

Antimikobakteriyel ilaçların moleküler direnç mekanizmalarına genel bir bakış

An overview of the molecular resistance mechanisms of antimycobacterial drugs

Elif ÇİFTÇİ¹ (ID), Dilek SATANA¹ (ID)

ÖZET

Bulaşıcı ve öldürücü bir hastalık olan tüberküloz dünyada en önemli sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Hali hazırda uygun dozda ve kombinler ile uygulanan tedaviye cevap söz konusudur; ancak düşük doz, yanlış kombinasyon ve hastanın tedaviyi terk etmesi gibi nedenlerle ilaca karşı direnç gelişebilmektedir. Bunun sonucunda tek ilaca direnç oluşabildiği gibi birden fazla ilaca dirençli suşlar da ortaya çıkabilmektedir. Bakterilerde direnç gen aktarımı yoluyla gerçekleşmektedir. Ancak mikobakterilerde direnç gen aktarım yoluyla değil spontan nokta mutasyonuyla oluşmaktadır. Bilinen ilaçların mikobakteri üzerindeki etki bölgesinin bilinmesi, tedavide ilaç birlikteliği ve uyumu açısından önem taşımaktadır. Mikobakteri duyarlılık testlerinin uzun sürede sonuçlanması hem hastanın tedaviye başlama süresini hem de direnç varlığının belirlenmesini geciktirmektedir. Bu problemin çözülmesi amacıyla hızlı moleküler duyarlılık testleri geliştirilmiştir. Moleküler ilaç duyarlılık testleri kısa sürede direnci belirleyebilen, ilgili gen bölgesinde mutasyonların varlığı ya da yokluğunu saptayan ve direnç mekanizmasını ortaya koyabilen hızlı yöntemlerdir.

ABSTRACT

Tuberculosis, a contagious and lethal disease, continues to be one of the most significant health problems worldwide. Currently, treatment with appropriate doses and combinations is effective; however, resistance to medication can develop due to factors such as low dosage, incorrect combinations, and patient abandoning treatment. As a result, resistance to a single drug may occur, as well as strains resistant to more than one drug. Resistance in bacteria occurs through gene transfer. However, mycobacteria develop resistance through spontaneous point mutations rather than gene transfer. Understanding the effect area of known drugs on mycobacteria is crucial for determining drug combinations and compatibility in treatment. The long duration of mycobacterial susceptibility tests delays both the initiation of treatment and the identification of resistance. Rapid molecular susceptibility tests have been developed to address this issue. Molecular drug susceptibility tests are rapid methods that can determine resistance quickly, detect the presence or absence of mutations in the relevant gene region, and exposes the resistance

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., İstanbul, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Elif ÇİFTÇİ

İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Tıbbi Mikrobiyoloji AD., İstanbul - Türkiye

E-posta / E-mail : eliffciftci@outlook.com

Geliş Tarihi / Received : 06.05.2024

Kabul Tarihi / Accepted : 28.07.2024

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2025.15045

Çiftçi E, Satana D. Antimikobakteriyel ilaçların moleküler direnç mekanizmalarına genel bir bakış. Turk Hij Den Biyol Derg, 2025; 82(1): 197 - 206

Moleküler testler tüm bu olumlu yönlerinin dışında, bazen genotipik olarak dirençli gibi görülen, ancak fenotipik olarak bu direncin yansımadığı durumlara neden olabilmektedir. Bazen de moleküler testler ile duyarlı olduğu belirlenen ancak fenotipik olarak dirençli olan suşlara da rastlanmaktadır. Tüberküloz tedavi sürecinin uzun sürmesi, hastanın tedaviyi terk etmesi, hastalığın yeniden nüksetmesi gibi olası sorunlar dikkate alındığında moleküler testlerin kullanımı klinisyenlere büyük yarar sağlamaktadır. Ancak elde edilen sonuçların mutlaka klasik antibiyotik duyarlılık deneyleri ile doğrulanması gerektiği unutulmamalıdır. Sonuç olarak; yeni teknolojilerin varlığı ve klasik ilaç duyarlılık deneylerinin birlikte kullanımıyla, ilaç etkisi-direnç mekanizmasının anlaşılabilmesi, tüberküloz tedavisinde yeni nesil ilaçların da gelişimini etkileyebileceği ve yeni ilaçlara karşı direnç gelişiminin en aza indirilmesini olanaklı hale getireceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, ilaç direnci, mikobakteri, duyarlılık

mechanism. However, molecular tests may sometimes result in cases where phenotypic resistance is not reflected despite genotypic resistance appearing to be present. Additionally, strains that are determined to be susceptible by molecular tests may exhibit phenotypic resistance. Given the potential challenges such as the long duration of tuberculosis treatment, patient abandonment, and disease relapse, the use of molecular tests provides significant benefits to clinicians. However, it is essential to verify the obtained results with classical antibiotic susceptibility tests. In conclusion, it is believed that the existence of new technologies and the use of classical drug susceptibility tests will allow for the understanding of drug effect-resistance mechanisms, influence the development of next-generation drugs in tuberculosis treatment, and enable the minimization of resistance development against new drugs.

Key Words: Tuberculosis, drug resistance, mycobacteria, susceptibility

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), tüm dünyada yaygın olarak görülen, insan sağlığını tehdit eden bulaşıcı ve öldürücü bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2022 yılına ait TB raporu incelendiğinde 2020 yılı Mart ayında ilan edilen COVID-19 pandemisi ile birlikte TB teşhisi konan ve TB vakası bildirilen kişi sayısı ve hasta yükü (mortalite ve insidans) üzerindeki etkilerini belirtmişlerdir. 2020 yılında yeni TB teşhisi konan bildirimlerde düşüş olduğu belirtilmiş olup bu dönemdeki TB vakalarının tespitinde azalmaları yansıttığı ve TB hizmetlerindeki aksaklıkların hastalığın yükü üzerinde büyük bir etkisi olduğu belirtilmiştir. 2021 yılında dünya genelinde TB ile hastalanan kişilerin 10,6 milyon olduğu bu vakaların %6.7'si insan bağışıklık yetmezliği virüsü

(HIV) ile enfekte olduğu ifade edilmiştir. Son yirmi yılda yaklaşık %2 oranındaki düşüşün ardından 2020-2021 yılları arasında %3,6 ile arttığı belirtilmiştir. TB mortalite oranına bakıldığında; 2005-2019 yılları arasındaki düşüşün, 2020 ve 2021 de tersine döndüğü, HIV negatif insanlar arasındaki tahmini ölümün 1.4 milyon olduğu gösterilmiştir. Bitirme Stratejisi'ne (End TB) göre belirlenen %35'lik azalma hedefi 2015-2021 yılları arasında sadece %5,9 olarak kayıt edilmiştir. Çok ilaca dirençli (ÇİD)- TB vakaları 2020 yılına kıyasla %3,1 oranlık artış ile 2021'de tahmini 450.000 olarak kayıtlara geçtiği, bu artışın COVID-19 pandemisinin TB tespiti üzerindeki etkisinin bir sonucu olarak meydana geldiği tahmin edilmektedir. Pandemi dönemindeki TB insidans artışının, ÇİD- TB nedeniyle 191.000 ölüm meydana gelmesine neden olduğu belirtilmiştir (1).

Dünya genelinde yaşanan ve tüm insanlığı olumsuz yönde etkileyen COVID-19 pandemisinin TB üzerindeki etkisi, uzun yıllar üzerinde çalışılan tespit ve tedavi stratejilerine olan negatif yöndeki eğilimi, End TB stratejisinin 2030 yılı için belirlenen hedefe olan farkın toparlanabilmesi ülkelerin belirlenen tespit, tedavi ve takibin iş birliği ile yapılması ile mümkün olacaktır. Bu süreçte belirlenen ilaç duyarlılık testlerinin yapılarak var olan direncin belirlenmesi, buna yönelik stratejilerin yürütülmesi önem arz etmektedir. TB tedavisi için belirlenen yeni nesil ilaçların direnç profillerinin belirlenmesi, ülke ve dünya genelinde yaygınlığının saptanması ve tedavideki kullanımlarının göz önüne alınması gibi araştırmaların yapılması hedefe yönelik çalışmalara katkı sağlayacaktır.

Mikobakteri ve Antimikobakteriyel Direnç

TB hastalığının sorumlusu %97-99 oranında *Mycobacterium tuberculosis* bakterisidir. Mikobakteriler hücre duvarlarında buldukları uzun zincirli yağ asiti olan mikolik asit sebebiyle aside direnç özelliği göstermektedir. Yavaş üreme gösteren ve hücre içi bir basil olan hastalık etkeni, Gram negatif ve Gram pozitif sınıflandırmaya dahil edilmezler (2). Hastalığın ana sorumlu etkeni *M. tuberculosis*'le birlikte kompleks grup altında yer alan *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canetti*, *M. pinnipedii*, *M. microti*, ve *M. caprae* türleri yer almaktadır. Son genom dizilim çalışmaları ile *M. orygis* ve *M. mungi* türleride kompleks grubuna dahil edilmiştir (3).

M. tuberculosis yaklaşık 4.000 gen kodlayan genoma sahiptir ve % 61-71 oranında guanin ve sitozin içermektedir. *M. tuberculosis* diğer bakteri gruplarından yüksek oranda gen kodlama kapasitesine sahip olması ve çeşitli enzimleri üretilebilmesi ile ayrılmaktadır (4). Mikobakterilerin antibiyotiklere direnç gösterme özellikleri, kompleks hücre duvar yapılarına sahip olmaları ve B- laktamaz gibi yıkıcı enzimleri üretmesi ile bağlantılıdır. TB tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı direncin gelişiminden gen mutasyonları sorumludur. Yerleri ve mekanizmaları birbirinden bağımsız olan bu spontan mutasyonlar ilacın

hedef noktasında değişikliklere neden olmaktadır (5). Bu özellikleri nedeniyle ilaç direncinden sorumlu genler moleküler yöntemler ile tanımlanabilmektedir. TB'nin tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen ilaçlara *M. tuberculosis* suşunun geliştireceği mutasyon bu noktada önemli bir sorun olarak görülmektedir. Tüm genom analizleme (Whole Genom Sequencing (WGS)) gibi son teknoloji sistemler ile bu mutasyonların saptanabilmesi mümkündür (6).

Dünyada TB tedavisinde kullanıma girmiş yeni nesil ilaçların ülkemizde antimikrobiyal etkinliklerinin araştırılarak Türkiye'de de kullanımının başlanması ile söz konusu dirençli olguların oranlarında düşüşe ve tedavi rejiminin daha etkin kullanımına olanak sağlaması düşünülmektedir. Bu derlemede, hali hazırda kullanımı devam eden standart ilaçlar ile yeni nesil ilaçların etki mekanizmaları ve gen bölgelerinde hangi mutasyonlarla direncin ortaya çıktığı konusu ele alınması amaçlanmıştır.

İzoniyazid

Mikobakterilerde izoniyazid (INH) direncinin meydana gelmesine neden olan en sık gen mutasyonu katG mutasyonlarıdır (7). *KatG* mutasyonu katalaz/peroksidaz enzim aktivitesini düşürmekte; ancak sınırlamamaktadır. INH ilacına direnç gösteren klinik izolatlarda mutasyonun %50-95 oranında S315 mutasyonu olduğu belirtilmektedir (8). Serin aminoasidinin yerine treonin aminoasidinin yer aldığı S315 mutasyonunda peroksidaz enzim aktivitesi yarılanmakta, katalaz aktivitesi ise altı kat azalmaktadır. *M. bovis* izolatlarının birçoğunda 463. kodondaki arjinin yerine lösinin yer aldığı *katG* mutasyonu görülmektedir. Bu durumda *M. bovis* INH'a karşı *M. tuberculosis*'e göre daha az duyarlıdır. *M. bovis*'in 463. kodonunda meydana gelen bu mutasyon katalaz-peroksidaz enzim aktivitesini değiştirmemektedir (9). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, INH dirençli suşlarda gen mutasyon bölgesi ve minimal inhibisyon konsantrasyonları (MİK) arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Söz konusu çalışmada INH'a karşı en yüksek MİK değerine sahip olan izolatlarda saptanan mutasyon *katG* S315T kodonunda görülmüştür (10).

INH dirençli 949 *M. tuberculosis* izolatının değerlendirildiği bir meta-analiz çalışmasında, 909 (%95,8) suşta gen mutasyonları saptanmış, bu mutasyonların %95,8'inin *katG* 315, %5,9'unun *inhA* promotör bölgesinde olduğu belirlenmiştir. Suşlarda *katGMUT1*(S315T1) prevalansının %89,2, *inhAMUT1*(C15T) yaygınlığının ise %77,5 olduğu ifade edilmiştir (11).

INH direnci gösteren izolatlarda *katG* mutasyonlarından sonra %15-35 oranında *inhA* mutasyonları saptanmaktadır (7). Bu mutasyon ile *inhA* protein ekspresyonunun artması söz konusu olmakta ve buna bağlı olarak INH açısından hedeflerin çoğalması gerçekleşmektedir. Bu durum da bir seri hızlı mekanizma ile INH direnci oluşmaktadır. *InhA* protein ürününün NAD'ın bağlandığı yerdeki aminoasit yapısında değişikliğe neden olmasıyla INH direnci meydana gelebilmektedir (9). Ayrıca *katG* bölgesinde meydana gelen mutasyonlar yüksek düzeyde INH direncine neden olurken, *inhA* mutasyonları daha düşük düzeyde dirence neden olmaktadır (7).

Rifampin

Rifampin (RIF) RNA polimeraz enzimini inhibe ederek mikobakteriler üzerinde bakterisidal etki göstermektedir. Mikobakterilerde RIF ilacına gelişen direnç diğer bakteri grupları ile karşılaştırıldığında daha yavaş seyretmektedir. INH, pirazinamid, etambutol ve diğer ilaçlardan biriyle beraber kullanımı direnç gelişimini önlemektedir. RIF'in tek başına kullanılması, INH'a göre yan etkilerinin daha az ve bakteri üzerindeki etkisinin INH'a yakın olması, diğer ilaçlara karşı gelişen direnç durumunda da etkinliğini göstermesi gibi nedenlerden dolayı oldukça önemli bir ilaç olmaya devam etmektedir (12).

M. tuberculosis suşlarının RIF direnci, RNA polimeraz enziminin β -alt ünitesini kodlayan *rpoB* genindeki 507-533 kodonlar arasında delesyonlar, insersiyonlar veya yanlış anlamlı mutasyonlar aracılığıyla gelişmektedir. Tek bir kodonda bir nükleotidin değişmesi ile mutasyon olabileceği gibi birden fazla nükleotidin değişmesiyle de dirence

neden olan mutasyonlar gelişebilmektedir (13). RIF dirençli 847 suşun dahil edildiği bir meta-analiz çalışmasında, suşların %90,8'inde *rpoB* mutasyonları olduğu bildirilmiştir. Bu mutasyonun %74,2'si *rpoBMUT3* (S531L) bölgesinde olduğu ifade edilmiştir (11). RIF direncinde *rpoB* geninin RIF direncini belirleyen bölge (RRDR) de en sık görülen mutasyonlar 531, 526 ve 516. kodonlarda gerçekleşmektedir (14).

Pirazinamid

M. tuberculosis' te pirazinamid (PZA) direncinin ana mekanizması *pncA* genindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu gen bölgesinden üretilen pirazinamidaz (PZAz) ile aktif olan PZA, pirazinoik aside dönüşerek etkisini göstermektedir. PZA dirençli *M. tuberculosis* suşlarında PZAz aktivitesi bulunmamaktadır (15). PZA'ya dirençli *M. tuberculosis* suşlarının %85'inde *pncA* gen bölgesinde mutasyon saptanırken, bazı suşlarda mutasyon bulunmadığı bildirilmiştir (16).

PZA'nın *M. tuberculosis* üzerinde; membran enerji üretiminin engellenmesi, trans-translasyonda ribosomal protein S1 (*rpsA*), patotenik ve co-enzim A sentezini (*panD*) inhibe etmesi şeklinde sıralanan birçok etkisi vardır (17).

Ülkemizde 46 PZA dirençli *M. tuberculosis* izolatının yer aldığı bir çalışmada; %73,9 oranında direnç ile ilişkili gen mutasyonları saptanmıştır. İzolatların %71,7'sinde *pncA*, %28,2'sinde *rpsA* ve %4,3'ünde *panD* mutasyonları bildirilmiştir. Mutasyonlu izolatların 12'sinde *pncA/rpsA* gen mutasyonları ve iki'sinde *pncA/panD* gen mutasyonlarının birlikteliği belirlenmiştir (18).

Ethambutol

Ethambutol (EMB), hücre duvarındaki arabinogalaktanın biosentezini inhibe ederek mikolik asitlerin birikmesine ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Primer ilaçlar arasında yer almakta olup 1966 yılında TB tedavisi için kullanılmaya başlanmıştır (19).

M. tuberculosis'in *embB* geninin 306. kodonundaki

mutasyonlar, tüm EMB'ye dirençli klinik izolatların %30 ila 68'inde bulunmaktadır. *EmmB306* mutantlarının TB tedavisi süresince birden fazla birinci basamak ilaca karşı antibiyotik duyarlılığını etkileyebileceği ileri sürülmüştür (20).

Bir çalışmada, EMB dirençli 44 izolatın %68,2'sinde *embCAB* operonunda genomik mutasyonlar saptanmıştır. Bu izolatların 29'unda *embB* gen bölgesi 306. kodon pozisyonunda en yaygın mutasyon olduğu belirlenmiştir (21).

Hücre duvarı sentezinde yer alan decaprenylphosphate 5-phosphoribosyltransferase (DPPR) sentezini kodlayan *ubiA* geninin (Rv3806c), *M. tuberculosis*'de etambutol direnci ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. *M. tuberculosis*'deki *ubiA* geninin aşırı eksprese edilmesinin EMB'ye orta/ yüksek düzeyde direnç sağladığı bildirilmiştir. Bazı XDR-TB izolatlarında da *embB* mutasyonu olmaksızın *ubiA* gen bölgesinde mutasyonun varlığı ifade edilmiştir (22).

Streptomisin

Streptomisin (SM)'in bakteri üzerinde direnç gösterdiği asıl yer *rrs* geninin kodlandığı 16SrRNA ve *rpsL* geninin kodlandığı ribozomal S12 proteindir. SM direncinin %60-70'inden bu genlerde gerçekleşen mutasyonlar sorumludur (23).

SM dirençli çalışmalarda *rpsL* gen bölgesindeki 43. ve 88. kodonda mutasyon varlığı gösterilmiştir. SM direnci ile ilişkili olan *rpsL*, *rrs* ve *gidB* genlerinde mutasyon olmaksızın da bazı izolatlarda düşük seviyeli direnç gelişiminin görüldüğü bildirilmiştir. Bu direncin gelişiminde effluks pompalarının etkili olduğu gösterilmiştir (24). Aynı zamanda SM direnci ile bir 16S rRNA metiltransferaz olan *gidB*'deki bir mutasyon arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. *M. tuberculosis*'de *gidB*'nin duyarlı bir suşa göre MİK'te 16 kat artışla düşük seviyeli SM'ye dirençli bir fenotipik özellik kazandırdığı belirtilmiştir (25).

Florokinolon

Florokinolonlar bakteriler için önemli olan DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibe

etmektedir. *M. tuberculosis*'te topoizomeraz IV bulunmadığından, florokinolonların asıl hedefi DNA giraz enzimidir (26).

DNA giraz, sırasıyla *gyrA* ve *gyrB* genleri tarafından kodlanan iki A ve iki B alt biriminden oluşmaktadır. Kinolon direncini belirleyen bölge (QRDR) *M. tuberculosis*'in de dahil olduğu çoğu bakteri türünde *gyrA* ve *gyrB* gen bölgelerindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (27).

Florokinolona dirençli 1220 izolatın %64'ünde QRDR bölgesinde *gyrA* da mutasyon söz konusu iken, %0,6'sında bu bölgenin dışında mutasyona sahip olduğu, dirençli suşların %37'sinde *gyrA*'daki 94. kodonda çeşitli mutasyonların var olduğu bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada; florokinolon direncine sahip izolatlarda 90., 91. ve 94. kodonda, *gyrB* gen bölgesine ait mutasyon oranı ise %17 olarak rapor edilmiştir (28).

Kanamisin, Amikasin, Kapreomisin, Viomisin

TB tedavisinde ikinci basamak ilaçlar olarak kullanılan bu dört ilaç protein sentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir. Kanamisin (KM) ve amikasin (AMK), 16S rRNA seviyesinde değişiklik yaparak protein sentezini inhibe etmektedir (29).

On sekizden fazla ülkenin yer aldığı meta-analiz değerlendirmesinde; *rrs*, *tlyA*, *eis* promoteri ve *gidB* genlerindeki mutasyonlar AMK, KM ve/veya kapreomisine (KAP) karşı TB direnci ile ilişkilendirilmiştir (30). KM ve AMK'sine dirençli olan izolatlarda *rrs* 1400 gen bölgesinde adenin yerine guanin gelmesi sonucu meydana gelen mutasyon varlığı gösterilmiştir. ÇİD TB Estonya izolatlarının 43'ünde (%54) KM direnci ve AMK duyarlılığı görülmüş; *M. tuberculosis*'te aminoglikozit ilaçlardan KM ve AMK arasında çapraz direnç olduğu düşünüldüğünde her iki ilaca karşı dirençlerin test edilmesi gerekliliği gösterilmiştir (31). Yine KM dirençli izolatların %93,1'inde *rrs* gen bölgesinin 1401 pozisyonundaki mutasyon varlığı bildirilmiştir (32).

Kanamisine karşı direncin gelişmesine sebep olan bir diğer mutasyon aminoglikozit

asetiltransferazı kodlayan *eis* geni promotor bölgesinde gerçekleşmektedir. *Eis* promotörünün 35. ve 10. pozisyonlarındaki mutasyonlar, proteinin aşırı ekspresyonuna sebep olarak AMK yerine KM'ye karşı düşük düzeyde direnç yol açabilmektedir. Klinik izolatların %80'inde görülen bu mutasyonlar, KM'ye düşük seviyede direnç geliştirmektedir (33).

Kapreomisin ve viomisin (VİO) ribozomdaki büyük ve küçük alt birimlerin ara yüzüne bağlanarak etkisini göstermektedir (12). Bir çalışmada, *rrs* genindeki üç farklı mutasyonun (A1401G; C1402T; G1484T) KM, KAP ve VİO direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İlgili gen bölgesinde birden fazla bulunabilecek mutasyonun ilaçlar arasında çapraz direnç sebep olabileceği bildirilmiştir (34).

Yirmi iki araştırmanın değerlendirildiği bir sistemik derleme çalışmasında; KM, AMK, KAP'a dirençli *M. tuberculosis* suşlarında *rrs* genindeki A1401G mutasyonunun olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada dirençli suşlarda *tlyA* ve *eis* promotor bölgelerinde de bazı mutasyonların var olduğu belirtilmiştir (30). Çin'de dirençli izolatlarla yapılan bir çalışmada en sık gözlemlenen mutasyonun *rrs* geninde A1401G olduğu, *tly* ve *eis* promotor bölgesindeki mutasyonun KAP'a karşı düşük seviyeli dirençten sorumluluğu olduğu bildirilmiştir (35). İkinci nesil ilaçlara dirençli izolatlarda *rrs* ve *tlyA* genlerinde mutasyona rastlanmayıp *eis* protomor bölgede mutasyonun varlığı da gösterilmiştir (36).

Etionamid

Yapısal olarak izoniyazide benzeyen etionamid *ethA* gen bölgesindeki mutasyon ile direnç göstermektedir. Etionamid enoil-ACP redüktaz enzimini inhibe eden NAD ile eklenti oluşturarak mikolik asit sentezini inhibe etmektedir (37). INH direnci ile ilgili olan *inhA* geninde ortaya çıkan mutasyon, etionamide karşı direnç oluşumundan da sorumludur (38). İzoniyazid ve etionamid direncin *katG*, *ethA*, *ethR*, *mshA* ve *inhA* genlerindeki mutasyonlardan kaynaklandığını gösteren çalışmalar mevcuttur (39).

Para-Amino Salisilik Asit

Bakteriyostatik özellikte olan para-amino salisilik asit (PAS) folik asit yolağını inhibe ederek etkisini göstermektedir. *folC* geninde meydana gelen mutasyon PAS'a dirençten sorumlu tutulmuştur. Çok ilaca dirençli suşların kullanıldığı bir çalışmada, *thyA* geni ve *dfrA* kodlama bölgesindeki mutasyonlar tanımlanmıştır. PAS asit direnç mekanizmalarının ilacın konsantrasyonu ile de ilişkili olduğunu belirtilmiştir (40). PAS direnci mutasyonunun tanımlanabilmesi için tam genom dizilimi yapılan klinik izolatlarda, *thyA* ve *folC* gen bölgesi ile *dfrA* kodlama bölgesinde mutasyon varlığı gösterilmiştir (41).

Sikloserin

Sikloserin geniş spektrumlu bir antibiyotik olup D-alanin analogudur. İkincil basamak ilaçlar arasında yer alan sikloserin, bakteriyostatik özellik göstermektedir (19).

M. tuberculosis suşunun tüm genom diziliminin yapıldığı bir çalışmada, *ald* gen bölgesindeki mutasyonun sikloserin direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (42). Sanger dizi analizi ile doğrulama yapılan bir başka çalışmada ise sikloserine dirençli suşlarda *alr* gen bölgesindeki mutasyonun varlığı belirtilmiş, diğer gen bölgelerinin (*ddl*, *cycA*, *ald*) ise bu çalışmadaki mutant suşlarda tespit edilmediği belirtilmiştir (43).

Yeni nesil antitüberküloz ilaçlar

Bedakulin

Bedakulin (BDQ), diğer antitüberküloz ilaçlardan farklı olarak, etkisini ATP sentezini inhibe ederek göstermektedir. Bedakulin, ATP sentezinin gerçekleşmesi için mikobakteriyel ATP sentaz kompleksinin dönüşümünden sorumlu olan membran bağımlı C halkasını hedeflemektedir (44). Bedakulinin ÇİD-TB hastalarında kullanımıyla hastalarda balgam kültürünün negatife dönüşümünü kısalttığı ve negatif kültür oranını arttırdığı (%9'dan %48'e) bildirilmiştir. Bununla birlikte ilacın kullanımının umut verici olduğu görülmüş ve 2012 de ABD Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration-FDA) onayı almıştır (45).

Bedakulin direnci ile ilişkili olan gen bölgeleri *atpE*, *pepQ* ve *RV0678*'dir. Bu gen bölgelerinde bir veya birkaçının mutasyona sahip olduğu ifade edilmişse de (46) dirence sahip olup bu mutasyonlardan herhangi birini barındırmayan mikobakteri suşlarının varlığı da gösterilmiştir (47).

Delamanid

DSÖ'nün 2014 yılında onayladığı nitroimidazol sınıfı bir ilaçtır. Mikobakteriler üzerindeki etki mekanizmasını mikolik asit sentezini inhibe etme yoluyla gerçekleştirmektedir (48). Delamanid (DLM) mikobakteri cinsi için spesifiktir. Diğer bakteri türlerine karşı *in vitro* aktiviteye sahip değildir (49). Delamanid direnci F420 sinyal yolundaki genlerin mutasyonları ile ortaya çıkabilmektedir. *M. tuberculosis*'de bilinen gen bölgeleri *dnn*, *fgd1*, *fbiA*, *fbiB*, *fbiC* ve *FbiD* olarak sıralanmaktadır (50). Delamanid kullanımı ile XDR-TB hastalarında olumlu tıbbi sonuçlara ulaşıldığı bildirilmiştir (51).

Fenotipik olarak DLM dirençli *M. tuberculosis* kompleks (MTBC) suşlarında *ddn* veya *fbiA* gen bölgelerindeki mutasyonun varlığı gösterilmiştir (52). Delamanid ilacının BDQ ile kombine kullanımının tedavi stratejisindeki başarılı sonuçların elde edildiği çalışmalarda var olup (53), maliyet etkin olması nedeniyle de tercih edilmektedir (54).

Tedizolid, Linezolid

Tedizolid, yeni bir oksazolidinon grubu antimikrobiyaldir. Ribozomun 50S alt ünitesine bağlanarak 70S başlangıç kompleksinin oluşumunu bozmakta ve böylece protein sentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir. Tedizolid, linezolid benzeri etki mekanizmasıyla dirençli Gram pozitif mikroorganizmalar ve *M. tuberculosis*'e karşı güçlü bir aktivite göstermektedir (55). Anti-tüberküloz ilaçlar ile çapraz direnç göstermemesi, MTBC'ye karşı güçlü aktivite göstermesi ile ÇİD-TB hastalarının tedavi rejimlerinde yerini almaktadır (56).

Linezolid FDA tarafından onaylanan, TB ve TDM infeksiyonlarının tedavi rejimlerinde yer alan ilk oksazolidinon grubu antimikrobiyaldir (57). *M.*

tuberculosis klinik izolatlarının linezolid direnci ile ilişkili genlerindeki (*rplC*, *rplD* ve 23S rRNA) mutasyonlar çalışmalarda yerini almıştır (58).

Antitüberküloz İlaçlara Karşı Direnç

TB basiline görülen ilaç direnci genetik mutasyonlar sonucu meydana gelmektedir. Çoğu bakteride görülen aksine *M. tuberculosis*'de plazmid ve transpozonlar aracılığı ile direnç görülmemektedir. Direncin ortaya çıkması, nokta mutasyonu sonucu kromozomal DNA'nın değişikliğe uğraması şeklinde gerçekleşmektedir (59).

Antitüberküloz ilaçlara direnç primer ve sekonder ilaç direnci olmak üzere iki şekilde görülmektedir. Daha önce TB ilacı kullanmamış ya da bir aydan kısa bir süre kullanmış hastalarda görülen direnç primer ilaç direncidir. Sekonder ilaç direnci, geçmişte TB tedavisi almış hastalarda ortaya çıkan en yaygın direnç türüdür. İlaç direnci TB tedavisinde kullanılan antitüberküloz ilaçlardan herhangi birine ya da birkaçına karşı ortaya çıkabilmektedir (60).

Moleküler ilaç duyarlılık testleri kısa sürede direnci belirleyebilen, ilgili gen bölgesinde mutasyonların varlığı ya da yokluğunu saptayan ve direnç mekanizmasını ortaya koyabilen hızlı yöntemlerdir. Moleküler testler tüm bu olumlu yönlerinin dışında, bazen genotipik olarak dirençli gibi görülen, ancak fenotipik olarak bu direncin yansımadığı durumlara neden olabilmektedir. Bazen de moleküler testler ile duyarlı olduğu belirlenen ancak fenotipik olarak dirençli olan suşlara da rastlanılmaktadır. TB tedavi sürecinin uzun sürmesi, hastanın tedaviyi terk etmesi, hastalığın yeniden nüksetmesi gibi olası sorunlar dikkate alındığında moleküler testlerin kullanımı klinisyenlere büyük yarar sağlamaktadır. Ancak elde edilen sonuçların mutlaka klasik antibiyotik duyarlılık deneyleri ile doğrulanması gerektiği unutulmamalıdır.

Sonuç olarak; yeni teknolojilerin varlığı ve klasik ilaç duyarlılık deneylerinin birlikte kullanımıyla, ilaç etkisi-direnç mekanizmasının anlaşılabilceği, TB tedavisinde yeni nesil ilaçların da gelişimini etkileyebileceği ve yeni ilaçlara karşı direnç gelişiminin en aza indirilmesini olanaklı hale getireceği düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022/tb-disease-burden> , Erişim Tarihi: (17.08.2023).
2. Levinson W, Chin-Hong P, Joyce EA, Nussbaum J, Schwartz B, Esen B, Şener B, çeviri eds. Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. On altıncı baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri, 2018.
3. Bektöre B, Haznedaroğlu T, Baylan O, Ozyurt M, Ozkütük N, Satana D, ve ark. Çok ilaca dirençli tüberküloz izolatlarında yaygın ilaç direncinin araştırılması. Mikrobiyol Bul, 2013;47(1):59-70.
4. Brossier F, Veziris N, Truffot-Pernot C, Jarlier V, Sougakoff W. Molecular investigation of resistance to the antituberculous drug ethionamide in multidrug-resistant clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother, 2011;55(1):355-60.
5. Mitchison DA. Controversial issues in tuberculosis: Drug resistance in tuberculosis. Eur Respir J, 2005;25:376-9.
6. Bentley SD, Comas I, Bryant JM, Walker D, Smith NH, Harris SR, et al. The genome of Mycobacterium africanum West African 2 reveals a lineage-specific locus and genome erosion common to the M. tuberculosis complex. PLoS Negl Trop Dis, 2012;6(2):e1552.
7. Zhang Y, Yew WW. Mechanisms of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis: update 2015. Int J Tuberc Lung Dis, 2015;19(11):1276-89.
8. Cade CE, Dlouhy AC, Medzihradzky KF, Salas-Castillo SP, Ghiladi RA. Isoniazid-resistance conferring mutations in Mycobacterium tuberculosis KatG: catalase, peroxidase, and INH-NADH adduct formation activities. Protein Sci, 2010;19(3):458-74.
9. Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in Mycobacterium tuberculosis: 1998 update. Tuber Lung Dis, 1998;79(1):3-29.
10. Yıldırım E, Uzun M. İsoniazide dirençli Mycobacterium tuberculosis izolatlarında minimal inhibitör konsantrasyonun ve gen mutasyonlarının belirlenmesi. Mikrobiyol Bul, 2017;51(4):305-16.
11. Reta MA, Alemnew B, Abate BB, Fourie PB. Prevalence of drug resistance-conferring mutations associated with isoniazid- and rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. J Glob Antimicrob Resist, 2021;26:207-18.
12. Campbell EA, Korzheva N, Mustaev A, Murakami K, Nair S, Goldfarb A, et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial rna polymerase. Cell, 2001;104(6):901-12.
13. Çavuşoğlu C. Mycobacterium tuberculosis’de moleküler antibiyotik duyarlılık test yöntemleri. 21.Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, 11-14 Haziran, Samsun-Türkiye. 2003.
14. Thirumurugana R, Kathirvelb M, Vallayachari K, Surendar K, Samrota AV, Muthaiah M. Molecular analysis of rpoB gene mutations in rifampicin resistant Mycobacterium tuberculosis isolates by multiple allele specific polymerase chainreaction in Puducherry, South India. J Infect Public Health, 2015;8:619-25.
15. Scorpio A, Zhang Y. Mutations in pncA, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. Nat Med, 1996;2(6):662-7.
16. Sreevatsan S, Pan X, Zhang Y, Kreiswirth BN, Musser JM. Mutations associated with pyrazinamide resistance in pncA of Mycobacterium tuberculosis complex organisms. Antimicrob Agents Chemother, 1997;41:636-40.
17. Zhang S, Chen J, Shi W, Liu W, Zhang W, Zhang Y. Mutations in panD encoding aspartate decarboxylase are associated with pyrazinamide resistance in Mycobacterium tuberculosis. Emerg Microbes Infect, 2013;2(6):e34.
18. Özgür D, Tezcan Ülger S, Kayar MB, Bıçmen C, Aslantürk A, Ülger M, et al. Pirazinamid dirençli Mycobacterium tuberculosis izolatlarında direnç ile ilişkili pncA, rpsA ve panD Gen mutasyonları ve spoligotiplerin araştırılması. Mikrobiyol Bul, 2022;56(2):191-205.
19. Takayama K, Kilburn JO. Inhibition of synthesis of arabinogalactan by ethambutol in Mycobacterium smegmatis. Antimicrob Agents Chemother, 1989;33(9):1493-9.

20. Munir S, Mahmood N, Shahid S, Khan MI. Molecular detection of isoniazid, rifampin and ethambutol resistance to *M. tuberculosis* and *M. bovis* in multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) patients in Pakistan. *Microb Pathog*, 2017;110:262-74.
21. Kurnaz N, Tezcan Ülger S, Ülger M, Arslantürk A, Aslan G, Köksal F. Etambutole dirençli ve duyarlı *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi klinik izolatlarında embA, embB ve embC gen bölgesi mutasyonları. *Mikrobiyol Bul*, 2023;57(1):45-59.
22. He L, Wang X, Cui P, Jin J, Chen J, Zhang W, et al. ubiA (Rv3806c) encoding DPPR synthase involved in cell wall synthesis is associated with ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, 2015;95(2):149-54.
23. Gillespie SH. Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: clinical and molecular perspective. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002;46(2):267-74.
24. Spies FS, da Silva PE, Ribeiro MO, Rossetti ML, Zaha A. Identification of mutations related to streptomycin resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* and possible involvement of efflux mechanism. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008;52(8):2947-9.
25. Wong SY, Lee JS, Kwak HK, Via LE, Boshoff HIM, Barry CE. Mutations in gidB confer low-level streptomycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011;55(6):2515-22.
26. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature*, 1998;393(6685):537-44.
27. Mdluli K, Ma Z. *Mycobacterium tuberculosis* DNA gyrase as a target for drug discovery. *Infect Disord Drug Targets*, 2007;7(2):159-68.
28. Maruri F, Sterling TR, Kaiga AW, Blackman A, van der Heijden YF, Mayer C, et al. A systematic review of gyrase mutations associated with fluoroquinolone-resistant *Mycobacterium tuberculosis* and a proposed gyrase numbering system. *J Antimicrob Chemother*, 2012;67(4):819-31.
29. Alangaden GJ, Kreiswirth BN, Aouad A, Khetarpal M, Igno FR, Moghazeh SL, et al. Mechanism of resistance to amikacin and kanamycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1998;42(5):1295-7.
30. Georghiou SB, Magana M, Garfein RS, Catanzaro DG, Catanzaro A, Rodwell TC. Evaluation of genetic mutations associated with *Mycobacterium tuberculosis* resistance to amikacin, kanamycin and capreomycin: a systematic review. *PLoS One*, 2012;7(3):e33275.
31. Krüüner A, Jureen P, Levina K, Ghebremichael S, Hoffner S. Discordant resistance to kanamycin and amikacin in drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003;47(9):2971-3.
32. Kumari R, Banerjee T, Anupurba S. Molecular detection of drug resistance to ofloxacin and kanamycin in *Mycobacterium tuberculosis* by using multiplex allele-specific PCR. *J Infect Public Health*, 2018;11(1):54-8.
33. Zaunbrecher MA, Sikes RD Jr, Metchock B, Shinnick TM, Posey JE. Overexpression of the chromosomally encoded aminoglycoside acetyltransferase eis confers kanamycin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009;106(47):20004-9.
34. Maus CE, Plikaytis BB, Shinnick TM. Molecular analysis of cross-resistance to capreomycin, kanamycin, amikacin, and viomycin in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005;49(8):3192-7.
35. Zhang Z, Liu M, Wang Y, Pang Y, Kam KM, Zhao Y. Molecular and phenotypic characterization of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates resistant to kanamycin, amikacin, and capreomycin in China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014;33(11):1959-66.
36. Oudghiri A, Karimi H, Chetioui F, Zakhm F, Bourkadi JE, Elmessaoudi MD, et al. Molecular characterization of mutations associated with resistance to second-line tuberculosis drug among multidrug-resistant tuberculosis patients from high prevalence tuberculosis city in Morocco. *BMC Infect Dis*, 2018;18(1):98.
37. Carette X, Blondiaux N, Willery E, Hoos S, Lecat-Guillet N, Lens Z, et al. Structural activation of the transcriptional repressor EthR from *Mycobacterium tuberculosis* by single amino acid change mimicking natural and synthetic ligands. *Nucleic Acids Res*, 2012;40(7):3018-30.
38. Banerjee A, Dubnau E, Quemard A, Balasubramanian V, Um KS, Wilson T, et al. inhA, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science*, 1994;263(5144):227-30.

39. Rueda J, Realpe T, Mejia GI, Zapata E, Rozo JC, Ferro BE, et al. Genotypic analysis of genes associated with independent resistance and cross-resistance to isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015;59(12):7805-10.
40. Mathys V, Wintjens R, Lefevre P, Bertout J, Singhal A, Kiass M, et al. Molecular genetics of para-aminosalicylic acid resistance in clinical isolates and spontaneous mutants of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009;53(5):2100-9.
41. Wang W, Li S, Ge Q, Guo H, Shang Y, Ren W, et al. Determination of critical concentration for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* against para-aminosalicylic acid with clinical isolates with thyA, folC and dfrA mutations. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2022;21(1):48.
42. Desjardins CA, Cohen KA, Munsamy V, Abeel T, Maharaj K, Walker BJ, et al. Genomic and functional analyses of *Mycobacterium tuberculosis* strains implicate ald in D-cycloserine resistance. *Nat Genet*, 2016;48(5):544-51.
43. Chen J, Zhang S, Cui P, Shi W, Zhang W, Zhang Y. Identification of novel mutations associated with cycloserine resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother*, 2017;72(12):3272-6.
44. Preiss L, Langer JD, Yildiz Ö, Eckhardt-Strelau L, Guillemont JE, Koul A, et al. Structure of the mycobacterial ATP synthase Fo rotor ring in complex with the anti-TB drug bedaquiline. *Sci Adv*, 2015;1(4):e1500106.
45. Branco FS, Pinto AC, Boechat N. An update on the chemistry and medicinal chemistry of novel antimycobacterial compounds. *Curr Top Med Chem*, 2013;13(22):2808-49.
46. Wu SH, Chan HH, Hsiao HC, Jou R. Primary bedaquiline resistance among cases of drug-resistant tuberculosis in Taiwan. *Front Microbiol*, 2021;12:754249.
47. Degiacomi G, Sammartino JC, Sinigiani V, Marra P, Urbani A, Pasca MR. In vitro Study of Bedaquiline Resistance in *Mycobacterium tuberculosis* Multi-Drug Resistant Clinical Isolates. *Front Microbiol*, 2020;11:559469.
48. Bahuguna A, Rawat DS, An overview of new antitubercular drugs, drug candidates, and their targets. *Med Res Rev*, 2020;40(1):263-92.
49. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/deltyba-epar-product-information_en.pdf, Erşim tarihi: (23.03.2024).
50. Reichmuth ML, Hömke R, Zürcher K, Sander P, Avihingsanon A, Collantes J, et al. Natural polymorphisms in *Mycobacterium tuberculosis* conferring resistance to delamanid in drug-naive patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020;64(11):e00513-20.
51. Skripconoka V, Danilovits M, Pehme L, Tomson T, Skenders G, Kummik T, et al. Delamanid improves outcomes and reduces mortality in multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Respir J*, 2013;41(6):1393-400.
52. Wen S, Jing W, Zhang T, Zong Z, Xue Y, Shang Y, et al. Comparison of in vitro activity of the nitroimidazoles delamanid and pretomanid against multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019;38(7):1293-6.
53. Pieterman ED, Keutzer L, van der Meijden A, van den Berg S, Wang H, Zimmerman MD, et al. Superior efficacy of a bedaquiline, delamanid, and linezolid combination regimen in a mouse tuberculosis model. *J Infect Dis*, 2021;224(6):1039-47.
54. Diel R, Hittel N, Schaberg T. Cost effectiveness of treating multi-drug resistant tuberculosis by adding Deltyba™ to background regimens in Germany. *Respir Med*, 2015;109(5):632-41.
55. Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr. In vitro susceptibility testing of tedizolid against nontuberculous mycobacteria. *J Clin Microbiol*, 2017;55(6):1747-54.
56. Wen S, Gao X, Zhao W, Huo F, Jiang G, Dong L, et al. Comparison of the in vitro activity of linezolid, tedizolid, sutezolid, and delpazolid against rapidly growing mycobacteria isolated in Beijing, China. *Int J Infect Dis*, 2021;109:253-60.
57. Marfil E, Ruiz P, Martínez-Martínez L, Causse M. Comparative study of in vitro activity of tedizolid and linezolid against *Mycobacterium avium* complex. *J Glob Antimicrob Resist*, 2022;30:395-8.
58. Wang C, Wang G, Huo F, Xue Y, Jia J, Dong L, et al. Novel oxazolidinones harbor potent in vitro activity against the clinical isolates of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in China. *Front Med (Lausanne)*, 2022;9:1067516.
59. Zhang Y, Young D. Molecular genetics of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother*, 1994;34(3):313-9.
60. Albay A, Albayrak N, Arslantürk A, Aslan G, Baylan O, Biçmen C, ve ark. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi, Yayın No:935. Ankara: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Sağlık Bakanlığı, 2014.