

Antibiyotik Kombinasyonları ve Sinerjistik Etkileşimleri

Gülseren AKTAŞ

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Antibiyotikler ilk ortaya çıktığı zamanlarda henüz direnç sorunu yoktu ve bu nedenle tedavilerde başarıyla kullanılmışlardı. Tüm dünyada patojen bakterilerdeki çoğul antibiyotik direnci tedavi zorluklarında önemli artışlara neden olmuştur. Hızla artan antibiyotik direnci ve yeni antimikrobiyal ilaç gelişimindeki yetersizlikten dolayı, mevcut antibiyotiklerin etkisinin devamlılığının sağlanması ve korunması önem kazanmıştır. Böylece, yeni ilaç geliştirme çalışmalarında veya tedavi stratejilerinde antibiyotik direnci ile bir tek ilaçtan ziyade birkaç ilacın birlikte mücadele etmesi gerekmıştır.

Antibiyotik kombinasyon çalışmaları her bir ilacın farklı hedef molekülüne bağlanmasını ve böylece daha geniş etki spektrumu oluşumlarının ortaya çıkarılmasına olanak sağlar. Kombinasyonlarda sinerjistik etki; farklı hedefleri farklı yollardan ya da aynı yoldan, aynı hedefi farklı yollardan inhibe ederek meydana gelir. Kombinasyonlar, sinerjistik etkisi, ilaç direncinin gelişimini engellemesi, toksik etkiyi azaltması ve geniş antimikrobiyal etki spektrumu gibi farklı üstünlüklere sahiptir.

Antibiyotik direnci, doğada izole edilen pek çok bakteri suşunda bulunur. Günümüzde, antibiyotik direncinin doğadaki mikroorganizmalar arasında yaygın olmasından dolayı, klinik direnç mekanizmalarının çevre mikroorganizmalarında bulunan direnç mekanizmaları ile sıkı bir ilişki içinde olduğu bulgusu giderek artmaktadır.

Bu derlemede, sinerjistik aktivitesi olan antibiyotik kombinasyonları ile ilgili veriler değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik kombinasyonları, bakterilerde direnç, sinerjistik etki

SUMMARY

Antibiotic Combinations and Synergistic Interactions

When antibiotics were first come into use they were successfully used in therapy since there was not yet any resistance problem. Worldwide multidrug resistance developed in pathogenic bacteria has a major therapeutic challenge. With rapidly increasing antibiotic resistance and insufficiencies in the development of new antimicrobial drugs, maintenance and preservation of the efficacy of currently available antibiotics have gained importance. Thus, new drug development studies or therapeutic strategies are needed to fight against antimicrobial resistance with batteries of drugs rather than individual drugs.

Antibiotic combination studies allow exploration of different molecular targets of individual agents and thereby broaden the spectrum of action. The synergistic effect of combinations occurs through inhibition of different targets through different mechanisms or by inhibiting targets in the same way or by inhibiting the same target in different ways. Combinations have distinct advantages including their synergistic effects, prevention of emergence of drug resistance, reduction of toxicity, and providing broad antimicrobial spectrum.

Antibiotic resistance is detected in many bacterial isolates in nature. Nowadays, there is a growing evidence that clinical resistance mechanisms are closely associated with mechanisms found in the environment.

In this review, the available data about antibiotic combinations with synergistic activities were evaluated.

Key words: Antibiotic combinations, resistance of bacteria, synergistic effect

GİRİŞ

Antibiyotikler ilk ortaya çıktığı zamanlarda henüz direnç sorunu yoktu ve bu nedenle başarıyla kullanılmışlardı. Günümüzde, tüm dünyada her geçen gün artan dirençli patojenler, yeni antimikrobiyallere olan gereksinimi arttırmıştır. Direnç sorunu, bazı patojen suşların veya bazı

hastane bölümlerinin sorunu olmaktan çıkmış ve hemen tüm majör bakteriyel patojenlerde ve acil bakım, yoğun bakım üniteleri gibi tedavi ünitelerinde ve hatta toplum kökenli enfeksiyonlarda görülür olmuştur⁽¹⁾.

Çoğul antibiyotik dirençli gram-pozitif patojenler ilk defa 1980'lerde ortaya çıkmıştır⁽²⁾.

Alındığı tarih: 17.04.2015

Kabul tarihi: 18.06.2015

Yazışma adresi: Gülseren Aktaş, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Tel: (0212) 414 20 00/31975

e-posta: gulserena2001@yahoo.co.uk

Metisilin-dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), glikopeptid-dirençli enterokoklar ve penisilin-makrolid-dirençli pnömokoklar, yakın zamanda ortaya çıkan vankomisine orta düzeyde dirençli *Staphylococcus aureus* (VISA) ve vankomisin-dirençli *S. aureus* (VRSA) suşları görülmeye başlanmıştır. Bunun en önemli nedeni, antibiyotiklerin gelişi güzel ve yaygın kullanımını ve etkili yeni ajanların ortaya çıkışındaki yetersizliktir⁽¹⁾. Ayrıca, artan MRSA enfeksiyonlarında tedavide etkili olabilen β -laktam dışındaki antibiyotiklerin yoğun kullanımı ile genellikle duyarlı olduğu klindamisin, tetrasiklinler, trimetoprim/sulfametoksazol gibi antibiyotiklere de direnç artışı geliştiği bildirilmektedir⁽³⁾.

Artan yeni antibiyotik geliştirme çabaları ile, çoğul antibiyotik direncine sahip gram-pozitif patojenlere karşı kinupristin/dalfopristin, linezolid, daptomisin ve tigesiklin gibi antibiyotikler klinik kullanıma sunulmuştur. Ayrıca, dalbavansin, oritavansin, telavansin gibi yeni glikopeptidler, seftobiprol ve seftarolin gibi yeni anti-MRSA β -laktamlar tedavide kullanılmaya başlanmıştır.

Tedavi güçlükleri ile baş edebilmek için, bir yandan yeni antibakteriyel arayışı sürerken bir yandan da mevcut antibiyotiklerin daha etkili kullanılması ve antibiyotikler arası etkileşimlerin değerlendirilmesi gündeme gelmiştir⁽¹⁾.

Antibiyotiklerin bulunuşundan kısa bir süre sonra baş gösteren direnç sorunu, o çağlarda da çözüm arayışlarına gereksinim göstermiştir. Antibiyotik çağının başlarında tek antibiyotik kullanımının başarısız olduğu bazı durumlarda antibiyotik kombinasyonları ampirik olarak kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Böylece, antibiyotik kombinasyonlarının dirençli mikroorganizmayı inhibe etmek/öldürmek için kabul edilebilir non-toksik konsantrasyonlarda kullanımı ile büyük bir tedavi olanağı doğmuştur⁽⁴⁻⁶⁾. Günümüzde de gram-pozitif ve

gram-negatif olmak üzere geniş bir yelpazede enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibakteriyel sinerjizmin rolü önemlidir⁽⁴⁾.

Kombine antibiyotik tedavisinde antibiyotikler birbirleri ile 4 farklı şekilde etkileşirler. Bunlar sinerjist, antagonist, additif ve indifferens etkileşimlerdir.

Sinerjist etkide; kombinasyonu oluşturan antibiyotiklerin birlikte etkisi, her bir antibiyotiğin tek başına kullanımı ile oluşan etkisinden oldukça önemli miktarda artmıştır. Pozitif bir etkileşimdir. Antagonist etkide; denenen ilaçların birlikte etkisi, her bir ilacın tek başına kullanımı sonucunda oluşan etkiden önemli ölçüde azalmıştır. Negatif bir etkileşimdir. Additif etki, birlikte kullanılan antibiyotiklerin etkisi ayrı ayrı etkilerinin toplamı olarak belirtilir. Kısmi sinerjiyi gösterir. İndifferens etkide ise ilaçların bir arada etkisi, daha etkili olan diğerinin tek başına yaptığı etki kadardır. Antibiyotikler birbiriyle etkileşmezler⁽⁷⁾.

Deneysel olarak sinerjist etki, kombinasyonu oluşturan her bir antibiyotiğin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerinde dört kat düşüş olması ile belirlenir⁽⁸⁾.

Örneğin, yapılan bir çalışmada telavansin ve daptomisin ile rifampin kombinasyonlarının in-vitro şartlarda linezolid ve vankomisine dirençli enterokok suşlarına etkisi araştırılmış, telavansin/rifampin kombinasyonunda %83 (20/24), daptomisin/rifampin kombinasyonunda ise %88 (21/24) oranında da sinerjist etki saptanmıştır⁽⁹⁾. Çalışma E-test ile yapılmış ve sinerjist fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi (FİKİ) ≤ 0.5 ; indifferens etki $>0.5-4$ ve antagonist etki >4 kriterine göre değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın yazarları antibiyotiklerin etkileşim mekanizmalarını şu şekilde açıklamaktadır: Telavansin peptidoglikanın çapraz bağlanmasını ve polimerizasyonunu inhibe ede-

rek hücre duvarı sentezini engeller⁽¹⁰⁾. Böylece, geçirgenlik artışına ve çok miktarda rifampinin hızla hücre içine girmesine neden olur. Daptomisin ise önce kalsiyum molekülüne bağlanarak aktive olur ve lipofilik özellikteki kuyruk kısmı ile gram-pozitif bakteri zarında bulunan lipoteikoikasite bağlanır. Oligomerizasyon ile hücre duvarı bütünlüğü bozularak bir iyon kanalı açılır ve hücre içi iyonları (K, Mg) ve ATP dışarı sızdır⁽¹¹⁾. Aynı kanallardan çok fazla rifampin hücre içine girerek RNA polimeraz enziminin aktivitesini engeller ve hızlı hücre ölümü gerçekleşir⁽¹²⁾. Sonuç olarak bu çalışmada, daptomisin ve telavansinin, rifampin ile kombinasyonlarının yüksek oranda sinerjistik etkili bulunduğu, in-vivo etkileşimin de belirlenmesine gereksinim olduğu bildirilmektedir⁽⁹⁾.

Kombinasyonlarda sinerjistik etkileşim üç farklı şekilde olur⁽¹³⁾.

1. Sinerjistik etkinin, farklı yollarla farklı hedefleri inhibe ederek ortaya çıkması

Antibiyotiklerin, farklı yollarla farklı hedef bölgeleri inhibe ederek sinerjizm oluşturmalarıdır. Örneğin, β -laktam ile aminoglikozid kombinasyonunda β -laktam hücre duvarı hasarına neden olur, böylece aminoglikozidin hücre içine geçişi hızla artar. Bu da bakterisit etkiyi artırır⁽¹⁴⁾.

Mycobacterium enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan çoklu ilaç kombinasyonunda, hücre duvarı bileşenlerinden olan mikolik asit (izoniazid INH), arabinogalaktan (etambutol) farklı iki ilaç ile inhibe edilirken, protein sentezi veya nükleik asit sentezi de (streptomisin, rifampin) diğer bir antibiyotik ile engellenir. Yani, tedavide kullanılan çoklu ilaç kombinasyonundaki her bir ilaç, farklı yollardan farklı hedeflere bağlanarak farklı mekanizmaları engellerler. Böylece tedavi sırasında direnç gelişimi en aza indirilir⁽¹³⁾.

Plasmodium falciparum'un etken olduğu sıtma

tedavisinde kombinasyon tedavisi kullanılmaktadır. Klorokin kullanımı kısa sürede direnç gelişmesine yol açarken, klorokine dirençli suşlar hızla yayılmış, bu ilaç sınıfının etkisini kısıtlamıştır. Son yıllarda tedavide artemisinin türevi (artesanat veya artemeter), amodiakuin, meflokuin veya lumefantrin ile kombine hâlde kullanılmaktadır^(13,15).

HIV ile enfekte hastaların hayatta kalım oranlarındaki artışın nedeni de kombine tedavilerin uygulanmasına bağlanmaktadır. Böylece hastalığın eradike edilmesi sağlanamamış ama kronikleşmesine neden olarak ölüm oranları düşürülmüştür⁽¹³⁾.

2. Sinerjistik etkinin, aynı yolla farklı hedeflerin inhibisyonu ile ortaya çıkması

İlk antimikrobiyal sınıfı olan sülfonamidler, azo boyalarından üretilmiştir. Hücre metabolizmasında kofaktör olarak işlev gören folik asidin sentezi esnasında işlev gören bir enzimi (dihidropteroatsentaz) hedef alarak etkili olur. Sülfonamidler, para-amino-benzoik asit (PABA)'e çok benzediği için enzim PABA yerine sülfonamide bağlanır ve böylece folik asit sentezi durur. 1960'ların sonlarında sülfametoksazol/trimetoprim kombinasyonu tedavide kullanıma sunulmuştur. Trimetoprim, dihidrofolatredüktaz enzimini inhibe ederek katalitik siklusu tamamlayan dihidrofolik asit (DHFA)'in tetrahidrofolik aside dönüşmesini engeller⁽¹⁶⁾. Bu iki ilaç kombine hâlde kullanıldığında, folik asit sentezinin iki aşaması durdurulur. Böylece iki antibakteriyel birbirinin etkisini artırarak sinerjistik etki oluştururlar⁽¹⁷⁾.

Kombinasyon tedavisinin en başarılı örneklerinden biri, β -laktam antibiyotik olan amoksisilin ile β -laktamaz inhibitörü olan klavulanik asit kombinasyonudur⁽¹⁸⁾. Beta-laktamaz inhibitörlü β -laktam antibiyotik kombinasyonları spesifik bir direnç mekanizması ile baş etmek için son

yıllarda uygulanan en başarılı stratejidir. Böyle antibiyotik kombinasyonlarının geniş spektrumu, gram-pozitif ve gram-negatif, anaerop bakteriler tarafından oluşturulan çok çeşitli β -laktamaz enzimini inhibe eden inhibitörlerin bu çok önemli özelliklerinden kaynaklanır⁽¹³⁾.

3. Aynı hedef bölgenin inhibisyonu ile sinerjist etkinin ortaya çıkması

Antibiyotiklerin yalnızca aynı yolla değil ama kesinlikle aynı hedef bölgenin inhibe olması ile sinerjizm oluşturmalarıdır.

Yeni kullanımda olan bir streptogramin antibiyotik kinupristin/dalfopristin bakteri ribozomunun 50S subunitine yanyana bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Bir arada kullanıldıklarında, tek tek kullanım etkilerinin 10-100 misli artan etkiyi gösterirler⁽¹³⁾.

Oritavansin (klorobifenil/vankomisin), yarı sentetik, ikinci kuşak lipoglikopeptid antibiyotiktir. Vankomisin analogudur. Antibiyotiğin her iki kısmı da hücre duvarı sentezinde etkili olur. Doğal olan vankomisin kısmı peptidoglikan monomerlerinin ucundaki D-Ala-D-Ala'ya yüksek afinitesinden dolayı bu bölgeye bağlanarak etkili olurken, sentetik olan klorobifenil kısmı, peptidoglikan sentezinin peptidoglikan transglukozilaz enzimini inhibe eder. Böylece, hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, depolarizasyonu, geçirgenliğin ve buna bağlı olarak hücre içinde antibiyotik konsantrasyonunun artışı ile hızlı hücre ölümü gerçekleşir^(13,19). Oritavansin hücre duvarı sentezi sırasında iki farklı hedefe etkili olduğu için MRSA ve vankomisine duyarlı olmayan gram pozitif bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde etkili olur^(13,19,20).

Tedavide kullanılması düşünülen iki antibiyotiğin in-vivo kullanımından önce kesinlikle kombinasyonunun etken mikroorganizmaya karşı etkisinin bilinmesi gerekir. Yani, in-vitro şartlar

da sinerjist etkinin varlığı ve antagonist etkinin olmadığı araştırılmış olmalıdır. Bunu in-vitro tayin etmek için kalitatif sonuç veren "checkerboard" (dama tahtası) mikrodilüsyon ve kantitatif sonuç veren "time kill" (zaman ölüm) eğrisi yöntemleri geliştirilmiştir. Checkerboard tekniği, antibiyotik sinerjisini ölçen geleneksel yöntemlerden biridir. Bu yöntemde, mikroplak çukurlarında iki antibiyotiğin iki yönde seri dilüsyonu yapılır. Deney sonucunda her iki antibiyotik için ayrı ayrı kombinasyondaki MİK değerleri saptanır. Bu değerler antibiyotiklerin tek başına elde edilen MİK değerlerine bölünerek fraksiyonel inhibitör konsantrasyon değerleri elde edilir⁽⁴⁾. Her bir antibiyotik için elde edilmiş olan bu değerlerin toplanması ile de her suş için denenen antibiyotik kombinasyonunun FİKİ değeri bulunur, sinerji: FİKİ<0.5, additif/indifferens: FİKİ \geq 0.5-<4, antagonizm: FİKİ \geq 4 olarak belirlenir⁽²¹⁾. Time-kill eğrisi yönteminde ise: antibiyotiklerin 24. saatte kombinasyon hâlinde oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısının, kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerden daha aktif olanın tek başına oluşturduğu etki sonucu elde edilen bakteri sayısına göre 100 kat ya da daha fazla ($\geq 2 \log_{10}$) azalmış olması sinerjist etki; 10 kat ($1 \log_{10}$) azalmış ya da artmış olması additif etki; 100 kat ya da daha fazla ($\geq 2 \log_{10}$) artmış olması antagonist etki olarak değerlendirilir⁽²²⁾.

Rasyonel antibiyotik kombinasyon tedavisinin avantajları şunlardır:

1. Sinerjist etkileşim ile geniş spektrumlu etki sunarlar

Antibiyotiklere direncin her geçen gün arttığı çağımızda, iki antibakteriyel madde kombine edilerek yeterli antibakteriyel etkiyi oluştururlar⁽⁴⁾.

Antibiyotikler arası in-vitro sinerji veya en azından additif etki, klinik olarak önemli olabilir.

Çünkü sinerjistik etki, serum bakterisit aktiviteyi arttıran önemli bir faktördür⁽²³⁾. Gram-negatif çomaklarda en sık kullanılan kombinasyonlar, β -laktam ile aminoglikozit kombinasyonlarıdır⁽¹⁴⁾.

Potansiyel sinerjistik etkili kombinasyonlarda vardır. Fakat klinik sonuçları henüz sınırlıdır⁽²³⁾. Son yıllarda, vankomisin ile piperasilin/tazobaktam (TZP) kombinasyonlarının in-vitro etkileşimi MRSA ve VISA suşlarına karşı araştırılmış, sinerjistik etkili olduğu bildirilmiştir. Burada, anti-stafilokokkal β -laktam antibiyotik etkisiyle vankomisin MRSA'ya karşı aktivitesinin arttığı görülmüş fakat bu sinerjistik etkileşimin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Bu konuyla ilgili sınırlı bilgiler konunun açıklanabilmesi için daha çok araştırılmasına neden olmuştur. Bu amaçla yapılan bir başka çalışmada piperasilin/tazobaktam ve oksasilin (OXA) kombinasyonunun MRSA ve VISA suşlarına karşı in-vitro aktivitesi araştırılmıştır. Sonuç olarak, vankomisin ile TZP/OXA kombinasyonları MRSA ve VISA suşlarına karşı kullanıldığında büyük bir aktivite artışı saptanmıştır. Buradaki sinerjizmin mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte β -laktam antibiyotiğe maruz kalmanın, hücre duvarının vankomisin ile etkileşimini artırdığı şeklindedir⁽²⁴⁾. Benzer bir çalışma, sefoksitin/ β -laktam antibiyotik kombinasyonları ile yapılmış ve toplum kökenli MRSA suşlarına karşı sinerjistik etkili bulunmuştur⁽²⁵⁾.

2. Patojen bakterilerin dirençli subpopulasyonlarının ortaya çıkışını önler veya geciktirirler

Kombinasyon tedavisi her bir ajanın farklı hedef molekülleri keşfederek etkilemesine olanak sağlar. Böylece iki ilacın genişlemiş olan etki spektrumu ve çoğul etki mekanizması ile ilaç direncinin ortaya çıkmasını önleyebilir. Buna en güzel örnek tüberküloz tedavisidir. Böylece, çoklu antibiyotik tedavisi ile tedavi sırasında direnç gelişme riski azalmış olur. Rifampisine günü-

müzde zaten yüksek oranda direnç geliştiği için ancak kombinasyonlar hâlinde kullanıldığında yararlı etkili olabilmektedir⁽⁴⁾. Tüberküloz tedavisinde kullanılan rifampisin ve diğer tüberküloz ilaçlarına direnç oranının az olmasının, kombine tedaviden dolayı olduğu bildirilmektedir⁽²⁶⁾.

Diğer bir örnek ise, vankomisin (veya diğer bir antibiyotik) ile rifampisin kombinasyonlarının birçok enfeksiyonun tedavisinde başarı ile kullanılmasıdır. Böylece rifampisin direnci oluşması baskılanır. Ender de olsa dirençli suşların ortaya çıktığı ve tedavi başarısızlıkları da bildirilmiştir^(21,27). Bu durum, rifampisinin penetrasyonundan dolayı derin enfeksiyon bölgesinden mikroorganizmayı eradike edemediği ve ortaya çıkan dirençli subpopulasyonlarından dolayı tedavi başarısızlığı şeklinde açıklanmıştır⁽²¹⁾.

Kombinasyonlarda mikroorganizmaların dirençli subpopulasyonlarının ortaya çıkışının engellenmesini/azaltılmasını, ilk defa Elek SD⁽²⁸⁾ 1956 yılında, matematiksel olarak şöyle açıklamıştır: Örneğin, A ve B ilaçlarına karşı 1×10^{-6} ve 1×10^{-7} olasılıkla direnç gelişimi söz konusu olsun. Eğer A ve B ilaçlarına karşı gelişen bu direnç birbirinden bağımsız olarak gelişirse, o zaman A+B kombinasyonuna direnç gelişmesi $1 \times 10^{-6} + 1 \times 10^{-7} = 10^{-13}$ daha az olasılıkla meydana gelecektir⁽²⁹⁾.

3. Toksisiteyi azaltırlar

Bazı antibiyotikler tedavi edici dozlarındaki toksik etkilerinden dolayı kullanılamazlar. Kloramfenikol, aminoglikozit, sülfonamid gibi antibiyotikler toksik etkileri yüksek olan antibakteriyel maddelerdir. Oysa bu antibiyotikler dozları azaltılıp ilave başka bir antibiyotik ile kombine edilmekte ve toksik etkileri azaltılmış olarak tedavide başarıyla kullanılmaktadırlar^(4,14). Kombinasyonda konsantrasyon/doz oranı daha azdır. Böylece doza bağlı toksisite azalır⁽³⁰⁾.

Önceleri üç ayrı sülfonamid (sülfadiazin, sülfamerazin, sülfametiazin) kombinasyonu hâlinde birlikte uygulanmasıyla tedavilerde başarılı sonuçlar alınmıştır. Buradaki sinerjistik etkinin nedeni her bir sülfonamidin farklı çözünürlük özelliğine sahip olması olarak açıklanmıştır. Böylece idrarda kristalleşme ve taş oluşturma sıklığı da azalmıştır⁽⁴⁾.

4. Polimikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde başarı ile kullanılabilirler

Tedavide her bir patojen için etkili olan antibiyotikler kombinasyonları hâlinde başarı ile kullanılırlar^(4,14). Kombine edilerek kullanılması düşünülen iki antibiyotik in-vivo kullanımından önce kesinlikle, in-vitro şartlarda sinerjistik etkinin varlığı ve antagonist etkinin olmadığı araştırılmış olmalıdır⁽²¹⁾.

Rasyonel antibiyotik kombinasyon tedavisinin dezavantajları

Antibiyotik kombinasyonları oluşturan ilaçlar arasında antagonizm olmamalıdır. Tek ilaç ile etkili tedavinin olabileceği durumlarda da ampirik olarak kombinasyon tedavisi uygulanmasını arttırabilir. Bu da direnç gelişme riskini yükseltir⁽¹⁴⁾.

Doğal kombinasyonlar

Doğada, toprakta bulunan bakterilerde hem yeni ve hem de henüz geliştirilmemiş antibiyotiklere potansiyel direnç mekanizmaları vardır. Bu direncin bakteriler arasındaki yayılımı, olasılıkla plazmit, transpozon, integron gibi genetik elementler aracılığıyla direncin bakteri suşları arasında transferi ile olmaktadır⁽³¹⁾. *Actinomyces* spp. gram-pozitif, filamsız görünümde çomak şeklinde bakterilerdir ve 15 ayrı antibiyotik sınıfına dirençlidir⁽³²⁾. Bu direnç, “*Bakteriler niçin hâlâ antibiyotik üretiyor? Hâlâ nasıl etkili oluyorlar?, Konak üzerinde hâlâ etkili olabilirler*

mi?” gibi bazı önemli soruları gündeme getirmektedir.

Olası bir neden, bakteriler ender olarak tek bir antibiyotik üretirler⁽³³⁾. Örneğin, *Streptomyces* spp. doğal ürün sentezi için 35 gen bölgesi taşır. Tek bir *Micromonospora* suşunun 50 doğal madde ürettiği gösterilmiştir. Eğer bu doğal ürünlerin ¼’inden azının antibiyotik olduğu farz edilirse, o zaman hâlâ bir tek suş tahminen 8-12 antibiyotik ürettiği düşünülebilir. Bu durumda kombinasyon etkisi olasılığı oldukça yüksektir. Doğal kombinasyon üretimlerinin birkaç örneği belirlenmiştir. Bunlardan biri önemlidir. *Streptomyces clavuligerus*, sefamisin/klavulanat kombinasyonunu üretmektedir. Bu iki maddenin üretiminden sorumlu genler yan yana kodlanmıştır ve olasılıkla da büyük ve hareketli bir genetik element ile taşınırlar. Aynı bakteride kendisini bu metabolitlerin öldürücü etkisinden korumak için direnç geni de mevcuttur⁽³⁴⁾. Aynı durum, pristinamisin içinde geçerlidir. *Streptomyces pristinaespiralis* tarafından üretilir. Kimyasal olarak birbirinden farklı iki ayrı komponent olan pristinamisinler, pristinamisin I ve II’nin karışımından oluşur ve streptogramin grubu antibiyotik sınıfının bir üyesidir. *S. pristinaespiralis* kromozomunda pristinamisin sentezini ve buna karşı direnci oluşturan genler küme hâlinde ve olasılıkla da mobil olan bir gen bölgesinde kodlanmışlardır. Böylece antibiyotiğe rağmen yaşamaya devam eder⁽³⁵⁾. Doğal kombinasyonlara bir başka örnek bir *Actinomycetes* sınıfı üyelerinden olan *Micromonospora carbonacea*, üç doğal ürün oluşturur. Üçünün de kimyasal yapısı birbirinden tamamen farklıdır. Her biri bakteri ribozomunun belli bir bölgesine bağlanır⁽¹³⁾.

Topraktaki bakterilerde özellikle antibakteriyelleri etkisiz kılan pek çok farklı direnç mekanizmasının varlığı bildirilmektedir. Bazı toprak bakterileri 15 ayrı antibiyotik sınıfına dirençlidir. Araştırmacılar *Streptomyces* suşunun 21

farklı antibiyotiğe direnç durumunu araştırmışlar, doğal ve sentetik olan antibiyotiklere çeşitli direnç mekanizmalarının varlığını saptamışlardır. Pek çoğunda direnç, enzimatik inaktivasyon ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre, toprak bakterilerinde hem yeni hem de henüz geliştirilmemiş antibiyotiklere potansiyel direnç mekanizmaları vardır. Toprak bakterileri hem önemli yeni bir antibiyotik kaynağı hem de direnç kaynağıdır⁽³⁶⁾. Antibiyotik direnci ile ilgili çalışmalar, insan patojenlerini ve klinik olarak tanımlanmış mekanizmaları içerir. Günümüzde, çevrede yaşayan bakterilerin çoğul ilaç dirençli olduğu bulgusu artmaktadır. Antibiyotik direnci doğadan izole edilen bakteri suşlarında yaygın olarak bulunur. Klinik olarak gelişen direnç çevrede bulunan direnç mekanizması ile sıkı sıkıya ilişkilidir. Bu nedenle antibiyotik çalışmalarında patojen mikroorganizmalar ile yapılan çalışmalar kadar patojen olmayan organizmalar ile de çalışmalar yapılmasına gereksinim vardır. Böylece, direncin bakterilerde gelişmesinden ve klinik olarak ortaya çıkmasından önce, bu direncin tahmin edilerek önlenmesi için tanı tekniklerinin ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi olası olabilir^(32,36).

Ayrıca, dirence neden olabilecek enzimlerin inhibitörlerinin geliştirilerek kombinasyon tedavileri ile antibiyotiğin etkili olmasının sağlanabileceği de bildirilmektedir^(13,31).

Kombinasyon tedavilerinin geleceği

Son yıllarda, mutasyona-özel inhibitörler üzerinde çalışılmaktadır. Gelecek yıllarda oluşabilecek mutasyonu önleyici inhibitörler ile orijinal antibiyotik kombinasyonlarının geliştirilerek kullanıma girebileceği düşünülmektedir. Ancak, kombinasyon tedavisi için mutant suşun ortaya çıkmasını beklemek mi, yoksa iki ilacın kombine hâlde ilk tedavi seçeneği olarak sunulmasının mı daha etkili olabileceği gibi bazı sorularda henüz net bir yanıt bulamamıştır⁽¹³⁾.

Gelecekte antibakteriyel kombinasyon tedavilerini etkileyeceği düşünülen 3 önemli sorun mevcuttur.

1. Birçok antibiyotik yüksek düzeyde yapısal dirençten dolayı kullanılamamaktadır. Böyle antibiyotiklerin yeni kombinasyon tedavilerinde kullanılması olası olabilir mi? Bu moleküller, kombinasyon tedavisinin bir komponenti olarak kullanılarak yine klinik kullanıma girebilirler mi?
2. Kombinasyon tedavilerinde en önemli aşılması gereken sorun, öngörülemeyen toksisitedir. Toksikite tekli ilaçlarda önemli sorunlara neden olmaktadır. Bu sorundan dolayı kombinasyon tedavilerinin geliştirilmesinde de bu konuya dikkatle yaklaşılmaktadır.
3. Duyarlaştırıcı (sensitizer) moleküllerin araştırılması: Kendi başlarına öldürme etkileri olmayan, ama antibiyotikler ile kullanıldığında antibiyotiği daha etkili yapan ve direnç gelişimini engelleyen moleküller geliştirilebilir mi? Bu moleküller birçok mekanizma ile etkili olabilirler; direnç oluşturan enzimi inhibe edebilirler, ilacı metabolize eden enzimi inhibe edebilirler⁽¹³⁾.

Sonuç olarak, sinerjistik etkili kombinasyonların, direncin gelişimini engellemedeki katkısı, toksik etkiyi azaltması, artmış spektrumu ve antibiyotik etkisi gibi nedenlerle tedavide kullanım olanakları araştırılmaktadır. Günümüzde, değişik kombinasyon tedavisi arayışı çalışmaları devam etmektedir.

Kombinasyon tedavisinde hedef mikroorganizmayı eradike edecek uygun tedavinin seçilmesi esastır. Rasyonel bir antibiyotik kombinasyon tedavisinin, özellikle ilaç direncinin sıklıkla görüldüğü bölgelerde kullanımı, ilaç direnci gelişmesi riskini azaltır ve klinik başarıyı artırır.

Bununla birlikte, dezavantajlarının olduğu göz ardı edilmemelidir.

Kombinasyonlar, dirençli mikroorganizmanın eradike edilmesinde alternatif olabilirler. Bundan dolayı yapılacak her kombinasyon çalışması, araştırılmaya değerdir. Yapılan az sayıdaki in-vitro çalışmaların sonuçları, yapılacak diğer çalışmalar ile desteklenmelidir. Böylece in-vivo kullanımından önce sinerjistik etkinin varlığı ve antagonist etkinin olmadığı önceden belirlenmiş olur.

Doğadaki antibiyotik direncinin izlenmesi, yeni antibiyotik geliştirilmesinin kaynağı olabileceği gibi, klinik olarak ortaya çıkabilecek yeni mekanizmaların önceden açıklanmasına da olanak sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Cornaglia G, Rossolini GM.** Forthcoming therapeutic perspectives for infections due to multidrug-resistant Gram-positive pathogens. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:218-23.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02740.x>
- Rice LB.** Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria. *Am J Med* 2006; 119(6 Suppl 1):S11-9; discussion: S62-70.
- Naseri I, Jerris RC, Sobol SE.** Nationwide trends in pediatric *Staphylococcus aureus* head and neck infections. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 135: 14-6.
<http://dx.doi.org/10.1001/archoto.2008.511>
- Pillai SK, Moellering RC Jr, Eliopoulos GM.** Antimicrobial combinations. In: Victor Lorian, ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005: 365-440.
- Hunter TH.** Use of streptomycin in treatment of bacterial endocarditis. *Am J Med* 1947; 2:436-42.
[http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343\(47\)90088-0](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343(47)90088-0)
- Jawetz E, Gunnison JB, Colman VR.** The combined action of penicillin with streptomycin or chloromycetin on enterococci in vitro. *Science* 1950; 111:254-6.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.111.2880.254>
- King TC, Schlessinger D, Krogstad DJ.** The assessment of antimicrobial combinations. *Rev Infect Dis* 1981; 3:627-33.
<http://dx.doi.org/10.1093/clinids/3.3.627>
- Rand KH, Houck HJ, Brown P, Bennett D.** Reproducibility of the microdilution checkerboard method for antibiotic synergy. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:613-15.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.37.3.613>
- Pankey GA, Ashcraft DS.** In vitro synergy of telavancin and rifampin against *Enterococcus faecium* resistant to both linezolid and vancomycin. *Ochsner J* 2013; 13:61-5.
- Higgins DL, Chang R, DeBabov DV, et al.** Telavancin, a multifunctional lipoglycopeptide, disrupts both cell wall synthesis and cell membrane integrity in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:1127-34.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.49.3.1127-1134.2005>
- Silverman JA, Perlmutter NG, Shapiro HM.** Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:2538-44.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.47.8.2538-2544.2003>
- Wehrli W.** Rifampin: mechanisms of action and resistance. *Rev Infect Dis* 1983; 5(Suppl 3):S407-11.
http://dx.doi.org/10.1093/clinids/5.Supplement_3.S407
- Fischbach MA.** Combination therapies for combating antimicrobial resistance. *Curr Opin Microbiol* 2011; 14:519-23.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2011.08.003>
- Mehta KC, Dargad RR, Borade DM, Swami OC.** Burden of antibiotic resistance in common infectious diseases: Role of antibiotic combination therapy. *J Clin Diagn Res* 2014; 8:ME05-8.
<http://dx.doi.org/10.7860/jcdr/2014/8778.4489>
- Malenga G, Palmer A, Staedke S, et al.** Antimalarial treatment with artemisinin combination therapy in Africa. *BMJ* 2005; 331:706-7.
<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.331.7519.706>
- Wormser GP, Keusch GT, Heel RC.** Co-trimoxazole (trimethoprim-sulfamethoxazole): an updated review of its antimicrobial activity and clinical efficacy. *Drugs* 1982; 24:459-518.
<http://dx.doi.org/10.2165/00003495-198224060-0000>
- Derbentli Ş.** Antimikrobiyal Maddeler. In: Bozkaya E, ed. *Tıbbi Mikrobiyoloji I*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 107-41.
- Lee N, Yuen KY, Kumana CR.** Clinical role of beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations. *Drugs* 2003; 63:1511-24.
<http://dx.doi.org/10.2165/00003495-200363140-00006>
- Zhanel GG, Schweizer F, Karlowsky JA.** Oritavancin: mechanism of action. *Clin Infect Dis* 2012; 54(Suppl 3):S214-9.
<http://dx.doi.org/10.1093/cid/cir920>
- Jones RN, Turnidge JD, Moeck G, Arhin FF, Mendes RE.** Use of in vitro vancomycin testing results to predict susceptibility to oritavancin, a new long-acting lipoglycopeptide. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59:2405-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/AAC.05098-14>
- Odds FC.** Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52:1.
<http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkg301>
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. 4th Ed Approved Standard M7-A5 NCCLS, Wayne, 2002.
- Klastersky J.** Concept of empiric therapy with antibiotic combinations. Indications and limits. *Am J Med* 1986; 80:2-12.
- Dilworth TJ, Sliwinski J, Ryan K, Dodd M, Mercier**

- RC. Evaluation of vancomycin in combination with piperacillin-tazobactam or oxacillin against clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates and vancomycin-intermediate *S. aureus* isolates in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:1028-33 <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01888-13>
25. **Banerjee R, Fernandez MG, Enthaler N, Graml C, Greenwood-Quaintance KE, Patel R.** Combinations of cefoxitin plus other β -lactams are synergistic in vitro against community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32:827-33. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-013-1817-9>
26. **Tamma PD, Cosgrove SE, Maragakis LL.** Combination therapy for treatment of infections with Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25:450-70. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.05041-11>
27. **Chamovitz B, Bryant RE, Gilbert DN, Hartstein AI.** Prosthetic valve endocarditis caused by *Staphylococcus epidermidis*. Development of rifampin resistance during vancomycin and rifampin therapy. *JAMA* 1985; 253:2867-8. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1985.03350430079030>
28. **Elek SD.** Principles and problems of combined antibiotic therapy. *Postgrad Med J* 1956; 324-27. <http://dx.doi.org/10.1136/pgmj.32.369.324>
29. **Cottarel G, Wierzbowski J.** Combination drugs, an emerging option for antibacterial therapy. *Trends Biotechnol* 2007; 25:547-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.09.004>
30. **Weiss K, Low DE, Cortes L, et al.** Clinical characteristics at initial presentation and impact of dual therapy on outcome of bacteremic *Streptococcus pneumoniae* in adults. *Can Respir J* 2004; 11:589-93.
31. **D'Costa VM, McGrann KM, Hughes DW, Wright GD.** Sampling the antibiotic resistome. *Science* 2006; 311:374-7. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1120800>
32. **D'Costa VM, Griffiths E, Wright GD.** Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. *Curr Opin Microbiol* 2007; 10:481-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2007.08.009>
33. **Challis GL, Hopwood DA.** Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003 25; 100(Suppl 2): S14555-61.
34. **Alexander DC, Jensen SE.** Investigation of the *Streptomyces clavuligerus* cephamycin C gene cluster and its regulation by the CcaR protein. *J Bacteriol* 1998; 180:4068-79.
35. **Bamas-Jacques N, Lorenzon S, Lacroix P, De Swetschin C, Crouzet J.** Cluster organization of the genes of *Streptomyces pristinaespiralis* involved in pristinamycin biosynthesis and resistance elucidated by pulsed-field gel electrophoresis. *J Appl Microbiol* 1999; 87:939-48. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00955.x>
36. **Pickup RW, Rhodes G.** Mechanisms for resistance in soil. *Science* 2006; 312:529. <http://dx.doi.org/10.1126/science.312.5773.529a>