

Bakterilerde Antibiyotik Duyarlılık Öngörüsünde Tüm Genom Dizilemenin Rolü: EUCAST 2025 Güncellemesinden Öne Çıkanlar

Doktor Öğretim Üyesi Ayşe Nur Sarı Kaygısız

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

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 dirençle 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 öngörülememektedir. 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 sürveyansı 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

Biyoformatik 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 dönüştürölmesini sağlayan harmonizasyon yaklaşımlarının geliştirilmesi de önemli bir ilerleme olarak değerlendirilmektedir.

Mycobacterium tuberculosis, 2017 yılından bu yana genotipik testlerin ve TGD-ADÖ’nün en fazla ilerlediğı 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 süveyansı 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 AMD 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 sürveyansının 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.

Kaynak

Samuelson 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. doi: 10.1016/j.cmi.2026.05.012.