ciddi hastalığı olan, konakçı savunma mekanizmaları bozulmuş ve infeksiyona karşı koymada çoğu kere antibiyotikler dışında savunması olmayan hastalarda direncin çok daha

kolayca ortaya çıkabileceği düşünülerek, yukarıda sayılan kurallara uymaya daha fazla özen gösterilmelidir. Günümüzde beta-laktamaz direncini yenmek için araştırmacılar ve farmosötik endüstriden beklentilerin başında ise etkili kromozomal beta-laktamaz inhibitörlerinin bulunması gelmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Akova M, Yang Y, Livermore DM: Interactions of tazobactam and clavulanate with inducibly- and constitutively-expressed Class I beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 25: 199 (1990).
2. Bennett PM, Chopra I: Molecular basis of beta-lactamase induction in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 153 (1993).
3. Bush K: Characterization of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 259, 264, 271 (1989).
4. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, Quinn JP, Hooper DC, Johnson MP, Ramphal R, Wagener MM, Miyashiro DK, Yu VL: Enterobacter bacteremia: Clinical features of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med* 115: 585 (1991).
5. Dworzack DL, Pugsley MP, Sanders CC, Horowitz EA: Emergence of resistance in Gram-negative bacteria during therapy with expanded-spectrum cephalosporins. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 6: 456 (1987).
6. Jacoby GA, Archer GL: New mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *N Engl J Med* 324: 601 (1991).
7. Lindberg F, Lindquist S, Normark S: Genetic basis of induction and overproduction of chromosomal Class I beta-lactamases in nonfastidious Gram-negative bacilli. *Rev Infect Dis* 10: 782 (1988).
8. Livermore DM: Clinical significance of beta-lactamase induction and stable derepression in Gram-negative rods. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 6: 439 (1987).
9. Livermore DM: Mechanisms of resistance to cephalosporin antibiotics. *Drugs* 34 (Suppl 2): 64 (1987).
10. Livermore DM: Determinants of the activity of beta-lactamase inhibitor combinations. *J Antimicrob Chemother* 31 (Suppl A): 9 (1993).
11. Moellering RC Jr: Meeting the challenges of beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 31 (Suppl A): 1 (1993).
12. Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA: Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 2200 (1990).
13. Philippon A, Labia R, Jacoby G: Extended spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 33: 1131 (1989).
14. Sanders CC, Iaconis JP, Bodey GP, Samonis G: Resistance to ticarcillin-potassium clavulanate among clinical isolates of the family Enterobacteriaceae: role of PSE-1 beta-lactamase and high levels of TEM-1 and SHV-1 and problems with false susceptibility in disk diffusion tests. *Antimicrob Agents Chemother* 32: 1365 (1988).
15. Sanders CC, Sanders WE Jr: Clinical importance of inducible beta-lactamases in Gram-negative bacteria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 6: 435 (1987).
16. Thomson KS, Weber DA, Sanders CC, Sanders WE Jr: Beta-lactamase production and resistance to beta-lactam-enzyme inhibitor combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 622 (1990).
17. Williams RJ: Beta-lactamase resistance. *Current Opinion Infect Dis* 3: 751 (1990).
18. Wu PJ, Shannon K, Phillips I: Effect of hyperproduction of TEM-1 beta-lactamase on in vitro susceptibility of *Escherichia coli* to beta-lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 38: 494 (1994).