

Faruk PEHLİVANOĞLU ^{1, a}¹ Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Burdur, TÜRKİYE^a ORCID: 0000-0001-9358-8007

Gram Negatif Bakterilerin Beta-Laktamaz Enzim Çeşitliliği ve Türkiye'deki Hayvan Orjinli Bakterilerdeki Durum

Bakterilerdeki antimikrobilyellere karşı artmakta olan direnç, hastalıkların tedavi sürecinde oluşturduğu zorluklardan dolayı hem insan hem de hayvan sağlığı açısından endişe verici boyuttadır. Tedavide sık tercih edilen beta laktam antibiyotiklere karşı Gram negatiflerde görülen direnç artışı bakterilerin ürettiği beta-laktamaz adı verilen enzimlerin çeşitli olmasına bağlıdır. Oldukça heterojenlik gösteren beta-laktamazların substrat (antibiyotik) spesifitelerinin de birbirinden farklı oldukları ortaya çıkarılmıştır. Bu nedenle, Gram negatif bakterilerin ürettiği beta-laktamaz enzimlerinin sınıflandırılması güçtür ve yeni beta-laktamazlar belirlendikçe sınıflandırma sürekli güncellenmektedir. Bu derleme makalede, günümüze kadar Gram negatif bakterilerde belirlenmiş olan beta-laktamaz enzimleri açıklanmış ve Türkiye'de evcil ve çiftlik hayvanlarından izole edilmiş Gram negatiflerde belirlenmiş beta-laktamazların çeşitliliği hakkında bilgi sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik direnci, beta laktam, beta-laktamaz

Diversity in Beta-Lactamase Enzymes of Gram Negative Bacteria and Situation in Bacteria of Animal Origin in Turkey

The increase in the bacterial antimicrobial resistance is very frightening because of difficulties in treatment of bacterial infections in both animals and humans. In terms of resistance of Gram negatives against beta lactam antibiotics which are commonly used in treatment, the increase is mostly related with high variety of beta-lactamase enzymes produced by bacteria. It is known that beta-lactamase enzymes possess structural heterogeneity and each shows different substrat (antibiotic) specificity. Hence, classification of beta-lactamases of Gram negative bacteria is challenging and updated regularly after new beta-lactamases are identified. In the present review article, beta-lactamases of Gram negatives determined until present are discussed and the findings of Turkish studies related with beta-lactamases of Gram negatives from domestic animals and livestock are reviewed.

Key Words: Antibiotic resistance, beta lactams, beta-lactamase

Giriş

Beta laktam antibiyotikler, hayvanlarda çeşitli bakteriyel hastalıkların (arthritis, ayak enfeksiyonu, enteritis, idrar yolu enfeksiyonları, mastitis, metritis, pnömoni, septisemi, vb.) tedavisinde, yan etkisi diğer antibiyotik gruplarına göre daha düşük olduğundan, yaygın olarak tercih edilmektedir. Ancak son yıllarda Gram negatiflerde görülen beta laktam grubu antibiyotiklere karşı direnç artışı, veteriner hekimlikte beta laktam antibiyotiklerin enfeksiyonların tedavisindeki değerini azaltmaya başlamıştır (1).

Beta laktam antibiyotikler penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar ve karbapenemler olmak üzere 4 gruba ayrılan bakteriyosidal etkili antimikrobilyellerdir (2). Yapılarında kendilerine özgü bir azot ve 3 karbon atomu içeren beta laktam halkası bulunmasından dolayı beta laktam antibiyotikler olarak adlandırılmışlardır. Monobaktam grubu hariç diğerlerinde beta laktam halkasına bitişik beş veya altı üyeli bir başka halka daha bulunmaktadır (Şekil 1-4) (3, 4).

Beta laktam antibiyotiklerin Gram negatif bakteriler üzerine etki mekanizmasını anlamak için öncelikle bakteri hücre duvarı sentezini ve yapısını bilmek gerekmektedir. Gram negatif bakterilerde hücre duvarı temel olarak peptidoglikan tabaka ve dış membran yapılarından oluşmaktadır (5) (Şekil 5).

Gram negatif bakteri hücre duvarında, kompleks bir yapı olan peptidoglikan tabakası (murein) bulunmaktadır. Peptidoglikanın glikan kısmı, N-asetilmuramik asit (NAM) ve N-asetil glukozamin (NAG) moleküllerinin ardışık sıra beta-1,4 glikozid bağları ile birbirine bağlanmasıyla oluşturduğu zincirlerden oluşmaktadır. Ayrıca, NAM molekülüne bağlı kısa peptid zincirleri (4 amino asitlik: L-alanin –D– isoglutamin (D-glutamik asit) –Diaminopimelik asit –D–alanin) vardır ve bitişik glikan zincirlerinin NAM moleküllerindeki bu kısa peptidler arasında çapraz bağlar (pentaglisin köprüleri) bulunur (Şekil 6). Bu görünümü ile peptidoglikan tabaka bakteriyi saran bir kafese benzer ve hücre duvarının sağlamlığını sağlar (6-8).

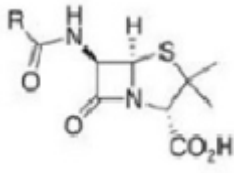
Geliş Tarihi : 30.05.2019

Kabul Tarihi : 16.07.2019

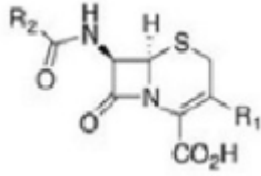
Yazışma Adresi Correspondence

Faruk PEHLİVANOĞLU
Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
Burdur – TÜRKİYE

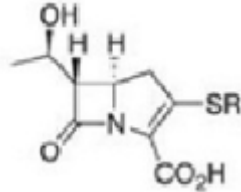
pehlivanoglu@mehmetakif.edu.tr



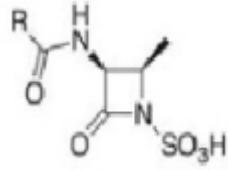
Şekil 1. Penisilin grubu beta laktamların yapısı (4)



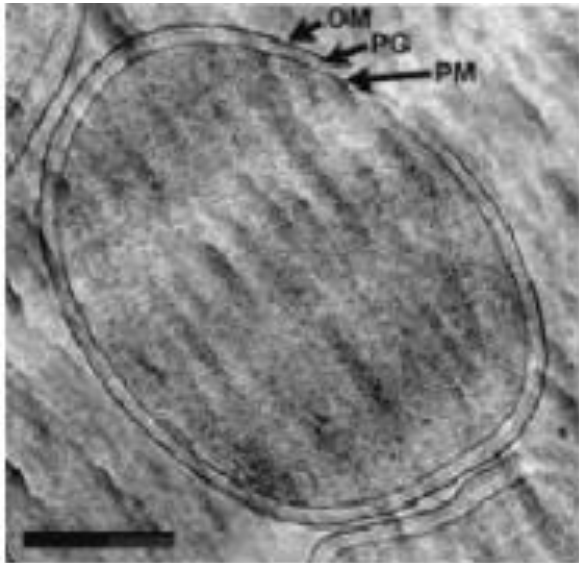
Şekil 2. Sefalosporin grubu beta laktamların yapısı (4)



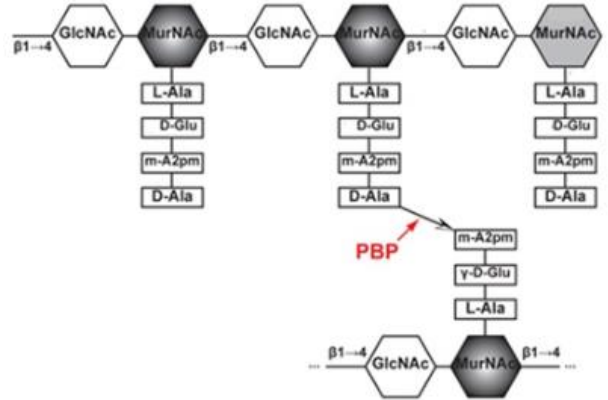
Şekil 3. Karbapenem grubu beta laktamların yapısı (4)



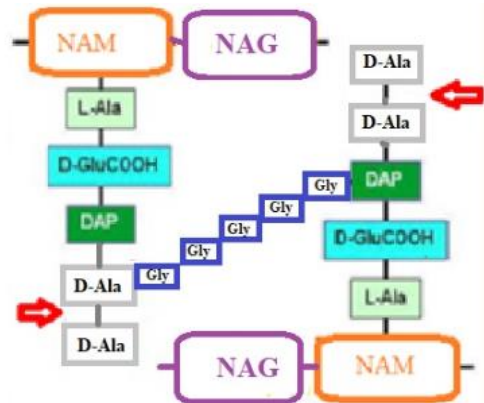
Şekil 4. Monobaktam grubu sefalosporinlerin yapısı (4)



Şekil 5. Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısı (5). OM: Dış membran, PG: Peptidoglikan, PM: Sitoplasmik membran

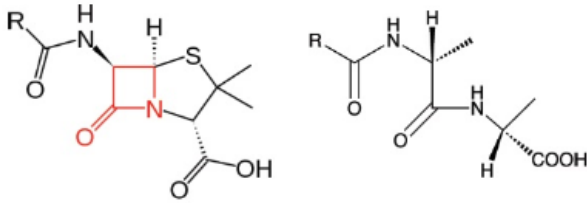
Şekil 6. Peptidoglikanın yapısı (8). GcNAc: N-asetilglukozamin; MurNAc: N-asetilmuramik asit; β 1-4: Beta 1-4 glikozid bağ; L-Ala: L-alanin; D-Glu: D-glutamik asit, m-A2pm: meso-diamino pimelik asit; D-Ala: D-alanin; PBP: Penisilin bağlayan protein; Pentaglisin köprüsü: D-Ala ile m-A2pm arasında (8).

Peptidoglikan sentezinde ilk aşama üridin difosfo (UDP)-NAG ve UDP-NAM'ın sentezlenmesidir. Ardından pentapeptidi oluşturan (L-alanin-D-isoglutamin-Diaminopimelik asit-D-alanin-D-alanin) amino asitler, farklı enzimler, ATP ve Mn²⁺ veya Mg²⁺ kationları aracılığıyla UDP-NAM'ın karboksil grubuna tek tek eklenir. Fakat son iki amino asit bir dipeptid olarak (D-alanin-D-alanin) eklenir. Bakterinin sitoplasmik membranının iç yüzünde oluşturulan bu yapılar hücre membranındaki baktopenol olarak adlandırılan bir lipid taşıyıcıya aktarılır. Bu taşıyıcı vasıtasıyla periplasmik boşluğa geçerler ve taşıyıcıdan ayrılıp peptidoglikan omurgaya aktarılırlar (translokasyon). Ancak başlangıçta yeni oluşan peptidoglikan polimerleri diğer peptidoglikan zincirleri ile çapraz bağ oluşturmamış D-Ala-D-Ala – COOH grubu taşıyan pentapeptid molekülleri içerirler. Bu aşamada transpeptidasyon ile peptidoglikan zincirleri arasında peptid köprüleri (pentaglisin) oluşturulur ve aynı zamanda uçtaki D-alanin peptid zincirinden ayrılarak uzaklaştırılır (Şekil 7) (7-9).



Şekil 7. Peptidoglikan sentezi (9). Peptidoglikan monomerinin şematik görünümü. D-Ala ile DAP arasında 5 glisinden oluşan pentaglisin çapraz köprüsü transpeptidasyon ile oluşturulduktan sonra NAM'a bağlı pentapeptidlerin sonunda bulunan D-Ala kesilerek uzaklaştırılır.

Yukarıda bahsedilen transpeptidasyon aşamasında rol oynayan enzimler penisilin bağlayıcı proteinler (PBP) olarak adlandırılmaktadır. PBP'ler biri sitoplazmik membrana gömülü diğeri periplasmik aralığa uzanan 2 kısımdan oluşur. Beta laktam antibiyotikler, NAMA-pentapeptid ünitesinin son kısmında bulunan D-alanin-D-alanin dipeptidine yapısal olarak benzerlik gösterdiklerinden (Şekil 8), PBP'ler yanlış bir şekilde hücre duvarı sentezinde substrat olarak beta laktam antibiyotiğe bağlanırlar. Böylece, beta laktam antibiyotik ikiye bölünmekte olan bakteride transpeptidasyonda görev alan PBP'lerin serin aktif kısmına kovalent olarak bağlanır ve enzimin (PBP) aktif bölgesi açılır. Açılmış PBP beta laktamı hidrolize edemez ve transpeptidasyon işlemi gerçekleşemez. Bu beta laktam antibiyotiklerin etki mekanizmasını oluşturur. Böylelikle hücre duvarı sentezi durur ve otolitik enzimlerle hücre duvarı geçirgenliği artar. Bakteri hücrelerine çok miktarda sıvı girip sonunda lizis gerçekleşir (1, 3, 7, 8).



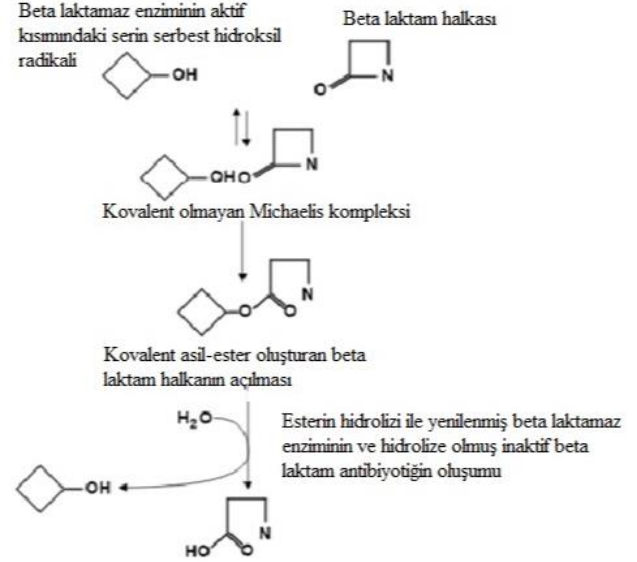
Şekil 8. Beta laktam antibiyotiklerin D-alanil-D-alanil'e benzerliği (8).

Gram negatif bakterilerin beta laktamların öldürücü etkisinden korunmada kullandıkları 4 temel yol vardır. Bunlar, beta laktamları hidrolize eden beta-laktamaz enzimi üretmeleri, penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) değişiklik yapması, effluks pompa sistemi ile beta laktam antibiyotiğin bakteri dışına atılması ve dış membran proteinlerinin sayısının azaltılması (porin proteinleri) şeklinde sıralanabilir (3, 10).

Beta-laktamaz enzimleri, antibiyotiğin beta laktam halkasını hidrolize uğratan ve böylece antibiyotiğin hedefine (PBP) ulaşmadan önce inaktif olmasına neden olan enzimlerdir. Beta-laktamazlar, PBP'ler ile yapısal benzerlik gösterirler. Amino asit dizi benzerliğinden dolayı beta-laktamazlar ve PBP'lerin ortak atadan köken aldıkları kabul edilmektedir. Bu durum, beta-laktamaz enziminin antibiyotiğe bağlanmasına, asile etmesine ve su molekülünü kullanarak hidrolize edip sonuç olarak antibiyotiği inaktif etmesine neden olur (3, 11). Beta-laktamaz tarafından antibiyotiğin inaktif edilmesi sırasıyla asilasyon ve deasilasyon aşamalarında gerçekleşir (12).

Beta-laktamaz enziminin aktif kısmına beta laktam antibiyotiği bağlandıktan sonra kovalent olmayan bir kompleks şekillenir. Bu aşama geri dönüşümlüdür (reversible). Enzimin aktif kısmındaki serin radikali antibiyotiğin karbonil (carbonyl) kısmına bir nükleofilik atak gerçekleştirerek yüksek enerjili bir tetrahedral asilasyon ara maddesi oluşturur. Beta laktam nitrojenin protonasyonu ve C-N bağının kopması sonu beta laktam halkası açılır ve ara madde düşük enerjili kovalent asil-

enzim kompleksine dönüşür. Ardından aktif olmuş su molekülü kovalent komplekse saldırır ve yüksek enerjili tetrahedral deasilasyon ara maddesi meydana gelir. Beta laktam karbonil grubu ile serinin oksijeni arasındaki bağın hidrolizasyonu gerçekleşir ve sonuçta inaktif beta laktam antibiyotiği serbest kalırken tamamıyla aktif beta laktamaz enzimi de yenilenmiş olarak serbest kalır (12, 13) (Şekil 9).



Şekil 9. Beta-laktamaz enzimi tarafından beta laktam antibiyotiklerin hidroliz ile inaktif edilmesi (12).

Beta-laktamaz enzimi ile beta laktam antibiyotiklere direnç kazanma, Gram negatiflerin kullandığı en yaygın direnç mekanizmasıdır (14). Beta-laktamaz enzimleri Gram negatif bakterilerde hem konstitutif hem de antibiyotik varlığında indüklenebilir nitelikte üretilir ve periplasmik aralık içinde bulundurulur (15).

Gram Negatif Bakterilerin Beta-laktamaz Enzimleri

Beta-laktamazlar, yüksek düzeyde heterojenlik gösteren enzim grubudur (16). Bugün itibarıyla tanımlanmış 4300'den fazla beta-laktamaz enzimi vardır (17). Beta laktamazların amino asit dizilerinin çeşitlilik göstermesine rağmen tümünün ortak bir topolojiye sahip olduğu da bilinmektedir (18).

Beta-laktamazlar farklı şekillerde sınıflandırılırlar. Aşağıda günümüzde en yaygın kullanılan Bush-Jacoby ve Medeiros tarafından yapılan fonksiyonel sınıflandırma ve Ambler tarafından yapılan moleküler sınıflandırma sunulmuştur (19).

Beta-laktamazları kodlayan genler (*bla*), bakteri kromozomu, plasmidleri ve transpozonları üzerinde bulunmaktadır. Beta-laktamaz genlerinin yer değiştirilebilir genetik elementler üzerinde bulunması, kolaylıkla bakteriler arasında transfer olmalarını

sağlamaktadır. Son yıllarda, beta-laktamaz genlerinin integronlar üzerinde çoklu antibiyotik dirençliliği kasetlerinin bir parçası olarak bulunduğu da belirlenmiştir (3, 10). İntegronlar yer değiştiren genetik elementler değildir. Bir integron, bir 5' korunmuş integrasyon geni (*int*), üzerinde diğer antibiyotik dirençlilik genlerinin bulunduğu bir gen kaseti ve gen kasetinin integrasyon yerini (*attI*) içerir. Beta-laktamaz genlerini taşıyan integronları bulunduran transpozon ve plazmidler, böylece *bla* genlerinin kolaylıkla yayılmasını sağlarlar (3).

Ambler Moleküler Sınıflandırma

Ambler moleküler sınıflandırma sistemi, beta-laktamazların amino asit dizisindeki benzerlikleri temel almıştır. Ambler sınıflandırma sisteminde, beta-laktamazlar A, B, C ve D olarak kodlanan 4 ana sınıfa ayrılmışlardır. A, C ve D sınıflarındaki enzimlerin aktif kısımlarında serin bulunduğu için serin beta-laktamazlar olarak bilinirler. B sınıfı ise metallo-beta-laktamazlardır ve aktif kısımlarında inko (Zn^{2+}) bulunmaktadır. Ayrıca, bu gruplardaki beta-laktamazlar arasında enzim hidrolitik mekanizmaları açısından da farklılıklar vardır. Serin beta-laktamazlar PBP'lere benzerlik gösterirler ve her ikisi Ser-Xaa-Xaa-Lys motifi taşırılar. Her ikisinde serini nükleofilik reaksiyonda kullanır ve bir kovalent asilenzim ara maddesi ile beta laktam antibiyotikleri hidrolize eder. Metallo-beta-laktamazlar ise metal merkezi oluşturan His-Xaa-His-Xaa-Asp motifi ile farklılık gösterirler. Metallo-beta-laktamazlar ise hidrolizde metal ile aktive olmuş su nkleofilini kullanır (2).

Sınıf A Beta-laktamazlar

Bu sınıf, kromozomal ve plasmid kökenli penisilinazları, sefalosporinazları ve karbapenemazları kapsamaktadır. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde grup 2'de yer alırlar. Sınıf A beta laktamazların temel özellikleri aşağıda sunulmuştur (12).

1-Penisilinazlar (PC1): Benzilpenisilini sefalosporinlerden daha iyi hidrolize ederler. Klavulanik asit ile inhibe olurlar. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2a grubundadırlar. PC1, bu grubun temsilcisi enzimdir.

2-Penisilinazlar ve ilk sefalosporinazlar: Penisilinleri ve sefalosporinleri hidrolize eden ve klavulanik asit tarafından inhibe edilen enzimlerdir. Bu grubu temsil eden enzimler TEM-1 (Temoneira), TEM-2 ve SHV-1 (sulfhydryl variant)'dir. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2b grubundadırlar.

3-Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (GSBL): Oksiimino beta laktamları ve monobaktamları hidrolize eden ve klavulanik asit tarafından inhibe edilen enzimlerdir. SHV-2, TEM-3, CTX-M-15 (cefotaksimase), PER-1 ve VEB-1 bu grubu temsil eden enzimlerdir. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2be grubundadırlar.

TEM, SHV ve CTX-M tipi beta-laktamazlar Gram negatiflerde, özellikle Enterobacteriaceae familyası bakterilerde, üretilen en yaygın GSBL'lerdir. TEM tipi beta-laktamazlar TEM-1 ve TEM-2'nin türevleridir, SHV tipi beta-laktamazlar ise SHV-1 in türevleridir (14, 16). Tüm TEM ve SHV tipi GSBL'lar, bahsedilen genlerde şekillenen nokta mutasyonlar sonucu, tek aminoasit değişiklikleri ile şekillenmişlerdir ve rakamlar verilerek yeni enzimler kodlanmışlardır (TEM-3, TEM-4 ve diğerleri; SHV-3, SHV-4, ve diğerleri) (18, 20). Son 10 yıl içinde hızlı bir artış gösteren sefotaksim dirençli Gram negatif bakterilerde bulunan CTX-M tipi beta-laktamazlar ise TEM ve SHV tipi beta-laktamazlardan köken almazlar ve bu enzimler, her biri çok sayıda alt tip içeren CTX-M-grup 1, grup 2, grup 8, grup 9 ve grup 25 olarak adlandırılmış 5 gruptan oluşmaktadır (14, 18, 20).

TEM, SHV ve CTX-M tip beta-laktamazlar fenotipik olarak çok belirgin olmayan farklılıklar gösterebilmektedirler. Örneğin, CTX-M enzimleri, sefotaksimi seftazidime göre daha iyi hidrolize edebilmekte iken klavulanik asite kıyasla tazobaktam tarafından daha iyi inhibe edilmektedir (Tablo 1) (14, 18).

4- Penisilinazlar: klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam tarafından inhibe edilmeye dirençli penisilinazlardır. TEM-30 ve SHV-10, bu grubu temsil ederler. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2br grubunda bulunurlar.

5- Genişlemiş spektrumlu sefalosporinazlar: Klavulanik asit, tazobaktam ve sulbaktam tarafından inaktif olmaya dirençli olan genişlemiş spektrumlu sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize edebilen enzimlerdir. TEM-50, bu grubun temsilcisidir. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2ber grubunda bulunurlar.

6-Genişlemiş spektrumlu sefalosporinazlar: Sefalosporinleri hidrolize uğratan ancak aztreonamı hidrolize edemeyen, klavulanik asit tarafından inaktif edilebilen enzimlerdir. CepA, bu grubu temsil eden enzimdir. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2e grubunda bulunurlar.

7-Karbenisilinazlar: Karbenisilini hidrolize eden ve klavulanik asite duyarlı olan enzimlerdir. PSE-1 ve CARB-3, bu grubu temsil eden enzimlerdir. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2c grubundadırlar.

8-Karbenisilinazlar: Karbenisiline ek sefepim ve sefpirom'uda hidrolize eden ve klavulanik asit tarafından inhibe edilen enzimlerdir. RTG-4, bu grubun enzimidir. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2ce grubundadırlar.

9-Karbapenemazlar: Oksiimino beta laktamları, sefamisinleri ve karbapenemleri hidrolize eden enzimlerdir. Klavulanik asite duyarlılığı değişkendir. Bu

enzimler sıklıkla *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* ve *Klebsiella pneumoniae*'de belirlenirler. KPC-2 (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), IMI-1 ve SME-1 enzimleri bu grupta yer alır. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 2f grubundadırlar.

Sınıf B Beta-laktamazlar

Bu sınıftaki beta-laktamazlar yapısal özelliklerine göre 3 alt sınıfa ayrılırlar. (21, 22).

Alt Sınıf B1: Penisilinleri, sefalosporinleri ve karbapenemleri hidrolize uğrattıkları fakat monobaktamları hidrolize edemezler. Beta-laktamaz inhibitörleri tarafından ise inhibe edilemezler (IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1). Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 3a alt grubuna denk gelirler (12, 22).

Alt Sınıf B2: Karbapenemleri penisilin ve sefalosporinlere göre daha iyi hidrolize edebilirler. Beta-laktamaz inhibitörleri tarafından ise inhibe edilemezler (CphA, Sfh-1). Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 3b grubuna denk gelirler (12, 22).

Alt Sınıf B3: Bu alt gruptaki enzimler (L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1), diğer enzimlerden çinko iyonu bağlanmasında görev alan amino asitlerin farklı olmasıyla ayrılsa da, benzer geniş spektrum substrat profillerine sahiptirler. Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde 3a alt grubu altında sınıflandırılmışlardır (22).

Sınıf C Beta-laktamazlar

Bu sınıftaki enzimler, AmpC beta-laktamazlar olarak da bilinirler. Çoğunlukla kromozomlarda bulunan genler tarafından kodlanmalarına rağmen plazmidlerde bulunan AmpC beta-laktamaz genleride vardır. AmpC beta-laktamaz üreten bakteri, penisilinlere, sefalosporinlere (oksiimino-sefalosporinler dahil) ve sefamisinlere dirençlidirler. Beta-laktamaz inhibitörleri tarafından inhibe edilemezler ancak kloksasilin ve 3-aminofenilboronik asit tarafından inhibe edilirler (12, 18, 23, 24). Kromozomlarda bulunan AmpC genleri normal şartlarda eksprese olmazlar ancak bu genlerde derepresyona neden olan mutasyon oluşumu veya beta laktam antibiyotik varlığında indüklenme sonrasında yüksek seviyede eksprese olurlar. Plazmidlerde bulunan AmpC beta-laktamaz genleri ise temel olarak 6 familyaya ayrılmış olup ACC, CIT, DHA, EBC, FOX ve MOX olarak kodlanmışlardır (23, 24). Plazmid kökenli AmpC beta-laktamaz genleri ise indüklenebilir nitelikte değildir ve kromozomal genlerin transferi ile gelişmişlerdir (25).

Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırmasında, grup 1'de yer alırlar ve ayrıca kendi içinde alt grup 1 ve grup 1e diye 2'ye ayrılırlar. Alt grup 1e, grup 1'in türevleridir ve amino asit değişiklikleri, ilavesi ve çıkarılması ile türemişlerdir (22, 23).

Sınıf D Beta-laktamazlar

Bu sınıftaki beta-laktamazlar, oksasilini hidrolize ettiklerinden dolayı OXA tipi beta-laktamazlar olarak adlandırılmışlardır. OXA beta-laktamazlar, beta-laktamaz enzimleri arasında en fazla çeşitlilik gösteren gruptur. OXA tipi beta-laktamazların (OXA-11 ve OXA-15) bir kısmı, GSBL aktivitesi gösterir ve oksiimino sefalosporinlere direnç gelişimine neden olur. Karbapenemleri hidrolize edebilen OXA tipi beta-laktamazlarda (karbapenemaz) (OXA-23 ve OXA-48) mevcuttur ve sınıf D'ye dahil edilmişlerdir (12, 18). Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırma sisteminde grup 2d, 2de ve 2df'de yer almaktadırlar (21, 22).

Bush-Jacoby ve Medeiros Sınıflandırması

Beta-laktamazlar, Bush – Jacoby – Medeiros sınıflandırma sisteminde, substrat ve inhibitör profillerine göre 4 ana gruba ayrılmıştır ve grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 olarak adlandırılmışlardır.. Ancak, Bush ve Jacoby sınıflandırma sistemi 2009 yılında güncellenmiş olup grup 4 sınıflandırılmadan çıkarılmıştır (22). Bush-Jacoby sınıflandırması ayrıca beta-laktamazları çok sayıda alt gruba (alt grup 1, 1e, 2a, 2b, 2be, 2br, 2ber, 2c, 2ce, 2d, 2de, 2df, 2e, 2f, 3a ve 3b) ayırmaktadır (19, 21, 22). Tablo 1'de bu sınıflandırmadaki grupların substrat, inhibitör ve enzim karakteristikleri sunulmuştur (22).

En son sınıflandırma bu iki sınıflandırma yönteminin kombinasyonundan oluşmaktadır ve beta-laktamazların büyük çoğunluğunu 17 grupta toplamaktadır. Bu son sınıflandırmada ayrıca inhibitör olarak avibaktam (AV) maddesi de serin beta-laktamazların ve metallo-beta-laktamazların ayırımında kullanılmıştır ve tüm fenotipik testlerde ayırımı yapabildiği belirlenmiştir (26). Aşağıda Şekil 10'da bu son sınıflandırma sunulmuştur (26).

Her geçen gün DNA dizi analizinin kolaylığı ve yaygınlaşmasında dolayı yeni beta-laktamazlar tanımlanmaktadır ancak yeni belirlenen enzimlerin bazıları tanımlanmış grupların belirli fenotipik özelliklerini taşımadıklarından sınıflandırılmalarında zorluk yaşanabilmektedir.

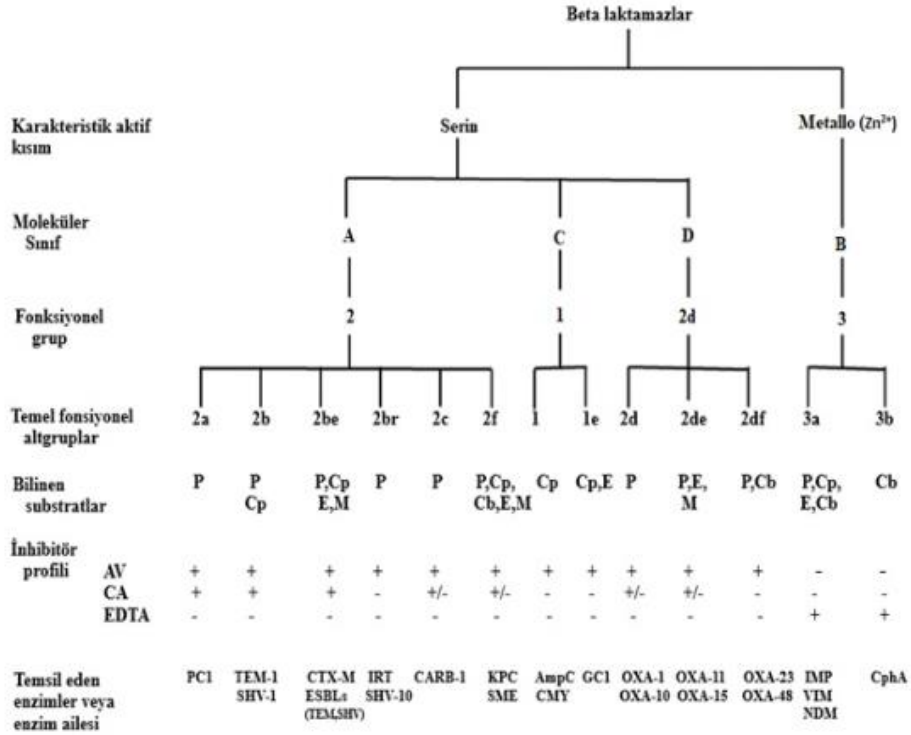
Tablo 1. Beta-laktamazların Bush-Lacoby ve Medeiros sınıflandırılması (22)

Bush-Jacoby grup (2009)	Moleküler sınıf (alt sınıf)	Tercih edilen substrat(lar)	İnhibisyon		Karakteristik tanımı(ları)	Temsil eden enzim(ler)
			CA or TZB	EDTA		
1	C	Sefalosporinler	H	H	Sefalosporinleri benzilpenisilinden daha iyi hidrolize eder, Sefamisinleri hidrolize eder.	<i>Escherichia coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Sefalosporinler	H	H	Seftadizim ve sıklıkla diğer oxiimino beta laktamları artmış seviyede hidrolize eder.	GCI, CMY-37
2a	A	Penisilinler	E	H	Benzilpenisilinleri sefalosporinlerden daha iyi hidrolize eder.	PC1
2b	A	Penisilinler, ilk sefalosporinler	E	H	Benzilpenisilin ve sefalosporinleri benzer seviyede hidrolize eder.	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	E	H	Oxiimino beta laktamları (sefotaksim, seftazidim, seftriakson, ve aztreonam) artmış seviyede hidrolize eder.	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	A	Penisilinler	H	H	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktama direnç görülür.	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	H	H	Klavulanik asit, sulbaktam ve tazobaktam dirençliliği ile kombine oksiimino beta laktamları artmış seviyede hidrolize eder.	TEM-50
2c	A	Karbenisilin	E	H	Karbenisilin artmış seviyede hidrolizi görülür.	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Karbenisilin, cefepim	E	H	Karbenisilin, sefepim ve sefpiromu artmış seviyede hidrolize eder.	RTG-4
2d	D	Kloksasilin	D	H	Kloksasilin veya oksasilini artmış seviyede hidrolize eder.	OXA-1, OXA-10
2de	D	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler	D	H	Kloksasilin veya oksasilini ve oksimino beta laktamları hidrolize eder.	OXA-11, OXA-15
2df	D	Karbapenemler	D	H	Kloksasilin veya oksasilin ve karbapenemleri hidrolize eder.	OXA-23, OXA-48
2e	A	Genişletilmiş spektrumlu sefalosporinler	E	H	Sefalosporinleri hidrolize eder. Klavulanik asit tarafından inhibe olur fakat aztreonamdan inhibe olmaz	CepA
2f	A	Karbapenemler	D	H	Karbapenemler, oksimino beta laktamlar ve sefamisinleri artmış seviyede hidrolize eder.	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B(B1)	Karbapenemler	H	E	Karbapenemleri içeren fakat monobaktamları içermeyen şekilde geniş spektrum hidroliz oluşturur.	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
	B(B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	B(B2)	Karbapenemler	H	E	Karbapenemlerin tercihlili hidrolizi görülür.	CphA, Sfh-1
NI	Bilinmeyen					

H: Hayır; D:Değişken; E: Evet; CA: Klavulanik asit; TZB: Tazobaktam; EDTA:Etilen diamin tetra asetik asit

Tablo 2. Türkiye'deki araştırmalarda Gram negatiflerde belirlenmiş beta-laktamazlar

Kaynak	Yıl	Hayvan türü	Alınan örnek	Gram negatif bakteri	Beta-laktamaz
Kucukbasmacı ve ark..(27)	2008	Sığır	Dışkı	<i>E. coli</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter brakii</i>	SHV-5, SHV-12, TEM-1
		Buzağı	Rektal sıvap	-	-
		Koyun	Rektal sıvap	-	-
Pehlivanoglu ve ark. (28)	2016	Sığır	Süt	<i>E. coli</i>	CTX-M-15, TEM-1
Pehlivanoglu ve ark.(29)	2016	Sığır	Dışkı	<i>E. coli</i>	CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-15, TEM-1, SHV-12
		Koyun	Dışkı	<i>E. coli</i>	CTX-M-3, CTX-M-15, TEM-1
Pehlivanoglu ve ark.(30)	2016	Köpek	İdrar	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV-11, CTX-M-15
Başaran ve ark. (31)	2016	Tavuk (broiler)	Dışkı	<i>E. coli</i>	CTX-M sınıfı, TEM sınıfı, SHV sınıfı, CIT familya
Aslantaş ve ark.(32)	2017	Sığır	Rektal sıvap	<i>E. coli</i>	CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-15, TEM-1b, CMY-2
Pehlivanoglu ve ark.(33)	2017	Tavuk (yumurtacı)	Dışkı	<i>E. coli</i>	CTX-M-3, CTX-M-15, TEM-1
Pehlivanoglu (34)	2017	Tavuk (Yumurtacı)	Dışkı	<i>E. coli</i>	CIT familya, MOX familya
Gumus ve ark. (35)	2017	Kedi ve Köpek	Dışkı	<i>E. coli</i>	CTX-M grup 1 ve grup 9, TEM sınıfı, SHV sınıfı, CIT familya, MOX familya
Unal ve ark.(36)	2017	Tavuk (broiler)	Kloakal sıvap	<i>E. coli</i>	CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-15, CTX-M-16, TEM-1, SHV-12, OXA-1
Aslantaş ve ark. (37)	2017	Köpek	Rektal sıvap	<i>E. coli</i>	CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-15, TEM-1b, SHV-12, OXA-1, CMY-2
Yıldırım ve Pehlivanoglu (38)	2018	Buzağı	Dışkı	<i>E. coli</i>	CTX-M sınıfı, TEM sınıfı
Sakin ve ark.(39)	2018	Kafes kuşları	Dışkı sıvap	<i>E. coli</i>	CTX-M-15



Şekil 10. Beta-laktamaz enzimleri arasındaki fonksiyonel ve moleküler ilişki (26).

Beta-laktamaz Veri Tabanı

Günümüze kadar tespit edilmiş olan bakteriyel beta-laktamazlar hakkındaki bilgilere beta-laktamaz veri tabanından ulaşılabilir. Bu veri tabanı <http://bldb.eu/> internet sitesinde bulunmaktadır (17). Bu veri tabanı, antibiyotik dirençliliğinde öneme sahip beta-laktamazların nükleotid ve amino asit dizileri, fonksiyonları ve yapıları hakkında bilgileri içermektedir. Bu veri tabanına erişim ücretsiz olarak mümkündür.

Türkiye'deki Durum

Türkiye'de sağlıklı ve hasta hayvanlardan izole edilmiş Gram negatiflerin ürettikleri beta-laktamazların belirlenmesine yönelik çalışmalar, son beş yıl içerisinde yoğunluk kazanmıştır. Ancak bu çalışmaların bir kısmında beta-laktamaz enzimlerinin dizi analizi ile karakterizasyonu yapılmış olup diğerlerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) düzeyinde genlerin belirlenmesi ile çalışma bulguları sınırlı kalmıştır. Ayrıca Türkiye'deki çalışmalar genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar (TEM, SHV, CTX-M and OXA)(Ambler moleküler sınıf A ve D, Bush-Jacoby ve Medeiros Sınıflandırması grup 2) ve AmpC tip beta-laktamazlar (Ambler moleküler sınıf

C, Bush-Jacoby ve Medeiros Sınıflandırması grup 1) ve özellikle *E. coli* üzerine odaklanmış durumdadır. Bunun da nedeni Gram negatif bakterilerde en yaygın olarak bu beta-laktamazların üretilmekte olduğunun bilinmesidir. Tablo 2'de Türkiye'de evcil ve çiftlik hayvanlarında yapılmış çalışmaların bulguları sunulmuştur.

Sonuç

Gram negatif bakterilerdeki beta-laktamaz enzim tiplerinin belirlenmesi, enzimlerin inaktif ettikleri beta laktam antibiyotikler (substratlar) arasında farklılıklar olduğundan dolayı önem kazanmaktadır ve böylece antibakteriyel tedavide karşılaşılan başarısızlığın nedeni belirlenmiş olmaktadır. Bu nedenle, patojen ve normal flora bakterilerinde beta-laktamaz tiplerinin belirlenmesi hem bakterilerdeki direnç gelişiminde mutasyonların izlenmesi açısından hem de yeni beta-laktamazlara dirençli beta laktamazların geliştirilmesi açısından önemli olmaktadır. Türkiye'de gerek hayvan gerekse insan kaynaklı bakterilerde antibiyotik direncinden sorumlu olan beta-laktamazın ve diğer enzimlerin karakterize edilmesi ve verilerin gelişmiş ülkelerdeki gibi ulusal veri tabanı oluşturup yayınlanması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Bush K, Bradford PA. Beta lactams and beta lactam inhibitors: An overview. Cold Spring Harb Perspect Med 2016; 6: a025247.
2. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, et al. Beta-lactamases and beta-lactamase inhibitors in the 21st century. J Mol Bio 2019; 431: 3472-3500.

3. Babic M, Hujer AM, Bonomo RA. What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. *Drug Resist Updat* 2006; 9: 142-56.
4. Worthington RJ, Melander C. Overcoming resistance to beta lactam antibiotics. *J Org Chem* 2013; 78: 4207-4213.
5. Valerio RFM, Ashraf A, Jacques D, et al. Cryo-transmission electron microscopy of frozen-hydrated sections of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal Bacteriol* 2003; 185: 6112-6118.
6. Black JG. *Microbiology, Principles and Applications*. 3rd Edition, New Jersey, USA: Prentice Hall, 1996.
7. Gulay Z. Hücre duvar sentezini etkileyen antibakteriyeller. *ANKEM Derg* 2003; 17: 192-204.
8. Zeng X, Lin J. Beta-lactamase induction and cell wall metabolism in Gram-negative bacteria. *Front Microbiol* 2013; 4: 128.
9. Kong KF, Schnepfer L, Mathee K. Beta-lactam antibiotics: From antibiotic resistance to bacteriology. *APMIS* 2010; 118: 1-36.
10. Wilke MS, Lovering AL, Strynadka NC. Beta lactam antibiotic resistance: A current structural perspective. *Curr Opin Microbiol* 2005; 8: 525-533.
11. Massova I, Mobashery S. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob.Agents Chemother* 1998; 42: 1-17.
12. Rao S. 'Extended spectrum beta lactamases' <https://www.microrao.com/micronotes/pg/ESBLs.pdf/> 29.05.2019.
13. Livermore DM. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-584.
14. Livermore DM. Current epidemiology and growing resistance of Gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med* 2012; 27: 128-142.
15. Russell AD. Mechanisms of bacterial resistance to antibiotics and biocides. *Prog Med Chem* 1998; 35: 133-197.
16. Guenther S, Ewers C, Wieler LH. Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of environment pollution? *Front Microbio* 2011; 2: 246.
17. Naas T, Oueslati S, Bonnin RA, et al. Beta-lactamase database (BLDB) – structure and function, *J Enzyme Inhib Med Chem* 2017; 32: 917-919.
18. Perez F, Endimiani A, Hujer KM, et al. The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7: 459-469.
19. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: A clinical update, *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 657-686.
20. Bradford PA. Extended spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 933-951.
21. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.
22. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 969-976.
23. Jacoby GA. AmpC Beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 161-182.
24. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2153-2162.
25. Thomson KS. Controversies about extended-spectrum and AmpC beta-lactamases. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 333-336.
26. Bush K. Past and present perspectives on beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 10: e01076-18.
27. Kucukbasmaci O, Ciftcioglu G, Midilli K, et al. Detection of extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* from food animals in Turkey. *Revue Méd Vét* 2008; 159: 586-592.
28. Pehlivanoglu F, Turutoglu H, Ozturk D. CTX-M-15-type extended-spectrum beta – lactamase – producing *Escherichia coli* as causative agent of bovine mastitis. *Foodborne Pathog Dis* 2016; 13: 477-482.
29. Pehlivanoglu F, Turutoglu H, Ozturk D, et al. Molecular characterisation of ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from healthy cattle and sheep. *Acta Vet-Beograd* 2016; 66: 520-533.
30. Pehlivanoğlu F, Şababoglu E, Öztürk D, Türütoğlu H. Bir köpeğin idrar yolu enfeksiyonundan izole edilen *Klebsiella pneumoniae*'nin genişlemiş spektrumlu beta- laktamaz genlerinin karakterizasyonu. 12. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi 30 Ağustos-02 Eylül 2016, Kapadokya, Nevşehir, Türkiye. Bildiri özet kitabı sayfa: 19-20.
31. Basaran Kahraman B, Diren Sigirci B, Celik B, et al. Detection of extended-spectrum beta-lactamase and AmpC beta-lactamase producing *Escherichia coli* isolates from chickens. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2016; 22: 591-596.
32. Aslantas O, Elmacioglu S, Yilmaz ES. Prevalence and characterization of ESBL-and AmpC-producing *Escherichia coli* from cattle. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2017; 23: 63-67.
33. Pehlivanoglu F, Turutoglu H, Ozturk D, et al. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing fecal *Escherichia coli* isolates in laying hens. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2017; 64: 301-306.
34. Pehlivanoglu F. Existence of plasmidic AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in healthy laying hens. *Van Vet J* 2017; 28: 63-67.
35. Gumus B, Celik B, Kahraman BB, et al. Determination of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) and Ampc beta-lactamase producing *Escherichia coli* prevalence in faecal samples of healthy dogs and cats. *Revue Med Vet* 2017; 168: 46-52.
36. Unal, N, Karagoz A, Askar S, et al. Extended-spectrum beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in healthy broilers in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2017; 41: 72-76.

37. Aslantas O, Yılmaz ES. Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and plasmidic AmpC beta-lactamase (pAmpC) producing *Escherichia coli* in dogs. J Vet Med Sci 2017; 79: 1024-1030.
38. Yıldırım D, Pehlivanoglu F. Buzağıların genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E. coli* taşıyıcılığı. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 2018; 32: 155-160.
39. Sakin F, Mujde C, Aslantas O. Isolation and molecular characterization of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* from cage birds in Adana region, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2018; 24: 613-617.