



Editörler

Prof. Dr. Deniz Gür
Prof. Dr. Zeynep Gülay



Yardımcı Editör

Doç. Dr. Gülşen Altınkanat Gelmez

İçindekiler

<i>Bacillus subtilis</i> modelinde rifampisin direncine güncel bir bakış.....	2
Bakterilerde antibiyotik duyarlılık öngörüsünde tüm genom dizilemenin rolü: EUCAST 2025 güncellemesinden öne çıkanlar	9
EUCAST v16.1 ile anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinde neler değişti?.....	13
Bir olgumuz var	15
Güncel yayınlar	23
Antibiyotik duyarlılık testlerinde sık sorulan sorular.....	30
Pfizer-TMC-ADTS eğitim toplantısı.....	32

Değerli meslektaşlarımız,

ADTS Bültenimizin 2026 yılındaki üçüncü sayısında,

Dr. Rüveyda Akçin, antibiyotik direncinin evrimsel ve moleküler temellerini anlamak için güçlü bir model olan *Bacillus subtilis*'te rifampisin direncinde rol alan bazı mekanizmaları irdeledi.

Dr. Ayşe Nur Sarı Kaygısız, "Bakterilerin Antibiyotik Duyarlılık Testlerinde Tüm Genom Dizilemenin (WGS) Rolüne ilişkin EUCAST Alt Komitesi'nin ikinci derlemesini sizler için özetledi. Tüm genom dizileme antibiyotik duyarlılık testlerinin yerini alabilir mi?

Dr. Mervenur Demir, Haziran ayında yayımlanan ve anaerob bakteriler için güncellemeler içeren EUCAST v16.1 kılavuzu ile anaerob bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinde ne gibi değişiklikler olduğunu sizler için derledi.

Prof. Dr. Zeynep Gülay, bu sayımız için çok ilginç bir olgu hazırladı ve antibiyotik direncine ilişkin güncel yayınlardan bazılarını sizler için özetledi.

Sonraki bölümde antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan besiyerlerine ilişkin sık sorulan soruları ve bunlara EUCAST'ın verdiği yanıtları sunuyoruz.

Sayımızı 22 Eylül 2026 tarihinde Pfizer A.Ş. tarafından desteklenen TMC-ADTS eğitim toplantılarının üçüncüsünden fotoğraflar ile tamamlıyoruz.

Bu sayıda emeği geçen tüm arkadaşlarımıza teşekkürlerimizi sunar sizlere esenlikler dileriz.

TMC-ADTS Çalışma Grubu

Bilimsel kurul

Prof. Dr. Şöhret Aydemir
Prof. Dr. Ufuk Hasdemir
Prof. Dr. Zeynep Ceren Karahan
Prof. Dr. Güner Söyletir

Prof. Dr. Çiğdem Kayacan
Doç. Dr. Onur Karatuna
Doç. Dr. Serap Süzük
Doç. Dr. Pınar Sağıroğlu

Bacillus subtilis modelinde rifampisin direncine güncel bir bakış



Arş. Gör. Rüveyda Akçin

İstanbul Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Giriş

Bacillus subtilis, doğada özellikle toprakta, bitki kök çevresinde ve organik madde bakımından zengin çevresel nişlerde yaygın olarak bulunan, gram pozitif, spor oluşturan ve çevresel değişimlere yüksek uyum gösterebilen bir bakteridir (1). Endospor oluşturabilmesi sayesinde kuraklık, besin kısıtlılığı ve çeşitli fiziksel stres koşullarında uzun süre canlılığını koruyabilmesi, bu bakterinin çevresel başarısının temel nedenlerinden biridir (1). Ancak *B. subtilis*'i mikrobiyoloji açısından asıl önemli kılan özellik, yalnızca yaygın bir çevre bakterisi olması değil; genetik yapısının ayrıntılı biçimde çözülmüş, laboratuvar koşullarında kolaylıkla çoğaltılabilen ve deneysel olarak manipüle edilebilen bir model organizma olmasıdır (2). Bununla birlikte, *B. subtilis*, sekonder metabolit üretimi açısından oldukça zengin bir profil sergilemekte olup; özellikle hücre duvarı sentezini inhibe eden basitrasin, güçlü biyosurfaktan özelliklerine sahip surfaktin ve antifungal aktiviteleriyle bilinen iturin ile fengisin gibi geniş spektrumlu antimikrobiyal bileşikler sentezleyerek mikrobiyal ekosistemlerin modülasyonunda kritik bir rol oynamaktadır (2). Ayrıca, hücre bölünmesi, sporulasyon, stres yanıtları, metabolik adaptasyon, transkripsiyonel düzenleme ve antibiyotiklere yanıt gibi pek çok temel biyolojik süreç bu bakteri üzerinde ayrıntılı olarak incelenmiştir (2). Ayrıca doğal kompetans geliştirebilmesi, yani çevreden serbest DNA alarak genomuna entegre edebilmesi, *B. subtilis*'i genetik değişkenliğin, adaptasyon süreçlerinin ve direnç determinantlarının işlevsel sonuçlarının araştırılmasında son derece elverişli bir sistem haline getirmektedir (3). Bu özellik, yalnızca deneysel gen aktarımı bakımından değil, aynı zamanda bakteriyel topluluklarda genetik bilginin dolaşımı ve potansiyel yatay gen transferi risklerinin anlaşılması açısından da önem taşımaktadır (3). Bu nedenle *B. subtilis*, antibiyotik direncinin evrimsel ve moleküler temellerini anlamak için güçlü bir model sunmaktadır (3).

Rifampisin, ansamisin sınıfından, güçlü bakterisidal etkili bir antibiyotik olup bakteriyel RNA polimeraz enziminin β -alt birimine bağlanarak etki göstermektedir (4). Bu bağlanma, yeni sentezlenmekte olan RNA zincirinin uzamasını sterik olarak engelleyerek transkripsiyonun erken evrede durmasına yol açmaktadır (4). Böylece bakterinin gen ekspresyonu baskılanır ve hücresel yaşamsal süreçler hızla bozulur (4). Geniş etki spektrumu ve özellikle mikobakterilere karşı yüksek aktivitesi nedeniyle rifampisin; başta *Mycobacterium tuberculosis* ve *Mycobacterium leprae* olmak üzere, *Staphylococcus aureus* (MRSA dahil), *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* ve *Legionella* türleri gibi çeşitli gram pozitif ve gram negatif patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde uzun yıllardır temel antibiyotiklerden biri olarak kullanılmaktadır (5, 6). Bununla birlikte rifampisinin yaygın ve etkili kullanımı, bu ilaca karşı gelişen direnç mekanizmalarının anlaşılmasını klinik açıdan daha da önemli hale getirmiştir (7). Rifampisin direnci çoğu zaman RNA polimerazın hedef bölgesinde meydana gelen değişimlerle ilişkilendirilse de, ilacın hücre dışına atılması veya kimyasal olarak modifiye edilerek etkisiz hale getirilmesi gibi alternatif yollar da bu direnç biyolojisinin önemli parçalarıdır (4,7). Bu yazıda *B. subtilis* modelinde rifampisin direnç mekanizmalarından olan *rpoB* gen mutasyonu ve atım pompa sistemlerine değinilecektir; ayrıca yazının temel odak noktasını, *B. subtilis*'te uzun süre fosfoenolpirüvat sentaz (Pps) olarak yanlış anotanmış olan ve güncel çalışmalarla rifampisini fosforilleyerek inaktive eden bir enzim olduğu gösterilen rifampisin fosfotransferaz(RphT) oluşturmaktadır. Bu bağlamda RphT'nin gerçek biyolojik rolü ve rifampisin direncine katkısı ayrıntılı olarak irdelenecektir.

Rifampisin Direncinin Başlıca Mekanizmaları: *rpoB* Mutasyonu ve Atım Pompaları *rpoB* mutasyonu:

Rifampisin direnci en sık olarak, bakteriyel RNA polimerazın β -alt birimini kodlayan *rpoB* geninde meydana gelen nokta mutasyonları sonucu gelişmektedir (4). Bu mutasyonlar, rifampisinin bağlandığı hedef bölgede yapısal ve konformasyonel değişikliklere yol açarak antibiyotiğin RNA polimeraza bağlanma afinitesini belirgin biçimde azaltmakta, böylece ilacın transkripsiyonun erken evrede durdurulmasına dayanan etkisini zayıflatmaktadır (4). Bu nedenle *rpoB* mutasyonları, rifampisin direncinin en iyi tanımlanmış ve en yaygın moleküler temeli olarak kabul edilmektedir (4). *Bacillus subtilis* açısından bakıldığında rifampisin direncinin klasik ve en iyi tanımlanmış mekanizması yine *rpoB* mutasyonlarıdır. Bu mutasyonların önemli bir bölümü, rifampisinin bağlanması açısından kritik öneme sahip dar bir bölgede, yani sıklıkla "Cluster I" olarak tanımlanan alanda kümelenmektedir. Söz konusu mutasyonlar, antibiyotiğin hedef enzime bağlanmasını sterik ve konformasyonel olarak bozarak direnç gelişimine yol açmaktadır (8). Özellikle vejetatif hücrelerde Q469 ve H482 gibi pozisyonlardaki amino asit değişimleri ön plana çıkarken, spor formunda seçilen mutasyon spektrumunun farklılaşabildiği gösterilmiştir (8). Spor DNA'sının daha kompakt ve A-formuna yakın paketlenme özellikleri ile farklı kimyasal mikroçevre koşulları, S487L gibi belirli mutasyonların daha sık ortaya çıkmasına zemin hazırlayabilmektedir (8). Dikkat çekici olarak, bu mutasyonun mikobakterilerde klinik rifampisin direnciyle ilişkilendirilen bazı değişimlerle benzerlik göstermesi, *B. subtilis*'i yalnızca temel bilim açısından değil, hedefe yönelik direnç mekanizmalarının biyolojik sonuçlarını incelemek bakımından da değerli bir model haline getirmektedir (8,9). Bununla birlikte *rpoB* mutasyonlarının önemi yalnızca rifampisine direnç kazandırmalarından ibaret değildir (10). Son yıllarda bu mutasyonların bakterinin fizyolojisi, çevresel uyumu ve diğer antibiyotiklere duyarlılığı üzerinde de etkiler oluşturabildiği anlaşılmıştır (10). Örneğin bazı *B. subtilis* *rpoB* mutantlarında direnç kazanımı üreme hızında azalma ile birlikte seyrederken, bazı suşlarda çevresel amino asitlerin kullanımında avantaj sağlayabilen metabolik düzenlenmeler gözlenmiştir (10). Nitekim S487L mutasyonuna sahip bakterilerin laboratuvar koşullarında daha yavaş üremesine karşın, doğada yaygın bulunan bazı amino asitleri kullanmada yabanıl tipe kıyasla daha başarılı olabildiği bildirilmiştir (10). Bu bulgular, antibiyotik direncinin yalnızca ilaca rağmen hayatta kalmayı sağlayan bir özellik olmadığını; aynı zamanda bakterinin çevresel uygunluğunu ve metabolik tercihlerini yeniden şekillendirebilen daha geniş bir evrimsel uyum sürecinin parçası olabileceğini düşündürmektedir (10). Buna ek olarak, belirli *rpoB* mutasyonlarının β -laktam antibiyotiklere karşı çapraz duyarlılık oluşturabildiğinin gösterilmiş olması, direnç kazanımının her zaman tek yönlü bir avantaj sağlamadığını; bazen başka antimikrobiyallere karşı duyarlılık artışı pahasına sürdürülen bir evrimsel ödünleşme içerdiğini ortaya koymaktadır (8,10). Bu gözlem, kombinasyon veya ardışık tedavi stratejilerinin tasarımında önemli kavramsal çıkarımlar sunmaktadır (8,10).

Atım pompaları: Rifampisin direncinde ikinci önemli mekanizma, antibiyotiğin hücre içi konsantrasyonunu azaltan atım pompalarıdır (11). Bu atım pompaları, toksik bileşikler ve antibiyotikler hücre dışına taşıyan membran proteinlerinden oluşmaktadır (11). ATP hidrolizi, proton ya da sodyum gradyanı gibi enerji kaynaklarıyla çalışırlar (11). Bu sayede rifampisinin hücre içinde bakterisidal düzeye ulaşması engellenebilir ve hedef bölgeye erişen etkin ilaç miktarı azalır (12). Ancak bu mekanizma çoğu zaman tek başına yüksek düzey rifampisin direnci oluşturmaz; daha çok düşük-orta düzey duyarlılık azalmasına, fenotipik toleransa ve antibiyotik stresine uyuma katkı sağlar (12).

Bakterilerde ATP-Binding Cassette (ABC), Major Facilitator Superfamily (MFS), Small Multidrug Resistance (SMR), Resistance-Nodulation-Division (RND) ve Multidrug and Toxic Compound Extrusion (MATE) gibi farklı atım pompa aileleri tanımlanmıştır. (11). Gram pozitif bir model organizma olan *B. subtilis*'te ise özellikle ABC, MFS ve SMR aileleri öne çıkmaktadır (11). ABC taşıyıcıları ATP hidroliziyle çalışırken, MFS ve SMR üyeleri çoğunlukla elektrokimyasal gradyanlardan yararlanmaktadır (11). *Bacillus subtilis*'te MFS ailesine ait Bmr ve Blt pompaları çoklu ilaç toleransı ile ilişkili önemli taşıyıcılardır (11). Bmr, proton gradyanını kullanarak çeşitli katyonik bileşikler hücre dışına taşıyabilir ve yapısal olarak *S. aureus*'taki NorA pompasına benzerlik gösterir (13). Blt ise doğal olarak poliamin taşınımıyla ilişkilidir; ancak aşırı eksprese edildiğinde antibiyotiklerin dışa atımına katkıda bulunabilir (13). SMR ailesinden EbrAB sistemi de iki farklı protein bileşeninin birlikte çalışmasıyla işlev gören özgün bir atım örneğidir (12).

Atım pompaları, *B. subtilis*'te RNA polimeraz β -alt birimini kodlayan *rpoB* genindeki mutasyonların yerini almaz; ancak hücre içi rifampisin düzeyini azaltarak bakteriye antibiyotik baskısı altında zaman kazandırabilir (8). Bu süreçte bazı alt popülasyonlar atım sistemlerini daha hızlı aktive ederek geçici bir fenotipik tolerans geliştirebilir (8). Böylece bakterinin yaşamını sürdürmesi kolaylaşır ve ilerleyen süreçte *rpoB* gibi hedef genlerde ortaya çıkan kalıcı direnç mutasyonlarının seçilmesi mümkün hale gelebilir (8).

Bu nedenle atım pompaları, *B. subtilis*'te rifampisin direncinin doğrudan ve ana nedeni olarak değil, antibiyotik stresine uyumu destekleyen ve direnç evrimini kolaylaştıran modülatör sistemler olarak değerlendirilmelidir (8,11,12). Atım pompa inhibitörleri bu açıdan mevcut antibiyotiklerin etkinliğini artırabilecek potansiyel yaklaşımlar arasında görülse de, mevcut veriler *B. subtilis*'te rifampisin direncinin esas itici gücünün hedef mutasyonları olduğunu göstermektedir (8,11,12).

Alternatif Bir Direnç Mekanizması Olarak RphT

Rifampisinin enzimatik inaktivasyonu, bakterilerin hedef bölge mutasyonlarından bağımsız olarak geliştirdiği önemli direnç yollarından biridir (14). Bu mekanizmada bakteriler, rifampisin molekülünün özellikle ansa zinciri üzerinde yer alan hidroksil gruplarını kimyasal olarak modifiye ederek ilacın RNA polimeraz ile etkileşimini bozmaktadır (14). Rifampisine karşı tanımlanan başlıca enzimatik direnç mekanizmaları; ADP-ribozilasyon, glikozilasyon ve fosforilasyon reaksiyonlarını kapsamaktadır (14,15). Yapılan çalışmalar sonucu bu modifikasyonların, rifampisinin hedef proteinle kurması gereken kritik hidrojen bağlarını ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (14). Bununla birlikte, bu direnç mekanizmaları molekülün hacmini ve kimyasal özelliklerini değiştirerek rifampisinin, *rpoB* tarafından kodlanan RNA polimeraz β -alt birimindeki bağlanma cebine yerleşmesini engeller (14).

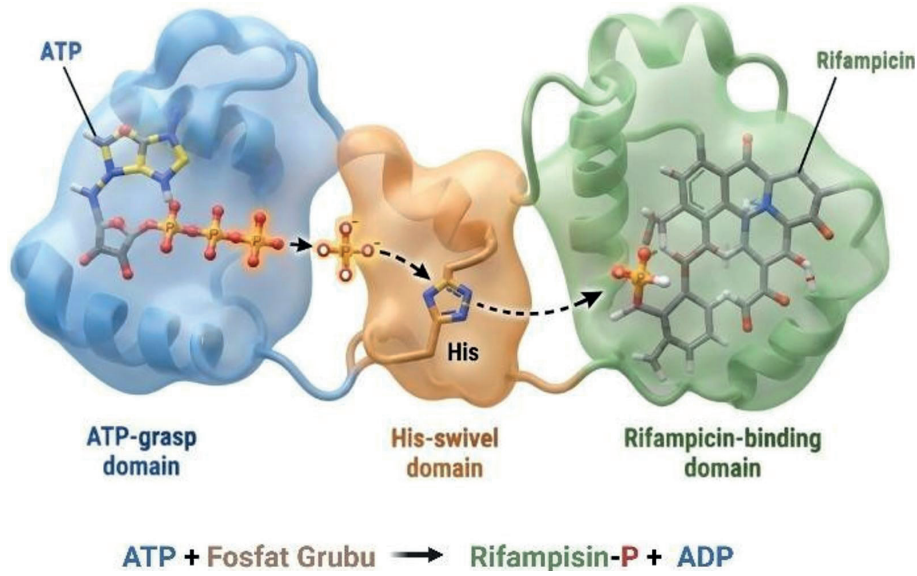
ADP-ribozilasyon, bu mekanizmalar içinde en iyi tanımlanmış yollardan biridir (14). Özellikle *Mycobacterium smegmatis* ve bazı gram negatif patojenlerde bulunan ADP-riboziltransferaz (Arr) enzimleri, NAD^+ 'tan aldıkları ADP-riboz grubunu rifampisinin C23 hidroksil grubuna aktarır (16). Bu modifikasyon sonucunda C23 hidroksil grubunun RNA polimeraz ile kurduğu kritik etkileşimler bozulur ve rifampisin hedef bölgeye etkin biçimde bağlanamaz (16). Arr enzimlerini kodlayan genlerin hem çevresel bakterilerde hem de patojen türlerde bulunması, bu direnç mekanizmasının yalnızca klinik isolatlarla sınırlı olmadığını, daha geniş bir çevresel direnç havuzunun parçası olduğunu düşündürmektedir (16).

Rifampisinin enzimatik inaktivasyonunda bir diğer önemli yol glikozilasyondur (15). Bu mekanizmada rifampin glikoziltransferaz (Rgt) ailesine ait enzimler gibi glikoziltransferazlar, rifampisinin ansa zincirindeki hidroksil gruplarına şeker grupları aktararak antibiyotiği modifiye eder (15). Özellikle çevresel aktinomisetlerde tanımlanan bu enzimler, çoğunlukla rifampisinin C23 hidroksil grubunu hedef alır ve bu bölgeye glukoz gibi şeker kalıntıları ekleyerek ilacın yapısal özelliklerini değiştirir (15). Örneğin *Streptomyces speibonae* WAC1438 suşunda tanımlanan *rgt1438* geni, rifampisini 23-O- β -glukopiranozil-rifampisine dönüştürerek inaktive edebilmektedir (15,17). Benzer mekanizmalar daha önce *Nocardia brasiliensis* gibi aktinomisetlerde de bildirilmiştir (15,17). Bu tür glikozilasyon reaksiyonları, rifampisinin RNA polimeraz ile etkileşimini engellerken, çevresel bakterilerde antibiyotiklere karşı öz-bağışıklık veya çapraz direnç gelişimine katkı sağlayabilir (15,17).

ADP-ribozilasyon ve glikozilasyondan farklı olarak, fosforilasyon temelli enzimatik inaktivasyon rifampisin direncinde daha yakın dönemde dikkat çeken alternatif bir mekanizma olarak öne çıkmaktadır (14,18). Bu enzimatik yollar arasında RphT'ler, dikkat çeken alternatif direnç belirleyicileri arasında yer almaktadır (14,18). RphT'nin çalışma mekanizması, konformasyonel değişime dayalı bir "toggle switch (genetik anahtar)" modeliyle açıklanabilir (18). RphT'ler, ATP'den aldıkları fosfat grubunu rifampisin molekülünün C21 hidroksil grubuna aktararak rifampisin-21-fosfat oluşumunu katalizler (18). Bu kimyasal modifikasyon, rifampisinin RNA polimeraz üzerindeki bağlanma bölümüne uygun biçimde yerleşmesini engeller (18). Ayrıca ilacın hedef

proteinle etkileşimini büyük ölçüde ortadan kaldırır (18). Böylece direnç, hedef proteinin değişmesiyle değil, antibiyotiğin hedefe ulaşmadan önce fonksiyonel olarak inaktive edilmesiyle gelişir (18).

2026 yılında Bobková ve ark. (19), *B. subtilis* genomunda uzun süre *pps* adıyla anılan bir geni yeniden değerlendirmiştir. Bu genin, Pps benzeri bir enzimi kodladığı düşünülmekteydi. Ancak çalışma, söz konusu gen ürününün klasik bir Pps enzimi olmadığını; gerçekte rifampisini fosforile ederek inaktive eden RphT adlı bir enzim olduğunu deneysel olarak göstermiştir. RphT temel olarak ATP'yi bağlayan ve fosfat kaynağını sağlayan ATP-grasp bölgesi, rifampisin molekülünü tanıyan substrat bağlama bölgesi ve fosfat grubunu bu iki bölge arasında taşıyan hareketli His-swivel bölgesi olmak üzere üç fonksiyonel bölümden oluşmaktadır (Şekil 1). RphT'nin çok alanlı yapısal organizasyonunu oluşturan bu üç fonksiyonel bölümün Pps ve bakteriyel fosfotransferaz sistemi proteinleriyle gösterdiği yapısal benzerlik, bu enzimin uzun süre metabolik enzim olarak yanlış anotanmasına yol açmış olabilir. Ancak bu çok alanlı yapı, gerçekte fosfat transferini mekânsal olarak organize eden dinamik bir katalitik sistemi oluşturmaktadır. His-swivel bölgesinde yer alan hareketli histidin kolu, ATP bağlama bölgesinden aldığı fosfatı rifampisinin bağlı bulunduğu substrat bölgesine aktararak enzimin katalitik döngüsünü tamamlamaktadır. Bu sebeple RphT, pasif bir bağlama proteini olmaktan çok, rifampisin fosforilasyonunu koordineli ve yüksek özgüllükle gerçekleştiren özelleşmiş bir enzimatik sistemdir (Şekil 1). Bu nedenle araştırmacılar, *B. subtilis*'te daha önce *pps* olarak anılan genin, işlevini daha doğru yansıtabilecek şekilde *rphT* olarak yeniden adlandırılmasını önermiştir.



Şekil 1. RphT aracılı rifampisin fosforilasyon mekanizması.

RphT'nin biyolojik önemi, yalnızca rifampisini fosforile ederek inaktive edebilmesinden değil, aynı zamanda yüksek düzeyli rifampisin direnci oluşturma potansiyelinden kaynaklanmaktadır (20). RphT homologlarının çevresel ve patojen bakterilerde bulunması, bu enzimlerin antibiyotik üreticisi veya çevresel mikroorganizmalarda öz-korunma işlevi görebileceğini; yatay gen aktarımı veya uygun ekspresyon koşulları altında ise klinik açıdan anlamlı yüksek düzeyli direnç fenotiplerine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (14). Deneysel çalışmalar, *rphT* geninin silindiği *B. subtilis* suşlarında rifampisin varlığında üremenin azaldığını; buna karşılık genin yeniden ifade edilmesinin veya aşırı eksprese edilmesinin rifampisin toleransını artırdığını göstermiştir. (19,20). Ayrıca RphT'nin heterolog bir konakta ifade edilmesi, rifampisin minimum inhibitör konsantrasyonunu dramatik biçimde yükseltmiştir (19,20). Bu bulgular, RphT'nin uygun koşullarda güçlü bir direnç determinantı olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir (19,20).

Bacillus subtilis modelinde rifampisin direnci, tek bir moleküler olayla açıklanamayacak kadar çok katmanlı bir süreçtir. Hedef bölge değişimine dayanan *rpoB* mutasyonları klasik ve kalıcı direnç mekanizmasını temsil ederken, atım pompaları hücre içi antibiyotik düzeyini azaltarak antibiyotik stresine uyumu destekleyen yardımcı sistemler olarak öne çıkmaktadır. Buna karşılık RphT aracılı enzimatik inaktivasyon, rifampisin

molekölünün doğrudan kimyasal modifikasyonu yoluyla hedefe ulaşmadan etkisizleştirilmesini sağlayan alternatif ve dikkat çekici bir direnç yoludur. Bu üç mekanizmanın temel özellikleri ve *B. subtilis* açısından biyolojik anlamı Tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1. *Bacillus subtilis* modelinde rifampisin direncine katkı sağlayan başlıca mekanizmaların özeti.

Özellik	<i>rpoB</i> mutasyonları	Atım pompaları	RphT aracılı enzimatik inaktivasyon
Direnç mekanizması	RNA polimerazın β -alt biriminde yapısal/ konformasyonel değişim	Rifampisinin hücre dışına atılması ve hücre içi ilaç düzeyinin azaltılması	Rifampisinin kimyasal olarak modifiye edilerek inaktive edilmesi
Öne çıkan hedef/etki noktası	Cluster I bölgesi; Q469, H482, S487 gibi pozisyonlar	Hücre membranındaki Bmr, Blt ve EbrAB gibi çoklu ilaç taşıyıcı sistemler	Rifampisin molekülünün C21 hidroksil grubu
Klinik önemi	Yüksek düzey direnç	Genellikle düşük-orta düzey duyarlılık azalması ve fenotipik tolerans	Uygun ekspresyon koşullarında yüksek düzey direnç
Biyolojik önemi	Klasik hedef bölge mutasyonuna bağlı direnci açıklar; direnç-biyolojik uyum ilişkisini gösterir.	Atım proteinlerinin, stres altında yüksek düzey ekspresyonunun dirence katkısını gösterir.	Yanlış anotasyon düzeltilmesinin bakterilerde yeni direnç hedeflerinin ortaya konulabileceğini gösterir.

Sonuç

Sonuç olarak, *B. subtilis* modeli rifampisin direncinin yalnızca klasik hedef bölge mutasyonları üzerinden değil, daha geniş ve çok katmanlı bir direnç biyolojisi içinde değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir. *rpoB* mutasyonları rifampisin direncinin temel belirleyicisi olmaya devam ederken, atım pompaları antibiyotik stresine uyumu destekleyen yardımcı mekanizmalar olarak öne çıkmaktadır. Bununla birlikte, RphT’nin rifampisini fosforilleyerek inaktive eden özgün bir enzim olarak tanımlanması, bu direnç tablosuna yeni ve önemli bir boyut kazandırmıştır. Uzun süre metabolik bir enzim olarak yanlış anotlanan bu proteinin gerçek işlevinin ortaya konması, genom anotasyonlarının deneysel doğrulama ile yeniden değerlendirilmesinin ne kadar kritik olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda RphT, yalnızca *B. subtilis*’te rifampisin direncinin anlaşılması açısından değil, çevresel bakterilerde saklı kalmış potansiyel direnç determinantlarının tanımlanması açısından da dikkat çekici bir örnek oluşturmaktadır. Dolayısıyla *B. subtilis*, rifampisin direncinin moleküler temellerini, evrimsel kökenlerini ve klinik açıdan önem taşıyabilecek alternatif direnç yollarını anlamak için güçlü bir model sistem olmaya devam etmektedir.

Kaynaklar

1. Mandic-Mulec I, Stefanic P, van Elsas JD. Ecology of Bacillaceae. *Microbiol Spectr*. 2015;3(2):TBS-0017-2013. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TBS-0017-2013>
2. Errington J, van der Aa LT. Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, and industrial workhorse. *Microbiology (Reading)*. 2020;166(5): 425-7. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000922>
3. Dubnau D, Blokesch M. Mechanisms of DNA Uptake by Naturally Competent Bacteria. *Annu Rev Genet*. 2019;53:217-37. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112618-043641>
4. Floss HG, Yu TW. Rifamycin-mode of action, resistance, and biosynthesis. *Chem Rev*. 2005;105(2):621-32. <https://doi.org/10.1021/cr030112j>
5. Lazo-Porras M, Prutsky GJ, Barrionuevo P, et al. World Health Organization (WHO) antibiotic regimen against other regimens for the treatment of leprosy: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2020;20(1):62. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4665-0>
6. Yusuf E, Bramer W, Anas AA. Clinical outcomes of rifampicin combination therapy in implant-associated infections due to staphylococci and streptococci: A systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2024;63(1):107015. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2023.107015>
7. Xu G, Liu H, Jia X, Wang X, Xu P. Mechanisms and detection methods of *Mycobacterium tuberculosis* rifampicin resistance: The phenomenon of drug resistance is complex. *Tuberculosis (Edinb)*. 2021;128:102083. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2021.102083>
8. Leehan JD, Nicholson WL. The Spectrum of Spontaneous Rifampin Resistance Mutations in the *Bacillus subtilis* *rpoB* Gene Depends on the Growth Environment. *Appl Environ Microbiol*. 2021;87(22):e01237-21. <https://doi.org/10.1128/AEM.01237-21>
9. Patel Y, Soni V, Rhee KY, Helmann JD. Mutations in *rpoB* That Confer Rifampicin Resistance Can Alter Levels of Peptidoglycan Precursors and Affect β -Lactam Susceptibility. *mBio*. 2023;14(2):e03168-22. <https://doi.org/10.1128/mbio.03168-22>
10. Leehan JD, Nicholson WL. Environmental Dependence of Competitive Fitness in Rifampin-Resistant *rpoB* Mutants of *Bacillus subtilis*. *Appl Environ Microbiol*. 2022;88(5):e02422-21. <https://doi.org/10.1128/aem.02422-21>
11. Huang L, Wu C, Gao H, et al. Bacterial Multidrug Efflux Pumps at the Frontline of Antimicrobial Resistance: An Overview. *Antibiotics (Basel)*. 2022;11(4):520. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040520>
12. Zhang L, Tian X, Sun L, et al. Bacterial Efflux Pump Inhibitors Reduce Antibiotic Resistance. *Pharmaceutics*. 2024;16(2):170. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16020170>
13. Lekshmi M, Ammini P, Adjei J, et al. Modulation of antimicrobial efflux pumps of the major facilitator superfamily in *Staphylococcus aureus*. *AIMS Microbiol*. 2018;4(1):1-18. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.1.1>
14. Surette MD, Spanogiannopoulos P, Wright GD. The Enzymes of the Rifamycin Antibiotic Resistome. *Acc Chem Res*. 2021;54(9):2065-75. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.1c00048>
15. Spanogiannopoulos P, Thaker M, Koteva K, Waglechner N, Wright GD. Characterization of a Rifampin-Inactivating Glycosyltransferase from a Screen of Environmental Actinomycetes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(10):5061-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.01166-12>

16. Baysarowich J, Koteva K, Hughes DW, et al. Rifamycin antibiotic resistance by ADP-ribosylation: Structure and diversity of Arr. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(12): 4886-91. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711939105>
17. Adams RA, Leon G, Miller NM, et al. Rifamycin antibiotics and the mechanisms of their failure. *J Antibiot (Tokyo)*. 2021;74(11):786-98. <https://doi.org/10.1038/s41429-021-00462-x>
18. Stogios PJ, Cox G, Spanogiannopoulos P, et al. Rifampin phosphotransferase is an unusual antibiotic resistance kinase. *Nat Commun*. 2016;7:11343. <https://doi.org/10.1038/ncomms11343>
19. Bobková Š, Plechatá M, Koval' T, et al. The bacterial phosphotransferase system-mediated rifampicin phosphorylation: ancestral links to rifampicin-inactivating enzyme. *Front Microbiol*. 2026;17:1789656. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2026.1789656>
20. Spanogiannopoulos P, Waglechner N, Koteva K, Wright GD. A rifamycin inactivating phosphotransferase family shared by environmental and pathogenic bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(19):7102-7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1402358111>

Bakterilerde antibiyotik duyarlılık öngörüsünde tüm genom dizilemenin rolü: EUCAST 2025 güncellemesinden öne çıkanlar



Dr. Öğretim Üyesi Ayşe Nur Sarı Kaygısız

Başkent Üniversitesi, İzmir Zübeyde Hanım Uygulama ve Araştırma Merkezi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

EUCAST'ın tüm genom dizilemenin bakteriyel antibiyotik duyarlılık testlerindeki rolüne ilişkin alt komitesi, 2017 yılında, tüm genom dizileme (TGD) kullanılarak antibiyotik duyarlılığın öngörülmesine ilişkin mevcut verileri değerlendiren bir durum raporu yayımlamıştır. Bu raporda, tüm genom dizilemesine dayalı antibiyotik duyarlılık öngörüsünün (TGD-ADÖ), klinik karar vermeye rehberlik edecek düzeyde antibiyotik duyarlılık testlerine (ADT) yeterince güçlü bir alternatif olmadığı sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte 2017 yılından bu yana TGD kullanımının yaygınlaşması, dizileme teknolojilerindeki gelişmeler, biyoinformatik araçların ve antibiyotik direnç (AD) veri tabanlarının genişlemesi, makine öğrenmesi (MÖ)/yapay zekâ (YZ) temelli yaklaşımların geliştirilmesi ve direnç mekanizmaları ile ilgili bilginin artması, konunun yeniden değerlendirilmesini gerekli kılmıştır. Bu amaçla, güncel verilerin gözden geçirilerek TGD-ADÖ'nün mevcut potansiyeli ve sınırlılıkları yeniden değerlendirilmiştir. Güncellenen raporda, önceki raporda olduğu gibi literatür "mikroorganizma temelinde" değerlendirilmiş ancak kapsam genişletilmiştir. İlk raporda ele alınan *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridioides difficile* ve *Mycobacterium tuberculosis*'e, enterokoklar, *Haemophilus influenzae* ve *Bacteroides fragilis* eklenmiştir. Ayrıca 2017 raporundan farklı olarak, metagenomik, diğer -omik teknolojiler ve MÖ/YZ alanındaki gelişmeleri kapsayan yeni bölümler oluşturulmuştur.

Direnç tanımları ile ilgili altı çizilenler

Güncel rapor TGD-ADÖ açısından biyolojik direnç ile klinik direncin birbirinden ayrılması gerektiğini özellikle vurgulamaktadır. Direnç genleri veya mekanizmalarını taşıyan bir izolat klinik olarak hâlâ duyarlı kabul edilebilirken, kazanılmış direnç genlerinden yoksun bir izolat klinik olarak dirençli olabilir. Klinik direnç, tedavi sırasında uygulanan tedavi dozu ile sağlanabilecek antibiyotik düzeyinin öngörülen sonucu ile ilişkilidir. Bu nedenle genetik bir direnç belirleyicisinin saptanması, her durumda doğrudan klinik direnç anlamına gelmemektedir. Bu ayrım, 2025 güncellemesinin önemli vurgularından biri olan epidemiyolojik kesim noktası (ECOFF) ile klinik sınır değerlerin, TGD-ADÖ çalışmalarındaki farklı rollerini de ortaya koymaktadır. ECOFF, sokak tipi ile sokak tipi olmayan popülasyonların ayrılmasını sağlarken, klinik sınır değerler tedavi başarısını öngörmek amacıyla kullanılmaktadır. Klinik sınır değerlerin ECOFF ile uyumlu olduğu durumlarda, TGD kullanılarak sokak tipi izolatların sokak tipi olmayan izolatlardan ve dolayısıyla duyarlı suşların dirençli suşlardan ayrılmasına ilişkin kanıtlar belirgin biçimde artmıştır. Buna karşın, klinik sınır değerler, ECOFF'tan farklı olduğunda genotipik olarak sokak tipi olmayan bazı izolatların klinik olarak hâlâ duyarlı olabilmesi mümkündür. Bu nedenle, güncel raporda TGD-ADÖ'nün karşılaştırmalı değerlendirmelerinde hem ECOFF'un hem de farklı olması durumunda klinik sınır değerlerin kullanılması önerilmektedir.

TGD teknolojilerindeki gelişmeler

TGD-ADÖ alanındaki teknolojik gelişmeler de 2017 raporundan sonraki dönemin temel değişiklikleri arasındadır. Kısaca üç teknoloji üzerinde durulabilir.

1. Kısa okuma dizileme platformları, daha maliyet-etkin hale gelmiş ve yüksek doğrulukları nedeniyle özellikle direnç ilişkili nokta mutasyonlarının ve kazanılmış direnç genlerinin belirlenmesinde yaygın biçimde kullanılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte, direnç genlerinin genomik bağlamının belirlenmesi, tekrarlayan bölgelerin çözülmesi, genlerin kromozomal veya plazmid kökeninin ayırt edilmesi ve gen kopya sayısının saptanması gibi konularda kısa okuma teknolojilerinin sınırlılıkları devam etmektedir.

2. Uzun okuma teknolojilerinde, son yıllarda hem doğruluk artmış hem de maliyet azalmıştır. Uzun okumaların yapısal olarak karmaşık bölgeleri kesintisiz biçimde kapsayabilmesi, direnç genlerinin genomik bağlamının ve gen kopya sayısındaki değişikliklerin değerlendirilmesinde avantaj sağlamaktadır.

3. Kısa ve uzun okumaların birlikte kullanıldığı hibrit yaklaşımlar ise, her iki teknolojinin güçlü yönlerinden yararlanılmasına olanak vermektedir.

Bununla birlikte, teknolojik ilerleme, genotip-fenotip ilişkisinin tümüyle çözümlendiği anlamına gelmemektedir. Güncel raporda, kanıt tabanının özellikle mutasyonel aşırı ifade, gen kopya sayısı değişimleri, porin ifadesi veya modifikasyonu ve atım pompaları gibi karmaşık direnç mekanizmaları açısından genişletilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Bu mekanizmalar çoğu zaman tek başlarına değil, diğer direnç mekanizmalarıyla birlikte fenotipe katkıda bulunmakta ve yalnızca gen veya mutasyon varlığına dayanan yaklaşımlarla doğru biçimde öngörülemez. Benzer şekilde, β -laktam- β -laktamaz inhibitörü kombinasyonları, sefiderokol, gepotidasin ve zoliflodasin gibi yeni antibiyotikler için de daha kapsamlı genotip-fenotip verilerine gereksinim bulunmaktadır. Bu nedenle sürekli ve entegre fenotipik ve genotipik AD süreyansı güncel raporun temel önerilerinden biri olarak öne çıkmaktadır.

TGD-ADÖ çalışmalarında kalite ölçütleri

2017 raporuna kıyasla daha fazla önem kazanan bir diğer konu, TGD-ADÖ çalışmalarında kullanılan fenotipik ve genomik verinin kalitesidir. Güncel önerilere göre fenotipik veriler referans ADT yöntemleriyle üretilmeli; ISO standardı sıvı mikrodilüsyon veya belirli mikroorganizma-antibiyotik kombinasyonları için agar dilüsyon tercih edilmeli ve diğer ADT yöntemlerinden kaçınılmalıdır. Klinik sınır değerlerin zaman içinde değişebilmesi nedeniyle, verilerin gelecekte yeniden yorumlanabilmesine olanak sağlamak amacıyla kategorik S-I-R sonuçları yerine MİK değerlerinin kullanılması ve saklanması tercih edilmelidir. Genomik verilerin ise türe ve kullanılan dizileme platformuna göre belirlenmiş kalite eşik değerlerini karşılaması gerekmektedir. Benzer şekilde, veri setlerinin yapısı TGD-ADÖ performansının değerlendirilmesinde büyük bir öneme sahiptir. Kullanılan suş koleksiyonları hedef popülasyonu yansıtmalı ve sokak tipi, sokak tipi olmayan ve MİK değeri klinik sınır değere yakın olan suşlar dahil olmak üzere antibiyotik duyarlılığın tüm spektrumunu kapsamalıdır. Belirli direnç fenotiplerinin aşırı temsil edildiği veya önceden seçilmiş izolat koleksiyonlarının kullanılması sonuçlarda yanlılığa yol açabilir. Ayrıca örnek, izolat, hasta ve epidemiyolojik bağlama ilişkin zengin ve standardize edilmiş tanımlama verisinin ("metadata") genomik verilerle ilişkilendirilmesi, sonuçların doğru yorumlanması ve yanlılığın azaltılması açısından önemlidir.

Mikroorganizmaya özgü yorumlama ve standardizasyon: *Mycobacterium tuberculosis* örneği

Biyoinformatik araçlar ve AD veri tabanlarında da 2017 yılından bu yana belirgin ilerlemeler kaydedilmiştir. Bununla birlikte, kullanılan veri tabanlarının kapsamı, isimlendirme ve genotip–fenotip eşleştirmeleri arasında farklılıklar bulunabilmekte ve aynı genomik veri farklı araçlar kullanıldığında farklı biçimde yorumlanabilmektedir. Bu nedenle mikroorganizmaya özgü yorumlama kriterlerinin geliştirilmesi ve biyoinformatik analiz çıktılarının standardizasyonu güncel raporun temel öncelikleri arasındadır. Bu açıdan en ileri örnek *Mycobacterium tuberculosis*'tir. Dünya Sağlık Örgütü mutasyon kataloğunun geliştirilmesi, belirli mutasyonların dirençle ilişkisine ve kanıt düzeyine yönelik standardize bir yorumlama çerçevesi sağlamıştır. Diğer mikroorganizmalar için de benzer, birleştirilmiş ve bakteriye özgü genotip yorumlama sistemlerinin geliştirilmesi önerilmektedir. Bunun yanında farklı AD genotipleme araçlarından elde edilen çıktıların ortak bir formata dönüştürülmesini sağlayan harmonizasyon yaklaşımlarının geliştirilmesi de önemli bir ilerleme olarak değerlendirilmektedir.

Mycobacterium tuberculosis, 2017 yılından bu yana genotipik testlerin ve TGD-ADÖ'nün en fazla ilerlediği ve rutin tanıda giderek daha fazla kullanıldığı bir bakteri olarak öne çıkmaktadır. Buna karşın, mevcut mutasyon kataloğunun genişletilmesi, yeni direnç mekanizmalarının belirlenmesi ve genotip–fenotip ilişkilerinin yüksek kaliteli referans fenotipik ADT ile doğrulanmasına yönelik gereksinim devam etmektedir. Diğer bakterilerde ise TGD-ADÖ'nün performansı, antibiyotik ve direnç mekanizmasına göre değişmektedir. Bazı patojen-antibiyotik kombinasyonlarında yüksek düzeyde uyum bildirilmiş ve TGD-ADÖ bazı merkezlerde AD sürveyansı amacıyla rutin kullanıma girmiştir. Bununla birlikte, streptokoklarda makrolid ve tetrasiklinler, Enterobacterales'te siprofloksasin ve β -laktamaz inhibitörleriyle kombine β -laktamlar ve *P. aeruginosa*'daki birçok antibiyotik için TGD ile yapılan öngörüler ile minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri arasındaki uyumsuzluklar devam etmektedir.

Yapay zekâ ve makine öğrenmesinin katkıları

Güncel raporun 2017 raporundan belirgin biçimde ayrıldığı diğer bir alan YZ ve MÖ uygulamalarıdır. MÖ modelleri karmaşık genomik veri setlerindeki örüntüleri kullanarak direnç genlerinin, dirençle ilişkili mutasyonların ve fenotipik direnç paternlerinin belirlenmesinde umut verici sonuçlar ortaya koymaktadır. Bazı modeller MİK değerlerini yüksek doğrulukla öngörebilmekle birlikte, mevcut TGD ve hesaplamalı yaklaşımlar henüz gerekli kapsam ve doğrulukta çıkarsanmış bir MİK veya zon çapı sağlayamamaktadır. YZ/MÖ modellerinin performansı, büyük ölçüde eğitim verilerinin kalitesine bağlı olduğundan, modellerin referans fenotipik veriler kullanılarak eğitilmesi ve veri setlerinin hedef popülasyonu ve tüm duyarlılık spektrumunu temsil etmesi gerekmektedir.

Metagenom çalışmalarının durumu

Metagenomik dizilemenin güncel rapora yeni bir bölüm olarak eklenmiş olması da alanın 2017'den bu yana genişlediğini göstermektedir. Doğrudan klinik örneklerden genotip–fenotip ilişkilerinin değerlendirilmesi, kültür basamağını ortadan kaldırarak sonuçlanma süresini kısaltma potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte, özellikle polimikrobiyal örneklerde AD genlerinin hangi bakteriye ait olduğunun belirlenmesi, yetersiz genom kapsamı nedeniyle direnç genlerinin gözden kaçırılması ve insan DNA'sının varlığına bağlı etik ve veri koruma sorunları bu alanın önemli güçlükleri arasındadır. Bu nedenle doğrudan metagenomik veriden antibiyotik duyarlılık öngörüsü henüz rutin klinik kullanıma hazır değildir.

Klinik uygulamada kalite güvencesi ve düzenleyici gereklilikleri

TGD-ADÖ'nün klinik uygulamaya aktarılması açısından kalite güvencesi ve düzenleyici gereklilikler de güncel raporda daha belirgin biçimde ele alınmaktadır. Klinik ortamlarda yöntemin geçerliliğinin doğrulanabilmesi için sağlam dış kalite değerlendirme programları, yeterlilik testleri ve laboratuvarlar arası karşılaştırma çalışmalarının oluşturulması gerekmektedir. Klinik kararlarda kullanılacak iş akışlarının IVDR (AB İn Vitro Tanı Amaçlı Tıbbi Cihazlar Tüzüğü) ve FDA (ABD Gıda ve İlaç Dairesi) gibi düzenleyici gereklilikler ile uluslararası kalite standartlarına uyumlu olması önemlidir. Ayrıca genomik sonuçların klinisyenler tarafından anlaşılabilir ve eyleme dönüştürülebilir biçimde raporlanması gerekmektedir. Halk sağlığı alanında, salgın analizi için ISO akredite TGD iş akışlarının geliştirilmiş olması bu yöndeki ilerlemeyi göstermesine karşın, dizileme teknolojilerinin ve biyoinformatik araçların hızlı biçimde değişmesi standardizasyon ve sürekli validasyon açısından güçlük oluşturmaktadır.

Sonuç ve öneriler

Sonuç olarak, 2017 raporunda ortaya konan güçlüklerin ve önerilerin önemli bir bölümünde kayda değer ilerleme sağlanmıştır. Genotip-fenotip ilişkilerine ilişkin anlayış önemli ölçüde artmış; dizileme teknolojileri, biyoinformatik araçlar, AD veri tabanları, standardizasyon ve harmonizasyon alanlarında belirgin gelişmeler kaydedilmiştir. Özellikle ECOFF'un birincil karşılaştırmacı olarak kullanıldığı ve sokak tipi ile sokak tipi olmayan izolatların ayrımının hedeflendiği TGD-ADÖ uygulamalarına ilişkin kanıtlar güçlenmiştir. Bununla birlikte, *M. tuberculosis* dışında mevcut kanıtlar, çoğu bakteri-antibiyotik kombinasyonunda TGD-ADÖ'nün klinik karar verme sürecinde fenotipik ADT'nin yerini almasını destekleyecek bir paradigma değişikliğini henüz ortaya koymamaktadır. Bundan sonraki süreçte karmaşık direnç mekanizmaları ve yeni antibiyotikler için kanıt tabanının genişletilmesi, sürekli ve entegre fenotipik-genotipik AMD surveyansının yürütülmesi, karşılaştırmalı değerlendirmelerde hem ECOFF hem de klinik sınır değerlerin dikkate alınması, referans yöntemlerle elde edilen yüksek kaliteli MİK ve genomik verilerin kullanılması ve hedef popülasyonu temsil eden suş koleksiyonlarının oluşturulması gerekmektedir. Buna paralel olarak mikroorganizmaya özgü yorumlama çerçevelerinin geliştirilmesi, biyoinformatik araçların ve çıktıların harmonizasyonu, güçlü dış kalite değerlendirme sistemlerinin oluşturulması ve MÖ/YZ modellerinin yüksek kaliteli referans veri setleriyle geliştirilmesi önem taşımaktadır. Son olarak, TGD-ADÖ'nün klinik uygulamalarda yerini alabilmesi için uygulanacağı kuruma/bölgeye özgü maliyet ve süre etkinliğinin değerlendirildiği çalışmaların yapılması önemlidir.

Kaynaklar

1. Samuelsen Ø, López-Causapé C, Aarestrup FM, et al. The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility prediction of bacteria: 2025 update from the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Subcommittee. Clin Microbiol Infect. 2026;32(7S):S1-S34. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2026.05.012>

EUCAST v16.1 ile anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinde neler değişti?



Dr. Öğretim Üyesi Mervenur Demir

İnönü Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

Anaerop bakterilerin antibiyotik duyarlılık testlerinde (ADT) standardizasyon hem yöntemsel güçlükler hem de birçok tür-antibiyotik kombinasyonu için klinik verilerin ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) dağılımlarının sınırlı olması nedeniyle önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Avrupa Antibiyotik Duyarlılık Testleri Komitesi (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) Klinik Sınır Değer Tabloları v16.1 ile anaerop bakterilere ilişkin önemli değişiklikler yapılmış; tablolar yeniden düzenlenmiş, yeni türler için klinik sınır değerler tanımlanmış ve mevcut bazı sınır değerler ile açıklamalar güncellenmiştir.

Anaerop tablolarında yeni yapı ve genel yaklaşım

EUCAST v16.0'da gram negatif ve gram pozitif anaeroplara tek bir tabloda yer alırken, v16.1'de gram negatif ve gram pozitif anaerop bakteriler iki ayrı tabloda ele alınmıştır. Bunun yanı sıra, her iki tablonun başına anaerop bakterilerde klinik sınır değerlerin kullanımına ilişkin genel bir açıklama eklenmiştir. Bu açıklamada, birçok anaerop bakteride MİK değerleri ile klinik sonuç arasındaki ilişkiye ilişkin verilerin sınırlı olduğu ve klinik sınır değerlerin büyük ölçüde MİK dağılımlarına dayandığı belirtilmektedir. Ayrıca anaerop bakteriler için belirlenen sınır değerlerin polimikrobiyal enfeksiyonlarla doğrudan ilişkilendirilmemesi gerektiği vurgulanmaktadır. Polimikrobiyal enfeksiyonlarda her bakterinin klinik öneminin ayrı ayrı değerlendirilmesi; ADT'nin ise anaerop bakterinin klinik açıdan anlamlı kabul edildiği ve test sonucunun tedavi seçimini yönlendirmesinin beklendiği durumlarda uygulanması önerilmektedir.

Gram negatif anaeroplarda *Fusobacterium nucleatum* için yeni sınır değerler

EUCAST v16.0 sürümünde yalnızca *Fusobacterium necrophorum* için sınır değerler bulunurken, v16.1'de *F. nucleatum* da tabloya dahil edilmiş ve bu tür için ilk kez klinik sınır değerler tanımlanmıştır. Ayrıca, *F. necrophorum* için mevcut bazı sınır değerler yenilenmiştir. Benzilpenisilin MİK sınır değeri 0,125 mg/L'den 0,25 mg/L'ye, piperasilin-tazobaktam MİK sınır değeri 0,5 mg/L'den 0,125 mg/L'ye ve disk difüzyon sınır değeri 32 mm'den 35 mm'ye değiştirilmiştir. Meropenem MİK sınır değeri 0,03 mg/L'den 0,06 mg/L'ye, metronidazol MİK sınır değeri ise 0,5 mg/L'den 16 mg/L'ye yükseltilmiştir.

Gram pozitif anaeroplarda önemli kapsam genişlemesi

EUCAST v16.1'deki en kapsamlı değişikliklerden biri gram pozitif anaerop bakterilerde görülmektedir. Önceki sürümde klinik sınır değerleri bulunan gram pozitif anaeroplara sayısı oldukça sınırlıyken, v16.1 ile dokuz yeni tür veya cins için ayrı tablolar oluşturulmuştur; *Clostridium innocuum*, *Clostridium ramosum*, *Clostridium septicum*, *Clostridium tertium*, *Cutibacterium avidum*, *Fingoldia spp.*, *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcus anaerobius* ve *Peptoniphilus spp.* Böylece klinik örneklerden izole edilebilen ve özellikle

invaziv enfeksiyonlarda etken olabilen çeşitli gram pozitif anaeroplara duyarlılık sonuçlarının standart bir yaklaşımla değerlendirilmesine olanak sağlanmıştır.

Önceki sürümlerde de klinik sınır değerleri bulunan *Cutibacterium acnes* için v16.1'de çeşitli değişiklikler yapılmıştır. Benzilpenisilin için MİK sınır değeri 0,06 mg/L'den 0,125 mg/L'ye, seftriakson için 0,06 mg/L'den 0,25 mg/L'ye ve meropenem için 0,125 mg/L'den 0,25 mg/L'ye değiştirilmiştir. Sefotaksim, seftriakson ve imipenem için MİK değerlendirmesinde sayısal sınır değerler yerine açıklamalara dayalı bir yaklaşım benimsenmiştir. Seftriakson duyarlılığının sefotaksim disk difüzyon sonucundan çıkarılabileceğini belirten bir açıklama eklenmiştir. İmipenem için ise v16.0'da bulunan MİK sınır değerleri kaldırılmış ve duyarlılığın benzilpenisilin duyarlılığı temelinde yorumlanabileceği belirtilmiştir. Disk difüzyon sınır değerleri her üç antibiyotik için de değişmemiştir. Ayrıca beta-laktam direncinin *C. acnes*'te ender olduğu vurgulanmış ve beta-laktam direnci saptanması durumunda tür tanımlamasının ve antibiyotik duyarlılık testi sonucunun doğrulanması önerilmiştir.

Metronidazol sonuçlarında dikkat edilmesi gerekenler

Metronidazol sonuçlarının değerlendirilmesine yönelik yeni açıklamalar *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *F. necrophorum*/*F. nucleatum*, *Clostridium perfringens* ve *Clostridioides difficile* tablolarına eklenmiştir. Bu açıklamalarda metronidazol direncinin ender olduğu ve yetersiz anaerobik koşulların yalancı dirençli sonuçlara yol açabileceği belirtilmektedir. Beklenmeyen direnç saptanması durumunda tür tanımlamasının ve antibiyotik duyarlılık testi sonucunun doğrulanması önerilmektedir.

Sonuç olarak EUCAST v16.1 ile anaerop bakteriler için klinik sınır değerlerin kapsamı genişletilmiş, gram negatif ve gram pozitif anaeroplara ayrı tablolar halinde yeniden düzenlenmiş ve günlük laboratuvar uygulamasını doğrudan etkileyebilecek yeni açıklamalar eklenmiştir. Anaerop bakterilerle çalışan klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının v16.1'de yeni eklenen türleri, değişen sayısal sınır değerleri ve sonuçların hangi koşullarda yorumlanması gerektiğine ilişkin açıklamaları dikkate almaları önemlidir.

Kaynaklar

1. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 16.1, 2026. <https://www.eucast.org>

Bir olgumuz var: Yeni bir üropatojen



Prof. Dr. Zeynep Gülay

Başkent Üniversitesi İzmir Zübeyde Hanım Araştırma ve Uygulama Hastanesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

Olgu

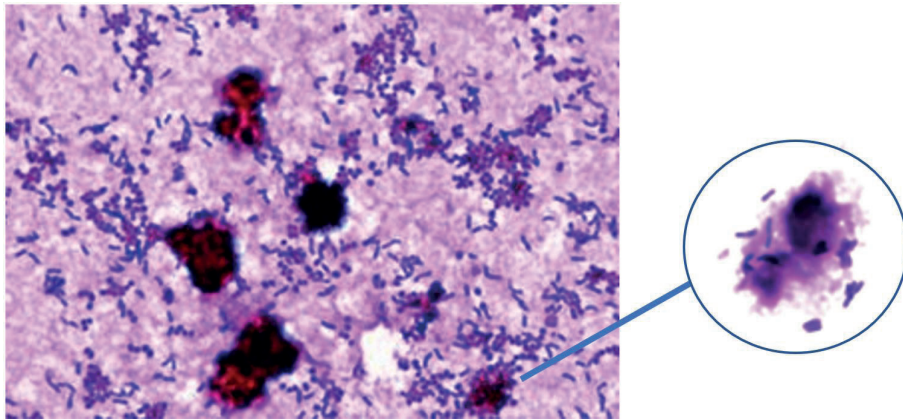
82 yaşındaki erkek hasta, üç gündür devam eden ateş, idrar yaparken zorlanma ve yanma yakınmalarıyla üçüncü basamak bir sağlık kuruluşuna başvurdu. Hastaya 2 gün önce başvurduğu aile hekimi tarafından, ampirik olarak oral siprofloksasin başlanmıştı.

Hastaneye kabulünde genel durumu bozuk ve ateşi yüksekti (38.5 °C). Abdominal muayenede sol yan bölgede hassasiyet saptandı. Nabız hızı 104 atım/dakika, kan basıncı 100/70 mmHg idi. Klinik muayenenin geri kalanında özellik saptanmadı. Hızlı Ardışık Organ Yetmezliği Değerlendirme (Quick Sequential Organ Failure Assessment, qSOFA) skoru 1 olarak hesaplanan hasta ürosepsis şüphesi ile ileri izlem ve tedavi amacıyla yatırıldı.

Kan ve idrar kültürleri alındıktan sonra, hastaya ampirik olarak intravenöz (IV) piperasilin-tazobaktam tedavisi başlandı. Başvuru sırasında C-reaktif protein (CRP) düzeyi 231 mg/L idi. Tam kan sayımında lökosit sayısı 23,1 hücre/ μ L ve nötrofil sayısı 19,3 hücre/ μ L olup nötrofilik lökositoz mevcuttu. Prokalsitonin (PCT) 6 ng/ml idi.

Laboratuvara gelen idrar örneği bulanıktı. Tam idrar tahlilinde (TİT), lökosit (++++), eritrosit (+) ve orta derecede bakteri saptandı. Ancak idrarda nitrit negatifti.

Gram boyalı mikroskopide her sahada >20 polimorfonüveli lökosit (PNL), lökosit kümeleri hücre içi ve dışında gram pozitif boyanmış difteroid dizilimli basiller görüldü (Şekil 1). İdrar kültürü için bölünmüş kanlı ve EMB agar besiyerine ekim yapıldı.



Şekil 1. İdrar örneğinin Gram boyalı incelemesi (x1000).

İdrar kültüründe 24 saatte üreme saptanmadı. Bununla birlikte, örnekten yapılan preparatta çok sayıda bakteri görülmüş olduğu için, inkübasyon sürdürüldü.

Soru 1. Gram boyalı preparatta çok sayıda gram pozitif difteroid dizimli basil görölmesine karşın üreme olmaması nelere bağlı olabilir?

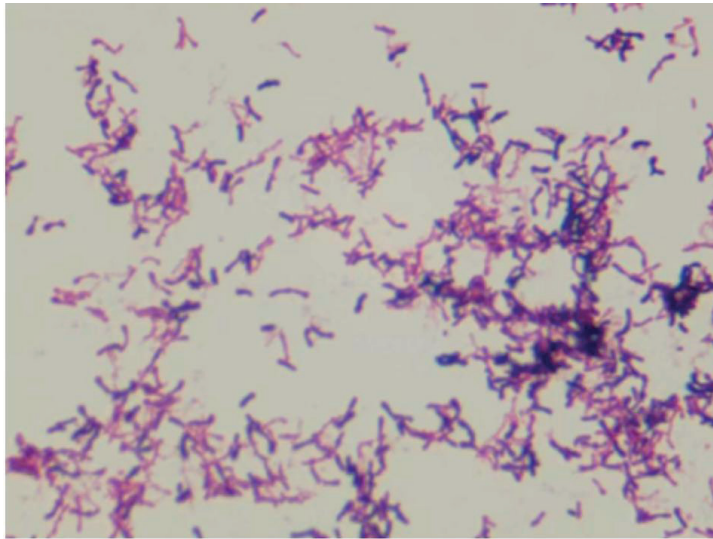
İdrar plağında 48. saatte de üreme saptanmadı. Hastanın CRP değeri 127 mg/L'ye, nötrofil sayısı 15.1 hücre/ μ L'ye gerilemesine karşın hastada dizüri ve sık idrar yapma yakınmaları sürdüğü için, tekrar idrar kültürü gönderildi. Yeni idrar incelemesinde de her sahada 8-10 PNL ve bazı sahalarda hafif kıvrık gram pozitif kokobasiller görüldü. Antibiyotik baskısı altında üremeyi kolaylaştırmak amacıyla, idrardan Columbia kanlı agara da ekim yapıldı.

Hastanın yatışının 2.gününde, anaerop kan kültürü şişesinde üreme sinyali alındı ve Gram boyamada gram pozitif basiller görüldü. Kanlı agar, çikolata agar ve Schaedler besiyerine pasaj yapılarak uygun koşullarda inkübasyona kaldırıldı. Gram boyalı preparatlarında gram pozitif hafif kıvrık difteroid basiller gören nöbetçi tekniker Mueller Hinton Agara (MHA) hızlı antibiyotik duyarlılık testi yaptı.

Yirmidördüncü saatte kan kültüründen yapılan pasajlarda ve MHA plaklarında üreme yoktu. 48. saatte ise sadece çikolata agar ve Schaedler agarda silik üreme saptandı (Şekil 2). Kolonilerden hazırlanan Gram boyalı preparatta gram pozitif hafif kıvrık basil ve kokobasiller görüldü (Şekil 3). Disk difüzyon testi Mueller Hinton Fastidious (MH-F) besiyerinde tekrarlandı. Üzerinden 72 saat geçmesine karşın bakterinin kapnofilik yapıda olabileceği düşünülerek idrar ekimi yapılmış plaklar da %5 CO₂ ortama kaldırıldı.



Şekil 2. Mumlu kavanozdaki plaklarda koloni görünümüleri.



Şekil 3. Kolonilerden yapılan Gram boyalı preparatta kıvrık gram pozitif/gram labil basiller.

Kan kültür plaklarındaki üremeler MALDI-TOF MS ile değerlendirilmek üzere yakındaki bir merkeze gönderildi.

Soru 2. Gram preparatındaki görünüm ve üreme özellikleri size hangi bakteriyi düşündürür? Laboratuvarınızda böyle bir bakteri ile karşılaştınız mı?

MALDI-TOF-MS analizi (Bruker, ABD) sonucunda izolat *Actinotignum schaalii* olarak tanımlandı.

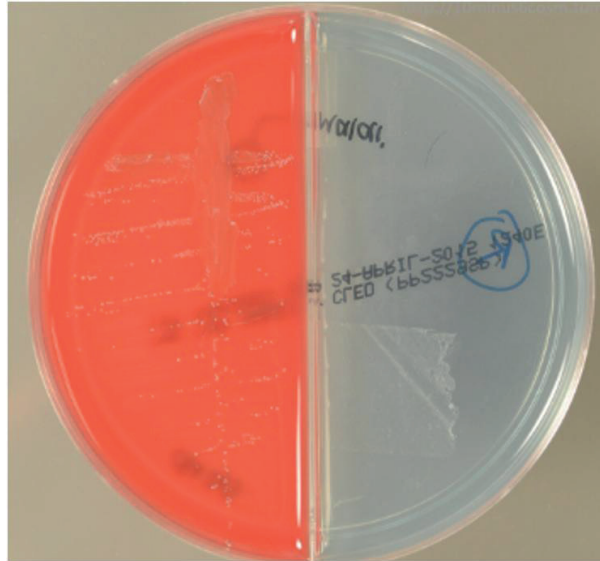
Tablo 1. MH-F besiyerindeki disk difüzyon ve gradiyent şerit yöntemiyle elde edilen duyarlılık sonuçları.

	Zon çapı (mm)	Duyarlılık*
Penisilin	30	I
Trimetoprim/ sulfametoksazol	6	R
Klindamisin	10	R
Siprofloksasin	6	R
Linezolid	30	S
Vankomisin (gradiyent şerit)	0.125	S

* *Corynebacterium spp.*ye göre

Soru 3. Yapılan antibiyotik duyarlılık testi doğru mu? Bu konuda nasıl bir yol izlenmesi gerekir?

Laboratuvarda CO₂'li ortamda bekletilen idrar kültür plaklarında da Gram boyalı preparatlarında gram pozitif kıvrık basillerin görüldüğü benzer bir üreme saptandı.



Böylelikle hastanın tanısı ***Actinotignum schaalii***'ye bağlı ürosepsis olarak kesinleşti.

Tıbbi Mikrobiyoloji uzmanı antibiyotik duyarlılıkları için ellerindeki olanaklar ile MH-F agarda gradiyent şerit yöntemi ile antibiyogram uyguladı. Alınan sonuçlar Tablo 2'de gösterilmektedir.

Soru 4. *Actinotignum schaalii* nasıl bir bakteridir? Enfeksiyon etkeni olabilir mi?

Soru 5. EUCAST Klinik Sınır Değeri Bulunmayan bakteriler için nasıl bir yol izlenmesini önermektedir?

Soru 6. *Actinotignum schaalii* ECOFF tablolarında bulunuyor mu?

Soru 7. Hastaya uygulanan piperasilin-tazobaktam için MİK bakılamamıştır. Bu durumda klinisyene nasıl bir öneride bulunmak gerekir?

Tablo 2. Gradyent şerit ile elde edilen sonuçlar ve EUCAST "Sınır Değerler Bulunmadığında Rehberi "Aşıldığında tedavinin önerilmemesi gereken MİK eşikleri (mg/L)" Tablosundaki Değerlerin karşılaştırılması.

Antibiyotik	Gradyent şerit (mg/L)	EUCAST*
Penisilin	0.016	0.25
Ampisilin	0.064	0.5
Amoksisilin-klavulanik asit	0.047	0.5
Meropenem	0.016	2
Klindamisin	>256	0.5
Eritromisin	>256	-
Vankomisin	0.125	2
Tigesiklin	0.023	0.5
Rifampisin	0.002	0.125
Tetrasiklin	0.38	2

*EUCAST, When there are no breakpoints in breakpoint tables?

Soru 8. Bu sonuçlarla kan kültüründe nasıl bir rapor çıkarılmalıdır?

Hastanın prognozu

Hastaya beş gün süreyle IV piperasilin-tazobaktam uygulandı. Klinik düzelme ve CRP düzeyinin 34 mg/L'ye gerilemesi üzerine piperasilin-tazobaktam kesildi ve hasta 14 gün süreyle 12 saatte bir 1000 mg oral amoksisilin-klavulanik asit tedavisi verilerek taburcu edildi.

Soru 9. *Actinotignum schaalii* son yıllarda başta yaşlı hastalardaki üriner sistem enfeksiyonları olmak üzere, birçok farklı bazısı invazif enfeksiyonlarda etken olarak saptanmaktadır. Üreme özelliklerini de düşündüğümüzde bu bakteriye bağlı üriner sistem enfeksiyonlarının atlanmaması için neler yapılabilir?

SONSÖZ

Actinotignum schaalii (eski adıyla *Actinobaculum schaalii*), özellikle yaşlı bireylerde üriner sistem enfeksiyonu etkeni olarak giderek daha fazla tanımlanan bir mikroorganizmadır. Yaşlı hastaların yanı sıra küçük çocuklarda ve üriner sistemde yapısal anomaliler, üriner sistem taşları, prostat hiperplazisi veya malignite gibi altta yatan patolojileri bulunan bireylerde de enfeksiyona neden olabilmektedir. Son yıllarda gerçekleştirilen tüm genom dizileme çalışmaları, bakterinin üroepitelyal hücrelere tutunmasını kolaylaştırabileceği düşünülen adezyon piluslarını kodlayan genlere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Başlıca üriner sistem enfeksiyonlarıyla ilişkilendirilmekle birlikte, *A. schaalii* etkenli bakteriyemi, endokardit, Fournier gangreni, osteomyelit, selülit ve diskit olguları da bildirilmiştir.

Actinotignum schaalii'nin laboratuvarında tanımlanması

İnce, gram pozitif, genellikle kıvrık görünümde basil; fakültatif anaerop ve kapnofiliktir (yani %5 CO₂ üremesini kolaylaştırır). Kanlı agarda 48 saatten sonra hemolizsiz, hafif alfa hemolitik koloniler yapar. Katalaz, oksidaz ve CAMP testi negatiftir. Nitratı indirgemediği için, hızlı şerit yöntemleriyle idrarda nitrit tayini negatiftir. Ticari tanımlama yöntemleri ile *Gardnerella*, *Arcanobacterium* veya *Actinomyces* olarak tanımlanabilir. En güvenilir tanımlama yöntemleri MALDI-TOF-MS ve 16 S rRNA dizi analizidir.

Üriner sistem enfeksiyonu düşünülen hastalarda rutin olarak kültür işlemleri normal atmosferde kanlı/ EMB bölünmüş agarda yapılmakta ve 24 saatte sonuç çıkmaktadır. *Actinotignum schaalii* ise kapnofilik, fakültatif anaerop ve uzun süreli inkübasyon sonucunda (genellikle 48 saat ve üstü) üreyebilen bir bakteridir. Bununla birlikte idrar örneğinin Gram boyaması *A. schaalii* açısından önemli bir ipucu sağlayabilir. Bu olguda da, idrarın Gram boyamasında “difteroid basil görünümünde gram pozitif bakteriler” olarak saptanmış ancak normal atmosferde yaklaşık 36 saatte üretilmemiştir. Kan kültür şişelerinde üreyen etkenin, sadece CO₂’li ortamda inkübe edilen plaklarda üretilebildiği fark edilince, hastadan ikinci kez gönderilen idrar örneğinin kültür plakları da CO₂’li ortama kaldırılmış ve üreme saptanmıştır.

Bu olgunun klinik mikrobiyoloji açısından özellikle önemli noktaları:

- Rutin idrar kültürünün negatif olmasına karşın kan kültüründe *A. schaalii* saptanması;
- Gram boyalı inceleme yapılmasa “steril piyüri” düşünülüp bu etkenin gözden kaçabilmesi;
- Siprofloksasin ve trimetoprim-sulfametoksazol gibi sık kullanılan ampirik antibiyotiklere direnç olasılığı;
- Özellikle yaşlı hastalardaki üriner sistem enfeksiyonlarının veya genç hastalarda yapısal üriner sistem anomalilerinin önemli bir ipucu olması ve
- MALDI-TOF-MS’in tanıdaki değeridir.
- Ayrıca bu bakteriye özgü EUCAST/CLSI klinik sınır değerlerinin bulunmaması, antibiyotik duyarlılık testleri açısından olguyu önemli hale getirmektedir.

Bir olgu sorularının yanıtları

(Yanıtlar yazarımızın kişisel düşüncelerini kapsamakta ve editörlerimiz tarafından incelenmektedir. Okuyucularımızın farklı önerilerini yazmaları içeriği zenginleştirecektir)

Soru 1. Gram boyalı preparatta çok sayıda gram pozitif difteroid dizilimli basil görülmesine rağmen üreme olmaması nelere bağlı olabilir?

Yanıt: Hastada antibiyotik tedavisi nedeniyle bakterilerin canlılığını yitirmiş olması, rutin idrar kültürü şartlarında üreyemeyen bir türün etken olması, öncelikle akla gelenler olacaktır. Hastanın yaşı, ürosepsis bulgularının olması da görülen bakterinin kontaminant değil etken olma olasılığını arttırmaktadır.

Soru 2. Gram preparatındaki görünüm ve üreme özellikleri size hangi bakteriyi düşündürür? Laboratuvarınızda böyle bir bakteri ile karşılaştınız mı?

Yanıt: Difteroidlere benzer olmakla birlikte geç üremesi, öncelikle anaerop şişede üremesi, Gram boyalı preparatlarda daha ince ve kıvrık olması nedeniyle farklı bir tür olabileceği düşünülebilir.

Soru 3. Yapılan antibiyotik duyarlılık testi doğru mu? Bu konuda nasıl bir yol izlenmesi gerekir?

Yanıt: *Corynebacterium spp* olarak düşünüldüğünde yapılan yanlış değildir (MH-F’ de disk difüzyon). Ancak MALDI-TOF-MS ile tür tanımı çıkmasından itibaren EUCAST sayfasından ulaşılan ve son versiyonu Temmuz 2026’da güncellenmiş bulunan **“EUCAST Guidance document on When there are no breakpoints” dokümanı izlenmelidir.**

Tür tanımı sonrasında literatür taranması ve klinisyenin Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji uzmanı konsültasyonuna yönlendirilmesi gerekir

Soru 4: *Actinotignum schaalii* nasıl bir bakteridir? Enfeksiyon etkeni olabilir mi?

Yanıt: *Actinotignum* (eski adı *Actinobaculum*) *schaalii* önceleri genitoüriner sistem ile ilişkili kommensal bir bakteri olarak kabul edilmekteydi. Günümüzde *A. schaalii*, özellikle yaşlı bireylerde görülen, önemi giderek artan bir üriner sistem patojeni olarak kabul edilmektedir. Ayrıca özellikle küçük çocuklarda ve üriner sistemde yapısal veya taş, prostat hiperplazisi, kanser gibi kazanılmış patolojileri olan bireylerde de etken olabilmektedir. Son yıllarda mikroorganizmanın tüm genomunun dizilenmesi sonucunda, üroepitelyal kolonizasyonu kolaylaştırabilecek adezyon piluslarını kodlayan genlerin bulunduğu gösterilmiştir. *A. schalii*, en sık üriner sistem enfeksiyonlarına yol açmakla birlikte bakteriyemi, endokardit, Fournier gangreni, osteomyelit, selülit, diskrit tablolarından da bildirilmiştir.

Soru 5. EUCAST Klinik Sınır Değeri Bulunmayan bakteriler için nasıl bir yol izlenmesini önermektedir?

Yanıt:

1. MİK bakılması
2. ECOFF/TECOFF tabloları ile MİK sonuçlarının karşılaştırılması
3. ECOFF tablolarında bulunmayan etkenler için "Aşılması halinde antibiyotiğin tedavide kullanılmasından kaçınılması gereken MİK değerleri Tablosu" ile karşılaştırma yapılması
4. Rapor çıkarılması (9. Soru yanıtında yazılmıştır) **Rapor aşamasında en önemli uyarı: Duyarlılık kategorisi bildirmekten kaçınılması gerekliliğidir.**

Soru 6. *Actinotignum schaalii* ECOFF tablolarında bulunuyor mu?

Yanıt: Hayır

Soru 7. Hastaya uygulanan piperasilin-tazobaktam için MİK bakılamamıştır. Bu durumda klinisyene nasıl bir öneride bulunmak gerekir?

Yanıt: Bu soru ile ilgili olarak 8. Soru yanıtlarını da okuyunuz.

***Actinotignum schaalii* enfeksiyonlarının tedavisine kısaca değinirsek:**

EUCAST'ta, *A. schaalii* için mikroorganizmaya özgü antibiyotik duyarlılık sınır değerlerinin bulunmaması, antibiyotik duyarlılık sonuçlarının yorumlanmasını ve uygun tedavinin belirlenmesini güçleştirmektedir. Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında saptandığında tedavi için önerilen antibiyotikler için MİK değerlerinin belirlenmesi ardından Temmuz 2026'da güncellenen EUCAST "Sınır Değerler Olmadığında" rehberinin ("Guidance document on When there are on breakpoints") izlenmesi gerekir.

Literatürdeki olgular ve olgu serilerinde; *Actinotignum schaalii*'nin mesillinam hariç tüm beta-laktamlara, doksisisikline, vankomisin ve teikoplanine, linezolid ve nitrofurantoin duyarlı olduğu bildirilmektedir. Buna karşın *A. schaalii* trimetoprim-sulfametoksazole ve sıklıkla siprofloksasin gibi 3. kuşak florokinolonlara dirençlidir. Fosfomisin, makrolidler ve klindamisin için değişken sonuçlar bildirilmektedir.

Türün beta-laktam duyarlılığı (penisilin ve ampisilin dahil) piperasilin-tazobaktama da duyarlı olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim tedavi sonucu başarılı olmuştur.

Soru 8. Bu sonuçlarla kan kültüründe nasıl bir duyarlılık raporu çıkarılmalıdır?

Yanıt:

Hastanın kan kültürlerinde *Actinotignum schaalii* üredi.

Antibiyogram raporu için iki yol izlenebilir:

Bunlardan ilki

- 1) Raporda MİK >256 olanlar için doğrudan "R" yazılabilir. (Buradaki sonuçlar literatürle de uyumludur)
- 2) Penisilin, ampisilin, amoksisilin klavulanat, tetrasiklin MİK değerleri verilip Duyarlılık kategorisi verilmeden,
 - "Bu bakteri standart antibiyotik duyarlılık rehberlerinde yer almadığı için duyarlılık kategorisi verilememektedir. MİK değerlerine göre sıralanan antibiyotikler tedavi için düşünülebilir."
 - Hastaya uygulanmakta olan piperasilin-tazobaktam için MİK değeri bakılamamıştır. Literatürde *A. schaalii*'nin mesillinam dışında beta-laktam antibiyotiklere duyarlı olduğu bildirilmektedir.
 - Başka bir duyarlılık sonucu istenmesi halinde laboratuvarı arayınız

Buradaki sorun MİK bakılması için EUCAST rehberindeki ISO sıvı dilüsyon yönteminin değil de gradiyent şerit uygulanmasıdır. Rehber bunun yapılmamasını yani başka bir yöntem kullanılmamasını yazmaktadır.

İkinci yol ise;

Bakterinin standart antibiyotik duyarlılık rehberlerinde yer almaması nedeniyle duyarlılık raporu verilemeyeceği bilgisinin yazılmasıdır. Ancak, literatür taranması ve Enfeksiyon Hastalıkları konsültasyonu yapılması önerilebilir.

Soru 9: *Actinotignum schaalii* son yıllarda başta yaşlı hastalardaki üriner sistem enfeksiyonları olmak üzere, birçok farklı bazısı invazif enfeksiyonlarda etken olarak saptanmaktadır. Üreme özelliklerini de düşündüğümüzde bu bakteriye bağlı üriner sistem enfeksiyonlarının atlanmaması için neler yapılabilir?

Actinotignum schaalii, özellikle yapısal veya fonksiyonel üriner sistem anomalisi bulunan hastalar ve yaşlı hastalardaki kronik üriner sistem şikayetleri ve üriner sistem enfeksiyonlarında etken olarak düşünülmelidir. *Actinotignum schaalii*'nin saptanması güçtür; çünkü bakterinin üreme gereksinimleri rutin idrar kültürü koşullarından farklıdır.

İdrar örneğinin Gram boyalı incelemesinde, gram pozitif basillerin görülmesi, *A. schaalii* açısından uyarıcı olabilir. Böyle bir durumda, etkenin izolasyonu amacıyla, Columbia kanlı agar ekim yapılarak karbondioksitli ortamda 48 saat inkübe edilmesi gerekir.

Bu olgudaki gibi çok sayıda PNL ile birlikte gram pozitif hafif kıvrık difteroid morfolojisinde bakteriler görülüp 24 saatte üreme olmazsa plakların inkübasyonuna karbondioksitli ortamda devam etmek de denenebilir.

Mikroorganizmanın tür düzeyinde doğru tanımlanmasında MALDI-TOF-MS ve moleküler tanı platformları gibi yeni tanısal yöntemler önem taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Kouri TT, Hofmann W, Falbo R et al. The EFLM European Urinalysis Guideline 2023. Clin Chem Lab Med. 2024;62(9):1653-1786. <https://doi.org/10.1515/cclm-2024-0070>
2. Sahuquillo-Arce JM, Suárez-Urquiza P, et al. Actinotignum schaalii infection: Challenges in diagnosis and treatment. Heliyon. 2024;10(7):e28589. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28589>
3. Rallet B, Morgant MC, Lelercq T, et al. Subacute prosthetic aortic endocarditis caused by Actinotignum schaalii: a rare but destructive pathogen - case report and literature review. BMC Infect Dis. 2025;25(1):1759. <https://doi.org/10.1186/s12879-025-12142-4>

Güncel yayınlar



Prof. Dr. Zeynep Gülay

Başkent Üniversitesi İzmir Zübeyde Hanım Araştırma ve Uygulama Hastanesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

Çevresel faktörler β -laktamaz fenotiplerini değiştiriyor mu? pH ve yükseltgenme-indirgenme potansiyelinin β -laktam direncine etkileri

Environmental factors modulate β -lactamase phenotypes: effect of pH and redox potential on β -lactam resistance.
Anbo M, Jensen JD, Ivanova M, et al.
Microbiol Spectr. 2026; Aug 4;14(8):e0145326. doi: 10.1128/spectrum.01453-26.

Bu çalışmada, çevresel faktörlerin, β -laktamazların β -laktam direncindeki etkilerini incelemek amacıyla, 16 farklı β -laktamaz üreten *Escherichia coli* suşundan oluşan bir panel oluşturulmuş ve 10 farklı β -laktam antibiyotiğin MİK değerleri, hem aerob koşullarda farklı pH değerlerinde hem de anaerob koşullarda belirlenmiştir.

pH'nın minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri üzerindeki etkisinin, kullanılan β -laktam antibiyotiğe ve β -laktamaz tipine bağlı olarak farklılık gösterdiği saptanmıştır. Anaerob koşullar genel olarak, MİK değerlerinde artışa yol açmış; ancak bu etkinin derecesi ve yönünün özgül β -laktamaz geni ile β -laktam antibiyotiğin kombinasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmüştür.

Bu çalışma, antibiyotik duyarlılık testlerinin standart koşullarda yapılması ile bakterinin gerçek enfeksiyon ortamındaki davranışı arasındaki farkı ortaya koyması açısından önem taşımaktadır. Laboratuvarda MİK belirlenirken pH, oksijen varlığı/yükseltgenme-indirgenme potansiyeli ve besiyeri içeriği gibi parametreler büyük ölçüde standardize edilmektedir. İn vivo ortamda ise, bakteriler farklı doku (sağlıklı doku, apseler, nekrotik dokular) ve organlarda (ör. üriner sistem, akciğerler, GİS) ayrıca biyofilm içeren yüzeylerde tamamen farklı pH ve oksidasyon-redüksiyon koşullarına maruz kalmaktadır.

Yazarlar, bir β -laktamazın, farklı çevresel koşullarda aynı β -laktama karşı aynı direnç fenotipini oluşturamayabileceğini vurgulamaktadır. Dolayısıyla, β -laktamaz aracılı direnç, her zaman yalnızca "hangi direnç geninin bulunduğu" ile açıklanamamaktadır. Genin bulunduğu mikroçevre de ortaya çıkan direnç fenotipini değiştirebilmektedir.

Çalışma sonuçları, standart dilüsyon testleri ile elde edilen MİK değerlerinin klinik tedavi açısından kısıtlılıklarını da ortaya koymakta, ayrıca antimikrobiyal direnç gelişimi açısından **ekolojik etkileşimlerin önemini** de hatırlatmaktadır.

Doğal fenolik asitlerin antibakteriyel ve antibiyofilm etkileri: Yapı-fonksiyon ilişkileri, hücre-dışı pH ve morfolojik değişimlerin incelenmesi

Antibacterial and antibiofilm effects of natural phenolic acids: Insights into structure-function relationships, extracellular pH, and morphological changes.

Bârzdîna A, Teterovska R, Prudnikova DP, et al. Microbiol Spectr. 2026 Aug 4;14(8):e0133626. doi: 10.1128/spectrum.01336-26.

Yara enfeksiyonları, tedaviyi güçleştiren biyofilmlerin varlığı ve antibakteriyel direncin giderek artması nedeniyle önemli bir sağlık sorunudur. Doğal fenolik asitlerin topikal antibiyotik olarak kullanılma potansiyeli ise halen yeterince araştırılmamıştır.

Doğal fenolik asitler, bitkisel polifenollerin doğada en yaygın bulunan gruplarından biri olup başlıca meyve kabuklarında, çeşitli tahıllarda ve sebze yapraklarında yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Fenolik asitlerin, özellikle güçlü antioksidan aktiviteleri bulunduğu bilinmektedir. Çalışmalar, bu bileşiklerin antioksidan özelliklerinin kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve metabolik bozukluklar gibi oksidatif stresle ilişkili hastalıkların önlenmesi ve kontrolünde önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Buna karşın, fenolik asitlerin antimikrobiyal aktiviteleri antioksidan özelliklerine kıyasla daha sınırlı düzeyde araştırılmıştır. Özellikle antibiyofilm aktivitelerine ilişkin eldeki veriler oldukça sınırlı ve heterojendir. Bu durum, fenolik asitlerin biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisindeki potansiyelinin daha kapsamlı olarak araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Bu çalışmada;

- 5 hidroksisinnamik asit bileşikleri (kafeik asit, klorojenik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve rosmarinik asit),
- 4 hidroksibenzoik asit bileşikleri (gallik asit, salisilik asit, sirinjik asit ve vanilik asit),
- Tannik asit ve kuinik asit

olmak üzere toplam 11 bileşiğin, 10 bakteri suşuna (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella quasipneumoniae* ATCC 700603, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Proteus mirabilis* ATCC 43071) karşı antibakteriyel ve antibiyofilm aktiviteleri araştırılmıştır.

Çalışmaya alınan fenolik asitlerin bakterisidal aktivite gösterdiği ve MİK değerlerinin 0,625–10,0 mg/mL arasında değiştiği belirlenmiştir. Molekölün polaritesi arttıkça antibakteriyel etkinliğin azaldığı gözlenmiştir.

Fenolik asitlerin minimum bakterisidal konsantrasyonda (MBK) ortama eklenmesinin, bakteriyel metabolizmayı baskılayarak hücre dışı pH'nın yükselmesini engellediği gösterilmiştir. Bakteriyel metabolizma sonucu oluşan alkali koşullarda ve MİK değerlerinden düşük düzeylerde eklenmiş kafeik, klorojenik, rosmarinik ve gallik asitlerin, kahverengi veya yeşil renge dönüştüğü gözlenmiştir.

Kafeik ve klorojenik asitler, planktonik *P. aeruginosa* hücrelerinin uzamasına (filamentasyona) yol açmaktadır.

Çalışmada kullanılan fenolik bileşikler, biyofilm biyokütlesini %10–90 oranında azaltmış ve gram pozitif biyofilmlerin bu bileşiklere daha duyarlı olduğu görülmüştür. Fenolik asitlerle karşılaşma sonrasında, "Scanning" elektron mikroskopisi (SEM) ile incelendiğinde, biyofilme ait hücre dışı matriks polimerlerinde (EPS) belirgin ölçüde azalma ve hücre yapısında hasar olduğu saptanmıştır.

İncelenen bileşikler arasında p-kumarik asit ve salisilik asit, yara yeri enfeksiyonlarında sık görülen bakterilere etkinlik açısından, en umut verici adaylar olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmanın yalnızca klasik MİK/MBK değerlerine odaklanmaması ve, antibakteriyel etki ile biyofilm inhibisyonu, bakteriyel metabolizma, hücre dışı pH, hücrel morfoloji ilişkilerini birlikte değerlendirmesi, güçlü yanlarıdır.

Yara enfeksiyonları açısından biyofilm oluşumu, antibiyotiklerin etkinliğini ciddi biçimde sınırlayan önemli bir mekanizmadır. Dolayısıyla fenolik bileşiklerin hem bakteriyel üremeyi hem de biyofilmi etkileyebilmesi, topikal yara tedavileri ve antibiyotiklerle kombinasyon tedavileri açısından araştırmaya değer bir alandır.

Ancak, yazarların da vurguladığı gibi, çalışmanın klinikte uygulanabilirliği ile ilgili kısıtlılıklar bulunmaktadır. Çalışmada bildirilen 0,625–10 mg/mL MİK değerleri, klinik yara tedavisinde kullanılabileceğini göstermemektedir. Bunun için; farmakokinetik özellikler, doku penetrasyonu, toksisite, stabilite ve gerçek yara ortamındaki etkinlik ayrıca gösterilmelidir.

Makalenin Önemi

Yeni antibiyotiklerin araştırılması, günümüzde sağlık alanındaki en önemli önceliklerden biridir. Fenolik asitler, özellikle yara bakımı ve tedavisine yönelik uygulamalarda hem tek başlarına hem de çeşitli ilaç taşıma sistemlerinin ("drug delivery systems") bileşenleri olarak giderek daha fazla araştırılmaktadır. Bununla birlikte, bugüne kadar bu bileşiklerin antibakteriyel etkilerine ilişkin literatürün büyük ölçüde güncelliğini yitirmiş olduğu, ayrıca bazı çalışmalarda alınan sonuçların tekrarlanabilirliğinin sınırlı olduğu, görülmektedir.

Bu çalışmada, fenolik asitlerin fizikokimyasal özellikleri ve moleküler yapıları ile antibakteriyel ve antibiyofilm potansiyelleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ayrıca fenolik asitlerin, bakteriyel metabolik aktivite sonucunda meydana gelen ekstraselüler pH değişiklikleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. SEM kullanılarak fenolik asit uygulaması sonrasında hem planktonik bakterilerde hem de biyofilm yapılarında meydana gelen morfolojik değişiklikler belirlenmiştir.

Bunlara ek olarak, bileşiklerin potansiyel topikal uygulamaları açısından ADMET (absorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım ve toksisite) özellikleri de değerlendirilmiştir.

Çalışmadan elde edilen veriler; fenolik asitlerin antibiyotiklerle olası sinerjistik etkilerinin araştırılması, yeni ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesi ve bu bileşiklerin çoklu ilaca dirençli (ÇİD) bakterilere karşı etkinliklerinin değerlendirilmesi için gelecekte gerçekleştirilecek çalışmalara temel oluşturabilecek niteliktedir.

Metabolomik Çalışmalar: Antimikrobiyal Direnç ve Bakteri Metabolizmasının Yeniden Programlanması...

Metabolic adaptations in antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*: understanding resistance mechanisms and enhancing antibiotic efficacy.

Pan Z, Zhang W, Cao ZY, Cai L, Su Y, Fei J.

Microbiol Spectr. 2026; 4;14(8):e0002026. doi: 10.1128/spectrum.00020-26. Epub 2026 Jun 29.

Yüksek kapasiteli metabolomik* teknolojilerindeki son gelişmeler, bakterilerde antibiyotik direncinin metabolik temelini araştırılması için güçlü bir platform sağlamıştır.

*Metabolomik, bir hücre, doku veya organizmada metabolizma sonucu oluşan küçük moleküllü tüm kimyasal ürünlerin (metabolitlerin) sistematik olarak incelenmesi ve analiz edilmesidir

Bir bakterinin antibiyotiklere duyarlılığı, fizyolojik ve çevresel koşullar tarafından sürekli olarak şekillendirilen metabolik durumu ile yakından ilişkilidir. Antibiyotik varlığı, bu metabolik dengeyi bozmaktadır. Nitekim,

antibiyotiğe duyarlı ve dirençli suşların karşılaştırmalı metabolomik profillerinin belirlenmesi, direnç mekanizmalarının temelinde yer alan kritik metabolik yolların saptanmasına olanak sağlamaktadır.

Örneğin, bu tür hedefe yönelik metabolomik yaklaşımlar; metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ve metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarının subletal konsantrasyonlardaki β -laktam, aminoglikozit ve kinolon grubu antibiyotiklerle karşılaşma sonrasındaki metabolik yanıtlarının araştırılmasında kullanılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda, hem farklı antibiyotik grupları için ortak, hem de antibiyotiğe özgül metabolik değişiklikler tanımlanmıştır. Özellikle β -laktam antibiyotiklerin pirimidin, amino asit ve pürin metabolizması başta olmak üzere çeşitli temel metabolik yollarda belirgin değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir.

Bu bulgulardan hareketle, metabolik yeniden programlama ("metabolic reprogramming") olarak adlandırılan umut verici bir yaklaşım ortaya çıkmıştır. Bu stratejide, dirençli bakterilere belirli ekzojen metabolitlerin sağlanması yoluyla hücre içi metabolik durumun yeniden antibiyotik duyarlılığı yönünde değiştirilmesi ve böylece bakterilerin antibiyotiklere karşı yeniden duyarlı hale getirilmesi amaçlanmaktadır.

Antibiyotiklere dirençli *S. aureus* suşlarının giderek yaygınlaşması, önemli bir tedavi sorunu oluşturmaktadır. Bu çalışmada, dirençli *S. aureus*'ta direnç mekanizmaları ile birlikte giden metabolik adaptasyon yolları araştırılmıştır.

Bu amaçla, sıvı kromatografi ve tandem kütle spektrofotometri (LC-MS/MS) tabanlı bir yöntem kullanılarak, *S. aureus* Newman suşundan laboratuvar koşullarında geliştirilmiş; siprofloksasine dirençli (R-CIP), sefazoline dirençli (R-CEF) ve her iki antibiyotiğe dirençli (R-CC) suşların metabolomik profilleri incelenmiştir.

Metabolomik profillemeye sonucunda R-CIP, R-CEF ve R-CC suşlarında sırasıyla 41, 57 ve 74 farklı düzeyde bulunan metabolit saptanmış; bunların 21'inin tüm dirençli suşlarda ortak olduğu belirlenmiştir. Metabolik yolak analizinde ise R-CIP, R-CEF ve R-CC suşlarında sırasıyla 12, 9 ve 10 metabolik yolağın anlamlı düzeyde değişikliğe uğradığı gösterilmiştir.

Üç metabolik yolağın tüm dirençli suşlarda ortak olarak bozulduğu belirlenmiştir:

- Glisin, serin ve treonin metabolizması
- Alanin, aspartat ve glutamat metabolizması
- Taurin ve hipotaurin metabolizması

Bunlara ek olarak, R-CIP suşunda özgün olarak bütanoik asit metabolizmasının, R-CC suşunda ise glutamin ve pürin metabolizmasının değiştiği saptanmıştır.

iPath analizi, tüm dirençli suşların ortak özelliği olarak ana karbon ve enerji metabolizmasının baskılandığını ortaya koymuştur. Bu metabolik baskılanmaya; pirüvat dehidrogenaz ve trikarboksilik asit (TCA) döngüsü enzim aktivitelerinde azalma ile hücre içi NADH, ATP ve reaktif oksijen türleri (ROS) düzeylerinde düşüş eşlik etmiştir.

Karbon ve enerji metabolizmasındaki azalma dirençli izolatlarda "persister" fenotipin gelişmesine ve sonuçta antibiyotik varlığında dayanıklılığın artmasına yol açmaktadır (Bkz Şekil 1)

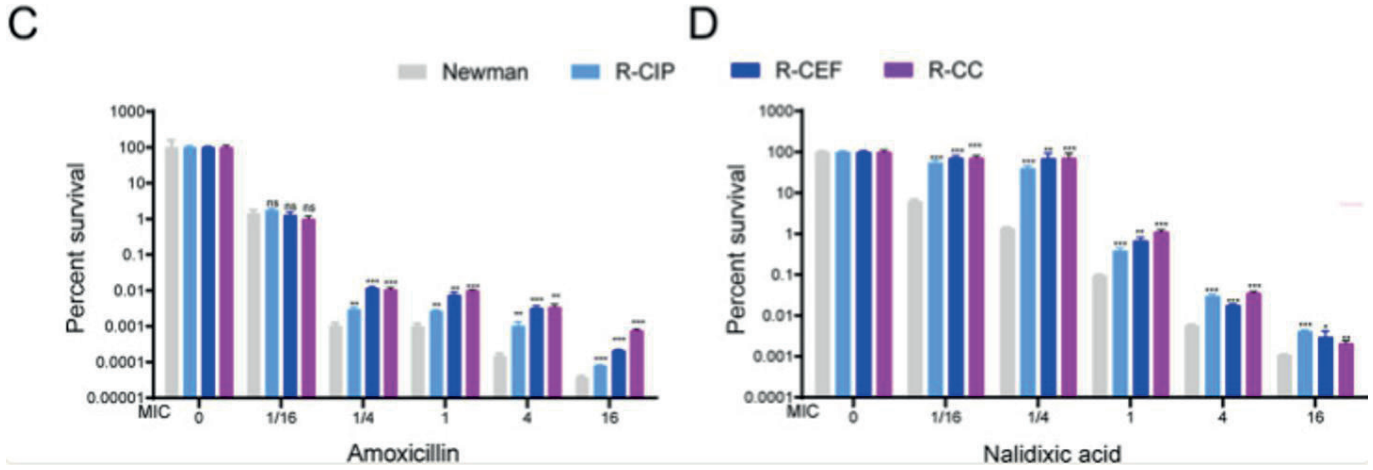
Ortamin pirüvat, sitrat veya fumarat ile desteklenmesi, siprofloksasin ve sefazolinin bakterisidal etkilerini anlamlı düzeyde artırmıştır.

Bu bulgular, *S. aureus*'un siprofloksasin ve sefazoline karşı direnç gelişiminde karbon ve enerji metabolizmasının baskılanmasının önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ekzojen metabolitlerle bakteriyel metabolizmanın

yeniden yönlendirilmesi, antibiyotik etkinliğini artırabilmekte ve antibiyotiğe dirençli *S. aureus* ile mücadelede metabolizmayı hedefleyen yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik önemli bir yaklaşım sunmaktadır.

Sonuç ve çalışmanın önemi

Antimikrobiyal direnç yalnızca direnç genleri veya hedef bölge mutasyonları üzerinden değerlendirilmemelidir; bakterinin metabolik durumu da antibiyotik duyarlılığının önemli belirleyicilerinden biridir. Bu çalışma ile temel enerji metabolizmasının baskılanması, düşük metabolik aktivite ve persistan fenotip arasında kurulan ilişki; belirli metabolitlerle bakterinin metabolizmasının yeniden aktif hale getirilerek, antibiyotik etkinliğinin artırılabilceğini düşündürmektedir. Bu ileriki yıllarda yeni bir tedavi yaklaşımı olarak karşımıza çıkabilir.



Şekil 1. Parental Suş ve dirençli varyantların amoksisilin ve nalidiksik asitin değişen konsantrasyonları varlığında yaşamlarını sürdürme kapasitesi.

Bakteriyostatik ve Bakterisidal Antibiyotiklerin Ardışık Kullanımı: Antagonistik mi, Sinerjik mi?

Antibiotic killing of drug-induced bacteriostatic cells.

Gil-Gil T, Berryhill BA. Antimicrob Agents Chemother. 2025 May 7;69(5):e0015625. doi: 10.1128/aac.00156-25. Epub 2025 Mar 26

Genel olarak bakteriyostatik ve bakterisidal antibiyotiklerin birlikte kullanılmasının antagonistik olduğu düşünülmektedir. Klasik tanımlara bakıldığında; bakterisidal antibiyotik, aktif olarak üremekte/bölünmekte olan bakteriyi öldürürken; bakteriyostatik antibiyotik, üremeyi azaltır/durdurur. Eğer bu iki grup birlikte veya bakteriyostatik bir antibiyotik verilirken -sidal bir antibiyotik eklenecek şekilde kombine edilirse, üreme yavaşlamış olacağı için -sidal antibiyotiğin etkinliği azalır.

Buna karşın, hem aşırı dirençli bakteri enfeksiyonlarında kullanılan antibiyotik kombinasyonları ile alınan klinik sonuçlar, hem de Gil-Gil ve Berryhill'in çalışması bu genellemenin her zaman doğru olmadığını göstermektedir.

Bu çalışmada araştırmacılar, bir *Escherichia coli* laboratuvar suşu ve klinik *Staphylococcus aureus* izolatında bakteriyostatik ve bakterisidal antibiyotik kombinasyonlarını incelemiştir.

Çalışmada, bakteri bir bakteriyostatik antibiyotiğe maruz bırakıldıktan sonra, bir bakterisidal antibiyotik eklenmesinin etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada, bakteriyostatik ve bakterisidal antibiyotikler arasında tam antagonizma oluşturan herhangi bir koşul gözlenmemiştir.

Bunun yerine;

- Kültürde bakteri temizlenme hızında düşme veya tam tersine bakterinin daha hızlı öldürülmesi,
- Direnç gelişiminin önlenmesi

gibi farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Daha da dikkat çekici olarak, bakteriyostatik antibiyotikle ön inkübasyon sonrasında bakterisidal antibiyotik uygulanması, birçok durumda bakterisidal antibiyotiğin tek başına uygulanmasından daha fazla bakteriyel öldürme sağlamıştır.

Çalışmanın iki önemli bulgusundan bahsedilebilir:

1. *E. coli*

Bakteriyostatik antibiyotikle önceden temas, gentamisin tek başına uygulandığında ortaya çıkan gentamisine dirençli küçük koloni varyantlarının (SCV) gelişimini baskılamış ve bakteriyel temizlenme hızını artırmıştır.

2. *S. aureus*

İndüklenebilir β -laktamaz üreten *S. aureus* MN8 suşunda, bakteriyostatik antibiyotikle önceden temas sonrasında, ampisilin varlığında bakteri üremesi daha iyi kontrol edilmiştir.

Araştırmacılar bunu şöyle açıklamaktadır:

Bakteriyostatik antibiyotik → bakteriyel bölünme hızı/metabolizma azalır → β -laktamaz üretimi azalır → ampisilinin inaktivasyonu azalır → ampisilin etkinliği artar.

Bu mekanizma özellikle β -laktamaz üreten bakteriler açısından önemlidir.

Çalışma, "bakteriyostatik + bakterisidal = antagonizma" şeklindeki klasik yaklaşımın fazla basit olduğunu gösteriyor.

Daha doğru yaklaşım:

Antibiyotik etkileşimi, yalnızca ilaçların bakteriyostatik veya bakterisidal olarak sınıflandırılmasına göre öngörülemez; ilaç sıralaması, temas süresi, konsantrasyon, bakterinin metabolik durumu ve direnç mekanizması dikkate alınmalıdır.

Bununla birlikte, bu sonuçlar henüz klinik tedavi protokolü oluşturmak için yeterli değildir. Çalışmanın *in vitro* olması ve konak immün yanıtının değerlendirilmemesi önemli bir kısıtlılıktır.

Bakteriyostatik antibiyotik uygulandıktan sonra bakterisidal antibiyotik etkinliğinin artması, Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarlarında sinerji testi yapılırken, her iki antibiyotiğin mikrodilüsyon plağına/tüplere aynı anda eklenmesi uygulamasının da gözden geçirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Tablo 1. Bakteriyostatik antibiyotik sonrası bakterisidal antibiyotikle karşılaşan bakterilerde beklenen canlılık oranı ve saptanan bakteri canlılık oranları.

Bacteria	Combination	Expected Survival	Actual Survival
<i>E. coli</i>	Chloramphenicol and ciprofloxacin	0.7605	0.0181
<i>E. coli</i>	Chloramphenicol and gentamicin	0.7605	0
<i>E. coli</i>	Chloramphenicol and ampicillin	0.7605	0.0004
<i>E. coli</i>	Azithromycin and ciprofloxacin	0.7605	0.0005
<i>E. coli</i>	Azithromycin and gentamicin	0.7605	0
<i>E. coli</i>	Azithromycin and ampicillin	0.7605	0
<i>S. aureus</i>	Chloramphenicol and ciprofloxacin	0.0640	0.0001
<i>S. aureus</i>	Chloramphenicol and gentamicin	0.0640	0
<i>S. aureus</i>	Chloramphenicol and ampicillin	4.0948	0.0039
<i>S. aureus</i>	Tetracycline and ciprofloxacin	2.5918	0
<i>S. aureus</i>	Tetracycline and gentamicin	2.5918	0
<i>S. aureus</i>	Tetracycline and ampicillin	4.2630	0.0148

Canlı bakteri sayısının çok düştüğü görülüyor!

OXA-23'ü hedefleyen monoklonal antikor, karbapenemlere dirençli epidemik *Acinetobacter baumannii*'de karbapenem duyarlılığını yeniden kazandırıyor

Monoclonal antibody targeting OXA23 restores carbapenem susceptibility in global epidemic carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*.

Hua M, Wei H, Jiang Y, et al. Antimicrob Agents Chemother. 2026; 25;70(8):e0179625. doi: 10.1128/aac.01796-25.

Karbapenemlere dirençli *Acinetobacter baumannii* (CRAB), küresel ölçekte ciddi bir halk sağlığı tehdididir. Yüksek mortalite oranları ve sınırlı tedavi seçenekleri nedeniyle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından “Kritik öncelikli patojen” olarak sınıflandırılmıştır. Birinci basamak karbapenemlerden meropenem, özellikle kritik durumdaki hastalarda doza bağlı nefrotoksisite, hepatotoksisite ve nörotoksisiteye yol açabilmektedir. Bu nedenle, antibakteriyel etkinliği korurken gerekli ilaç dozunu azaltabilecek yeni yaklaşımlara gereksinim vardır.

Acinetobacter baumannii calcoaceticus izolatlarında, bir sınıf D karbapenemaz olan OXA-23, karbapenem direncinin başlıca belirleyicilerinden biridir. Baskın epidemik “yüksek riskli klon” üyelerinin %83,4'ünde OXA-23 bulunduğu bildirilmiştir.

Son dönemde yapılan çalışmalar, OXA-23'ün hücre dışına salınabildiğini ve bunun hem CRAB'nin hem de polimikrobiyal ortamlarda birlikte kolonize olan diğer gram negatif bakterilerin β -laktam direncini artırdığını göstermiştir.

Bu mekanizmayı hedeflemek amacıyla araştırmacılar C32 adı verilen nötralizan bir monoklonal antikor geliştirmiştir. C32, OXA-23'ün katalitik bölgesine yakın, korunmuş bir epitopa yüksek afiniteyle bağlanmakta; enzimin β -laktamları hidrolize etmesini engellemektedir. Bunun sonucunda karbapenem duyarlılığı yeniden kazanılabilmektedir.

Fonksiyonel analizlerde C32'nin, CRAB ortak kültür modelinde meropenem MİK değerini 24 mg/L'den 16 mg/L düzeyine düşürdüğü ve böylece %33,3'lük bir azalma sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca C32'nin hücre dışı OXA-23 salınması ile oluşan ve normalde duyarlı olan bakterilere sağlanan “topluluk korunmasını” da bozabildiği gösterilmiştir.

Bu bulgular, OXA-23 aracılı direncin aşılmasında C32'nin yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceğini ve β -laktam antibiyotiklerin etkisini güçlendirmek amacı ile kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde sık sorulan sorular

EUCAST disk difüzyon testi - Besiyeri

1. EUCAST hangi Mueller-Hinton agar üreticisini öneriyor?

EUCAST belirli bir Mueller-Hinton agar üreticisini önermemektedir. Kullanılan üreticiden bağımsız olarak, her kullanıcı, besiyeri serilerinin EUCAST tarafından yayınlanan iç kalite kontrol aralıklarını karşıladığından emin olmalıdır. Bu aralıklar, çeşitli üreticilerden alınan besiyerleri ile kontrol edilmiştir. Hazır besiyeri kullananlar plak üreticisinin Mueller-Hinton toz besiyeri üreticisi ile aynı olmayabileceğini bilmelidir.

Çeşitli üreticilerden sağlanan MH agarların daha ayrıntılı bir değerlendirmesi (17 üreticiden 21 marka) EUCAST Değerlendirme laboratuvarı tarafından yapılmıştır ve Clin Microbiol Infect. 2020 Oct;26(10):1412.e1-1412.e5. yayınında bulunabilir. (<https://www.eucast.org/about-eucast/publications-and-presentations/> adresinden erişilebilir).

2. Mueller-Hinton agar ve Mueller-Hinton II agar arasındaki fark nedir?

Mueller-Hinton agar'da, başta aminoglikozidler olmak üzere çeşitli ilaçların aktivitesini etkilediği bilinen katyon içeriği tanımlanmamıştır. Ayrıca, trimetoprim ve trimetoprim-sülfametoksazol aktivitesini etkileyen timidin içeriği de belirtilmemiştir. Mueller-Hinton II agar, düşük konsantrasyonda timidin ve kontrollü konsantrasyonlarda kalsiyum ve magnezyum iyonları içerecek şekilde üretilmiştir. Günümüzde, duyarlılık testine yönelik tüm Mueller-Hinton agarlar mevcut ISO performans standardı 16782'yi karşılayacak şekilde üretilmelidir. Dolayısıyla, EUCAST, iç kalite kontrol suşları için kabul edilebilir aralıklar içinde inhibisyon zonları veren Mueller-Hinton agarlar kullanılabilir ve EUCAST, MH ve MH II arasında ayırım yapmaz.

Çeşitli üreticilerden sağlanan MH agarların daha ayrıntılı bir değerlendirmesi (17 üreticiden 21 marka) EUCAST Değerlendirme laboratuvarı tarafından yapılmıştır ve Clin Microbiol Infect. 2020 Oct;26(10):1412.e1-1412.e5. yayınında bulunabilir. (<https://www.eucast.org/about-eucast/publications-and-presentations/> adresinden erişilebilir).

3. Her yeni Mueller-Hinton agar serisinin kalite kontrolünden geçmesi gerekli midir?

Rutin uygulamada kullanılan antibiyotiklere yönelik üreme ve inhibisyon zon çapları, her yeni Mueller-Hinton agar serisi üzerinde kontrol edilmelidir. İç kalite kontrolü için EUCAST tarafından önerilen suşlar kullanılır. *P. aeruginosa* ATCC 27853 ile gentamisin veya tobramisin için kontrol sınırlarının dışındaki inhibisyon zon çapları, yüksek veya düşük katyon düzeylerini ve *E. faecalis* ATCC 29212 ile trimetoprim ve/veya trimetoprim-sülfametoksazol için kontrol sınırlarının altındaki zon çapları kabul edilemez derecede yüksek timidin düzeylerini gösterebilir.

4. MH-F besiyeri için at kanı yerine koyun kanı kullanılabilir mi?

Aksi belirtilmedikçe güç üreyen bakteriler için MH-F EUCAST'ın standart besiyeridir. Katkı olarak sadece %5 defibrine at kanı içeren MH agar (MH-S) güç üreyen bakterilerde disk difüzyon testi için alternatif bir besiyeri olarak değerlendirilmiştir. Birçok tür ve antibiyotik için MH-S MH-F yerine kullanılabilir. MH-S agar plakları mekanik olarak defibrine edilmiş %5 koyun kanı içermeli ve MH-F ile aynı agar kalınlığına (4.0 mm $\pm$ 0.5 mm) sahip olmalıdır. Streptokoklar ve trimetoprim-sulfametoksazol için özel değerlendirme talimatları uygulanmalıdır.

Bununla birlikte, EUCAST MH-S'yi MH-F kadar değerlendirmez ve MH-F yerine MH-S kullanılıyor ise, laboratuvarında disk difüzyonda kullanılan tüm disk ve türler için besiyerinin kalite ve kullanılabilirliğinin değerlendirmesi kullanıcının sorumluluğundadır. Bu da öncelikle KK suşlarının kullanımı ile, ayrıca yerel dağılımların EUCAST dağılımları ile kıyaslanmasıyla yapılır. Ayrıntılı bilgi için bkz <https://www.eucast.org/bacteria/methodology-and-instructions/media-preparation/>

5. Hangi β -NAD kullanılmalıdır?

Çeşitli üreticilerden alınan β -NAD serilerini değerlendirdik ve $\geq$ %98 saflıkta β -NAD kullanımını öneriyoruz.

6. MH-F gradiyent testler için besiyeri olarak kullanılabilir mi?

Gradyent testler gibi ticari ürünler için testler üreticinin önerileri doğrultusunda uygulanmalıdır. Hangi ürünlerin MH-F için valide edilmiş olduğuna ilişkin bilgi üretici talimatlarında yer almaktadır.

7. EUCAST disk difüzyon kılavuzunda, agar derinliğinin $4,0 \pm$ mm olması gerektiği belirtilmektedir. Bu agar derinliği 3,5-3,7 mm olan plakların kullanılmasının uygun olduğu anlamına mı gelir?

Hayır, gerek laboratuvarında hazırlanan plaklarda, gerek ticari hazır plaklarda hedef değer 4,0 mm olmalıdır. Eğer tekrarlı ölçümler, derinliğin 4 mm'nin üzerinde veya altında olduğunu gösterirse, agar derinliği 3,5-4,5 mm olduğunda bile hacim ayarlanır. Sınırlara, özellikle de düşük sınıra yakın olan plakların kullanımı, hatalı inhibisyon zonlarına yol açabilir.

8. Özellikle MH-F besiyerinde inhibisyon zonlarının içinde puslu görünüm ve zon kenarına yakın bölümde üreyen koloniler görüyoruz. Bunu düzeltmek için bir şey yapabilir miyiz?

Eğer agar yüzeyinde veya kapağın içinde (film veya damlacık şeklinde) nem görünür ise pus veya düzensiz zon kenarlarını açıklayabilir. O zaman inokülasyondan önce plakların kurutulması gerekebilir. Bu özellikle plastik torbalarda veya kapalı kutularda saklanan plaklarda sık görülen bir durumdur. İnokülasyondan önce agar yüzeyinin kuru olmasına özen gösterilmelidir. Gerekirse plaklar 1 gece 20-22 °C'de veya 15 dakika 35 °C'de kapakları açık olarak kurutulabilir. Plakların buzdolabında ambalajlarından çıkarılarak tutulması aşırı nem sorununu çözebilir. Zon kenarlarını değerlendirmek güç olduğunda plakların çalışma masasına 45-derecelik bir açı ile tutulması okumayı kolaylaştırabilir.

9. FAA-HB besiyerinde anaerop bakterileri test ederken düzensiz zon kenarları ve zon içinde puslu görünüm sorunları oluyor. Bunu nasıl düzeltebiliriz?

Anaerop bakterilere FAA-HB'de (Fastidious anaerobe agar with 5% mechanically defibrinated horse blood) disk difüzyon testi yaparken inokülasyondan önce plakların 1 gece 20-22 °C'de veya 15 dakika 35 °C'de kapakları açık olarak kurutulması önemlidir. Plastik torba veya kapalı kutularda gelen plakların önce bir gece 20-22 °C' de, sonra da 15 dakika 35 °C'de kapaksız olarak kurutulması gerekli olabilir.

Zon çapları okunurken plaklar çalışma masasına 45-derecelik bir açı ile tutulur. Eğer zon kenarları düzensiz ise veya zon içinde hafif bir pus var ise belirgin olan zon kenarı okunur. Belirgin zon görmek için plağı kendinize doğru eğin.

10. Anaerop bakterilerde disk difüzyon testinde FAA-HB yerine hemin ve vitamin K içeren Brucella agar kullanabilir miyiz?

Anaerop bakteriler için EUCAST disk difüzyon yöntemi FAA-HB için geliştirilmiştir ve başka bir besiyeri kullanılamaz. Hangi anaerop türlerin EUCAST disk difüzyon yöntemi ile test edilebileceğine ilişkin bilgi EUCAST'ın son versiyonunda yer almaktadır: <https://www.eucast.org/bacteria/clinical-breakpoints-and-interpretation/clinical-breakpoint-tables/>.

Pfizer-TMC-ADTS eğitim toplantısı

Pfizer A.Ş. nin TMC-ADTS ile birlikte yürüttüğü eğitim toplantılarının üçüncüsü 22 Eylül 2026 tarihinde Ege Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. "Antimikrobiyal yönetim bakış açısı ile sahada yaşanan sorunlara çözüm önerileri" başlığında çeşitli olgular üzerinden antibiyotik duyarlılık testlerindeki sorunlar, eksiklikler ve çözüm önerileri tartışıldı.



Antimikrobiyal Yönetişim Bakış Açısı ile Sahada Yaşanan Sorunlara Çözüm Önerileri

**22 Eylül
2026**

**Ege
Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
İzmir**

14.00-14.05 Açılış, Dr. Zeynep Gülay, Dr. Şöhret Aydemir
14.05-14.20 Dirence Karşı Yeni Antibiyotikler, Dr. Şöhret Aydemir
14.20-14.40 Yeni Antibiyotiklere Karşı Direnç Mekanizmaları, Dr. Elif Aktaş
14.40-15.00 Ara
15.00-16.30 Olgularla Antimikrobiyal Yönetişim, Dr. Serap Süzük, Dr. Elif Aktaş, Dr. Nisel Yılmaz, Dr. Bilgin Arda
16.30-17.15 Yuvarlak Masa: Sahada Yaşanan Sorunlar ve Çözüm Önerileri, Dr. Zeynep Gülay, Dr. Şöhret Aydemir
17.15-17.30 Kapanış

