



**T.C.**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ**

**HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YATAĞA BAĞIMLI KRONİK BASI YARALI HASTALARDA  
BASİ YARASINDAN İZOLE EDİLEN ETKEN  
MİKROORGANİZMALARDA BİYOFİLM OLUŞUMUNUN  
İNCELENMESİ VE DİRENÇ GELİŞİMİYLE İLİŞKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Elifnaz İLGAR**

**Tez Danışmanı**

**Prof. Dr. Mustafa BERKTAŞ**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**EYLÜL/ 2019**

## TEZ KABUL ONAYI

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalında** Elifnaz İlgar tarafından hazırlanan **"YATAĞA BAĞIMLI KRONİK BASI YARALI HASTALARDA BASI YARASINDAN İZOLE EDİLEN ETKEN MİKROORGANİZMALARDA BİYOFİLM OLUŞUMUNUN İNCELENMESİ VE DİRENÇ GELİŞİMİYLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ"** başlıklı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Danışman/Başkan** Prof. Dr. Mustafa BERKTAŞ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

**Üye:** Prof. Dr. Sebahat AKSARAY

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

**Üye:** Prof. Dr. Tuncer ÖZEKİNCİ

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

**Üye:** Prof. Dr. Orhan BAYLAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

**Üye:** Dr. Öğr. Üyesi Aysun KAYA

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 14 /11/ 2019

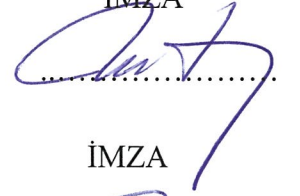
Jüri üyeleri tarafından yüksek lisans tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

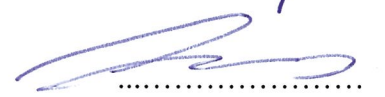
Prof. Dr. Şeniz KARAÇAY



İMZA



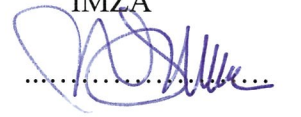
İMZA



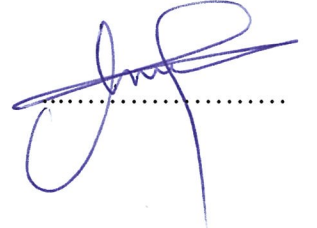
İMZA



İMZA



İMZA



## BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Elifnaz İLGAR

## ÖZET

### YATAĞA BAĞIMLI KRONİK BASI YARALI HASTALARDA BASI YARASINDAN İZOLE EDİLEN ETKEN MİKROORGANİZMALARDA BİYOFİLM OLUŞUMUNUN İNCELENMESİ VE DİRENÇ GELİŞİMİYLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Amaç:** Yatağa bağımlı kronik bası yaralı hastalardan etken mikroorganizmaların izole edilmesi, izole edilen mikroorganizmalarda biyofilm oluşumunun incelenmesi ve direnç gelişimiyle ilişkisinin saptanmasıdır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Palyatif biriminde yatan hastalarda Ocak 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında alınan kronik bası yarası örneklerinin Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda değerlendirilmesi ile gerçekleştirildi. 36 kronik bası yarası örneğinden toplam 67 suş izole edildi. Suşların izole edildiği hastaların yaşları, cinsiyetleri, altta yatan hastalıkları, CRP, WBC, Glukoz değerleri, bası yarasının evreleri ve örneğin alındığı bölge saptandı. İzole edilen mikroorganizmalar standart mikrobiyolojik yöntemlerle değerlendirildi ve tür tayini için Vitek 2 otomatize identifikasyon sistemi kullanıldı. Mikroorganizmaların biyofilm oluşturma yeteneklerinin değerlendirilmesinde Mikroplak ve Kongo kırmızılı agar yöntemi kullanıldı.

**Bulgular:** Alınan örneklerin %50'sinin (18) kültür sonucu *P. aeruginosa* iken, %19.4'ünün (7) *P. mirabilis*, %13.9'unun (5) *E. coli*, %16.7'sinin (6) *Acinetobacter spp.*, %22.2'sinin (8) *P. stuartii*, %2.8'inin (1) KNS, %22.2'sinin (8) *Klebsiella pneumoniae*, %2.8'inin (1) Non-candida albicans olarak saptandı. Örneklerin %8.3'ünde (3) mikroorganizma üremedi, %11.1'inin (4) *E. faecalis* ve %2.8'inin (1)

*Corynebacterium striatum* olduğu gözlemlendi. Alınan örneklerin %41.7'sinde (15) 1 bakteri üremesi saptanırken, %58.3'ünde 2 ve üzeri üreme saptandı. Bakterilerin %5.9'unun (4) mikropalak yöntemi ile biyofilm oluşturma şiddeti hafif düzeydeyken, %27.9'i (19) orta düzeyde ve %66.2'si (45) güçlü bulundu. Bu oranlar kongo kırmızılı agar yönteminde %22.1 (15) oranında negatif, %58.8 (40) oranında orta düzeyde ve %19.1 (13) oranında ise güçlü bulundu.

**Sonuç:** Genel olarak test yapılan bakterilerin %22.1'si (15) biyofilm negatifken, %77.9'u (53) çeşitli düzeylerde biyofilm pozitif bulundu. Mikropalak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunmadı. (p:0.000; p<0.05).

**Anahtar kelimeler:** Antibakteriyel direnç, bası yarası, biyofilm oluşumu, enfeksiyon, mikroorganizma

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF BIOFILM FORMATION IN ISOLATED MICROORGANISMS AND EVALUATION OF RESISTANCE DEVELOPMENT IN BED-DEPENDENT CHRONIC COMPRESSION WOUNDED PATIENTS

**Aim:** The aim of this study is to isolate the active microorganisms from bed-dependent chronic pressure injured patients, to investigate the formation of biofilm in isolated microorganisms and to determine its relationship with the development of resistance.

**Materials and Methods:** The samples of chronic pressure ulcers taken from Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital Palliative Unit between January 2018 and August 2018 were evaluated in Clinical Microbiology Laboratory. A total of 67 strains were isolated from 36 chronic wounds. The ages, sexes, underlying diseases, CRP, WBC, Glucose values, pressure wounds, and the area where the strains were isolated were determined. Isolated microorganisms were evaluated by standard microbiological methods and Vitek 2 automated identification system was used for species determination.

**Results:** While the culture result of 50% (18) of the samples was *P. aeruginosa*, 19.4% (7) *P. mirabilis*, 13.9% (5) *E. coli*, 16.7% (6) *Acinetobacter* spp, 22.2% (8) were *P. stuartii*, 2.8% (1) were CNS, 22.2% (8) were *Klebsiella pneumoniae*, 2.8% (1) were *Non-candida albicans*. In 8.3% (3) of the samples, microorganism was not grown, 11.1% (4) were *E. faecalis* and 2.8% (1) were *Corynebacterium striatum*. One bacterial growth was found in 41.7% (15) of the samples, while 2 and more reproduction was found in 58.3%. While the severity of biofilm formation by microplate method was mild in 5.9% (4) of bacteria, 27.9% (19) were found to be moderate and 66.2% (45) were strong. These rates were negative in 22.1% (15), moderate in 58.8% (40) and strong in 19.1% (13) of the Congo red agar method.

**Conclusions:** In general, 22.1% (15) of the bacteria tested were negative for biofilm, 77.9% (53) were positive for various levels of biofilm. There was no

statistically significant correlation between microplate method and Congo red agar methods. (p: 0.000; p <0.05).

**Key words:** Antibacterial resistance, biofilm formation, infection, microorganism, pressure ulcer



## TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana danışmanlık yapan, tez süresince benimle sabırla iletişim halinde olan, desteğini ve anlayışını hiçbir zaman esirgemeyen saygı değer hocam Prof. Dr. Mustafa Berktaş'a,

Laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesiyle aşmamda bana yardımcı olan, her konuda desteğini gördüğüm kıymetli hocam Prof. Dr. Sebahat Aksaray'a,

Literatür desteği sağlayan değerli Prof. Dr. Kadriye Kart Yaşar hocama,

Hastalarımı bulmam için bana yol gösteren kıymetli Dr. Öğr. Üyesi Aysun Kaya hocama,

Örnek toplama aşamamda bana yardım eden her türlü desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Hilal Özkaya hocama,

Deney aşamamda bana destek veren Uzm. Dr. Şölen Dinçer hocam ile laboratuvar çalışmalarımda kendilerinden pek çok şey öğrendiğim Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarı uzman hocaları ve çalışanlarına,

Tez sürecimin bana kazandırdığı her konuda bana destek veren sevgili asistan arkadaşlarıma,

Tezimi maddi olarak destekleyen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı ve çalışanlarına,

Malzemelerimin temin edilmesi ve proje sürecinde bana yardımcı olan elektronik ve haberleşme mühendisi Mithat Egemen Çoban Beye,

Büyük özverilerle beni yetiştiren, bu günümü borçlu olduğum sevgili annem ve babama,

Varlığından güç aldığım kardeşim Yasemin Ilgar'a en içten duygularıyla teşekkür ediyorum.

Elifnaz Ilgar



# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT .....	vi
TEŞEKKÜR. ....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xi
RESİM LİSTESİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xiii
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>2</b>
2.1 PALYATİF BAKIM .....	2
2.2 BASI YARASI.....	3
2.2.1 Yaranın Tarihçesi .....	3
2.2.2 Bası Yarası ve Evreleri .....	4
2.2.3 Bası Yarası ve Enfeksiyon.....	4
2.2.4 Bası Yarasında Üreyen Mikroorganizmalar .....	6
2.2.4.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	6
2.2.4.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	7
2.2.4.3. <i>Proteus mirabilis</i> .....	8
2.2.4.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	8
2.3 BİYOFİLM .....	
2.3.1 Biyofilmin Tarihçesi .....	9
2.3.2 Biyofilmin Tanımı .....	9
2.3.3 Biyofilmin Temel Bileşeni EPS.....	10
2.3.4 Biyofilm Oluşumu .....	11
2.3.5 Biyofilm Oluşumu ve Cyclic di-GMP .....	12
2.3.6 Mikroorganizmalar Neden Biyofilm Oluşturur? .....	13
2.3.7 Biyofilm Oluşum Aşamaları .....	13
2.4 ÇOĞUNLUK ALGILANMASI .....	15
2.4.1 Çoğunluk Algılama ve Biyofilm Oluşumu .....	16
2.5 BİYOFİLM VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI .....	17
2.5.1 Cihazla İlgili Biyofilm Enfeksiyonları.....	17
2.5.2 Cihazla İlgili Olmayan Biyofilm Enfeksiyonları .....	18
2.6 ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ .....	19
2.6.1 Kemoterapötik Maddelerin Tarihçesi ve Tanımı .....	19
2.6.2 Antimikrobik İlaçlara Direnç .....	19
2.6.3 Biyofilm ve Antimikrobiyal Direnç .....	20
2.7. DİRENÇ FAKTÖRLERİ .....	21
2.7.1 Mutasyon .....	21
2.7.2 Dirençli Fenotip Varlığı .....	21
2.7.3 Stres ve Hasara Karşı Bakteriyel Adaptasyon.....	21
2.7.4 Antibiyotik Penetrasyonunun Başarısızlığı.....	22
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>23</b>
3.1 GEREÇLER .....	
3.1.1. Besiyerleri ve Kimyasal Bileşikler.....	23
3.1.2. Cihazlar .....	23
3.1.3. Bakteri Suşları.....	23

3.2 YÖNTEMLER.....	23
3.2.1. Hastaların Seçimi .....	24
3.2.2. Örneklem Büyüklüğü .....	24
3.2.3. İstatistiksel Yöntem.....	24
3.2.4. Yara Örneğinin Alınması .....	24
3.2.5. Yara Kültürünün Değerlendirilmesi.....	24
3.2.6. Mikroorganizmaların İdentifikasyonu .....	25
3.2.7. Biyofilm Oluşumunun Değerlendirilmesi.....	25
3.2.7.1. Kongo kırmızılı agar yöntemi .....	25
3.2.7.2. Mikroplak yöntemi.....	26
3.8. Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi .....	28
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>29</b>
<b>5. TARTIŞMA. ....</b>	<b>48</b>
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>56</b>
<b>KAYNAKLAR. ....</b>	<b>58</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>66</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>68</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Tablo 4.1.</b> Çalışma parametrelerinin dağılımı .....	29
<b>Tablo 4.2.</b> Boyama sonuçlarının dağılımı .....	31
<b>Tablo 4.3.</b> Mikroplak yöntemi ve değeri, kongo kırmızılı agar yöntemi, kongo kırmızılı agar ve bakteri türlerinin dağılımı .....	34
<b>Tablo 4.4.</b> Bakteri türlerinde ve totalde mikroplak yöntemi ile kongo kırmızılı agar yöntemi arasındaki uyumun değerlendirilmesi .....	35
<b>Tablo 4.5.</b> İzole edilen bakterilerin antibiyotiklere genel dirençlilik durumları .....	38
<b>Tablo 4.6.</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> complex türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	39
<b>Tablo 4.7.</b> <i>Klebsiella pneumoniae</i> türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	40
<b>Tablo 4.8.</b> <i>P. aeruginosa</i> türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	41
<b>Tablo 4.9.</b> <i>Proteus mirabilis</i> türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	42
<b>Tablo 4.10.</b> <i>Providencia stuartii</i> türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	43
<b>Tablo 4.11.</b> <i>Acinetobacter baumannii</i> complex türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	44
<b>Tablo 4.12.</b> <i>Klebsiella pneumoniae</i> türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	45
<b>Tablo 4.13.</b> <i>P. aeruginosa</i> türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	46
<b>Tablo 4.14.</b> <i>Proteus mirabilis</i> türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	47
<b>Tablo 4.15.</b> <i>Providencia stuartii</i> türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi .....	48

## RESİM LİSTESİ

<b>Resim</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Resim 4.1.</b> Biyofilm Oluşumunun kongo kırmızılı agar yöntemi ile değerlendirilmesi .....	31
<b>Resim 4.2.</b> Biyofilm pozitif test görünümü .....	32
<b>Resim 4.3.</b> İnkübasyon için kuyucuklara eklenmiş mikroorganizma solüsyonunun görüntüsü .....	32
<b>Resim 4.4.</b> Biyofilm oluşumunun mikropalak yöntemi ile değerlendirilmesi .....	33

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>AHL</b>	: N-açıl homoserin lakton
<b>C-di GMP</b>	: Cyclic-di-guanosine monophosphate
<b>CRP</b>	: C-reaktif protein
<b>DSÖ</b>	: Dünya sağlık örgütü
<b><i>E. coli</i></b>	: <i>Escherichia coli</i>
<b>EPS</b>	: Ekzopolisakkarit
<b>KNS</b>	: Koagülaz negatif stafilokoklar
<b>NPUAP</b>	: National Pressure Ulcer Advisory Panel
<b><i>K. pneumoniae</i></b>	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b><i>P. aeruginosa</i></b>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b><i>P. stuartii</i></b>	: <i>Providencia stuartii</i>
<b>QS</b>	: Quorum sensing
<b>WBC</b>	: White blood cell



# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Palyatif bakım ve yoğun bakım ünitelerinde ileri dönem kronik hastalıklarda diyabet mellitus, nörodegeneratif bozukluklar, santral ve periferik nörolojik motor fonksiyon bozukluğu, immün yetmezliğe yol açan diğer hastalıklara sahip bireylerde kronik yaralar gelişebilir. Kritik hastalar, genel bakım alanlardaki hastalardan daha yüksek bası yarası riski taşırlar. Bası yarasında oluşan bir enfeksiyon enflamasyon basamağını uzatır. Enfeksiyon tedavi edilemediği sürece bir sonraki basamak gerçekleşmeyeceği için yara iyileşmesi gecikir. Yara ve yara etrafında üreyen bakteriler yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkilere sebep olur ya da yaranın iyileşmesini durdurur. Açık yaralar belli mikroorganizmalar tarafından kontaminasyona uğrar. Her kontaminasyon enfeksiyon olarak değerlendirilmez. Bası yarasında mikrobiyolojik olarak enfeksiyonun tanımlaması için, doku biyopsisi altın standarttır. Enfeksiyona sebep olan patojen bakteriler birbirlerine ve çoğu zamanda bir yüzeye yapışarak biyofilm denilen mikroorganizma toplulukları oluştururlar (1). Bakteriyel biyofilm yara iyileşmesinde en büyük engeldir. Kalıcı enfeksiyonlar ve tedavi edilemeyen bası yaralarının oluşmasına sebebiyet verir. Üzerinde biyofilm oluşan doku vücuttan çıkartılmadıkça tedavi tam olarak mümkün olmaz (2). Bu sebeple, yara ve yara üzerinde bulunan mikroorganizmaların belirlenmesi, biyofilm oluşturma oranlarının tespit edilmesi bası yarasında enfeksiyon takibi için büyük önem arz etmektedir. Antimikrobiyal maddelerin biyofilm içerisine tamamen giriş yapamaması biyofilm matriksini meydana getiren polimetrik maddenin antibiyotiklerin hücre içerisine geçişini engellediği bilinmektedir. Biyofilm içerisindeki mikroorganizmaların besin sınırlanmasından dolayı yavaş büyüme evresine geçtiği bu sebepten dolayı antibiyotiklere karşı direnç gösterdikleri düşünülmektedir (3). Bası yarasında sistemik antibiyotik tedavisi tartışmalıdır. Antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi tedavi açısından yol gösterici olacaktır. Araştırmamızın amacı, yatağa bağımlı kronik bası yaralı hastalardan etken mikroorganizmaların izole edilmesi, izole edilen mikroorganizmalarda biyofilm oluşumunun incelenmesi ve direnç gelişimiyle ilişkisinin saptanmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Palyatif Bakım

Palyatif terimi Latince "Palliare" sözcüğünden türetilmiştir. Palliare; örtü, pelerin, örtmek anlamlarına gelmektedir. İngilizce terminolojide ise "Palliative" dindirici, hafifletici manasında kullanılır. Geçmişte "Ölüm bakımı" olarak adlandırılan palyatif bakım yıllar sonra "terminal bakım" olarak adlandırılmış günümüzde ise "yaşam sonu bakım", "destekleyici bakım", "devam eden bakım birimi" olarak kullanılmaktadır (4).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) palyatif bakımı, "hastaların ve ailelerinin yaşamı tehdit eden hastalıklarla ilgili problemlerle yüzyüze geldiklerinde hastaların yaşam kalitesini iyileştirmek erken teşhis, ağrıların önlenmesi, fiziksel, psikososyal ve diğer problemlerinin kusursuz bir şekilde değerlendirilmesi ve rahatlatılması yoluyla geliştirilen bir yaklaşım" olarak tanımlamaktadır (5).

"Palyatif bakım" terimi, kronik, ilerleyici pulmoner rahatsızlıklar, böbrek hastalığı, kronik kalp yetmezliği, AIDS ve ilerleyici nörolojik durumlar gibi kanser dışındaki hastalıklar bakımından giderek daha fazla kullanılmaktadır (6). İleri dönem kronik hastalıklarda diyabet mellitus, nörodejeneratif bozukluklar, santral ve periferik nörolojik motor fonksiyon bozukluğu, immün yetmezliğe yol açan diğer hastalıklara sahip bireylerde kronik yaralar gelişebilir (7). Kritik hastalar, genel bakım alanlarındaki hastalardan daha yüksek bası yarası riski taşırlar. Yatış süresinin uzaması, hastalığın şiddeti, zayıf doku perfüzyonu, hemodinamik instabilite, vazoaaktif ilaçlar kullanılması nedeniyle bası yarası oluşma riski artar (8).

Deri vücudumuzun en geniş organıdır. İnsan vücudunu dışarıdan gelecek etkenlere karşı koruyan ilk savunma merkezidir. Metabolizma, koruma, termoregülasyon ve iletişim gibi fonksiyonlar deri tarafından gerçekleştirilir. Dermis tabakası yaşlandıkça incilir. Katmanlarının yapısını yitirmeye başlar. Bunun sonucu olarak yaşlı bireylerde yaralanma riski artar (9).



Canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel olarak bütünlüğünün bozulması “yara” olarak adlandırılır. Canlı dokuda bozulan bu bütünlüğün düzelmesi ise, travma ile başlayan hücresel, sistemik ve biyokimyasal basamaklar olup, yeni dokunun oluşması ile sonuçlanmasındır (10). Yaşlılarda yara oluşumu çeşitli faktörler sebebiyle daha yüksek olup, oluşan yaraların iyileşmesi daha güçtür. Artan yaşla ilişkili olarak sistem ve fonksiyonların bozulması, yetersizlikler ve bunlarla ilişkili olarak kronik hastalıklar sıklıkla görülmektedir. Yaşlandıkça bası yarası oluşumuna sebep olan risk faktörleri de artmaktadır. Kronik hastalıklara eşlik eden beslenme bozuklukları, uzun bir müddet yatağa bağımlı kalmaya bağlı gelişebilecek komplikasyonlar, basınç ve duyularının azalmasıyla birlikte doku elastikiyetinin kaybolması gibi faktörler bası yarası oluşumu için risk faktörü olarak değerlendirilir (11).

## **2.2. BASI YARASI**

### **2.2.1. Yaranın Tarihçesi**

Yara iyileşmesinin tarihi çok eski devirlere dayanmaktadır. En eski tıbbi yazılardan biri, milattan önce 2200 yılına kadar uzanan bir kil tabletidir. Bu tablet yara iyileşmesini “üç iyileştirici hareket” olarak açıklar. Bunlar, yaraları yıkamak, sıvaları yapmak ve yarayı sarmaktır (12). Milattan önce 2000 yıllarından Mezopotamya’da bulunan Babil kralı Hamurabi’nin kitabelerinde çeşitli tıbbi hükümler bulunmaktaydı. Bu tabletlerde ilaç reçeteleri bulunmaktaydı. Eski Mısır’da milattan 1500 yıl önce Ebers papirüslerinin yazıldığı tahmin edilmektedir. Ebers papirüsleri 900 kadar reçete içermektedir. Bu papirüslerde hint yağının yaralar ve yanıklarda ilaç olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Ebers papirüslerinde yazılanlara göre yarayı tedavi etmek için yara üzerine taze et yapıştırılmaktaydı (13). Mısır mumyalarında, bazıları 5.000 yıldan uzun olan bası yaraları keşfedilmiştir. Mısırlılar, bu ülser ve yaraların tedavisinde bal kullanmaktaydı. İran’da Avicenna, yaralar üzerinde çeşitli topikal tedaviler uygulamıştır. Arabistan’da, Maimonides ülser iyileşmesini teşvik etmek için beslenme desteği önerilirdi. Geçmişte yara iyileşmesinde bal, küflü ekme, et, hayvan ve bitki özleri, bakır sülfat, çinko oksit gibi çok çeşitli topikal ilaçlar kullanılmıştır (14).

### **2.2.2. Bası Yarası ve Evreleri**

Bası yarası, vücudun herhangi bir bölgesine genellikle kemik çıkıntıları üzerine ara vermeden uygulanan bası sonucu ortaya çıkan iskemi, hücre ölümü ve doku kaybıdır. Bası yaralanmalarının önlenmesi ve tedavi önerilerinin liderliğini yapan 1986'da kurulan bir organizasyon olan Ulusal Basınç Ülseri Danışma Paneli bası yarasını, "Tek başına, basınç ya da yırtılma ile basıncın bir arada neden olduğu, genellikle kemik çıkıntılar üzerinde ortaya çıkan lokalize deri ve/veya deri altı doku hasarır" olarak açıklamaktadır. Basınç ya da basınç ile dokunun sürtünme ile yırtılması sonucunda genellikle kemik çıkıntıları üzerinde oluşan deri ve/veya deri altı doku hasarır" olarak tanımlamaktadır. Genel olarak bası yaraları kalça, topuk, dirsek, omuz, sırt ve başın arkasında görülür. Bası yarası için kullanılan diğer terimler ise "dekübit ülseri, yatak yarası ve bası ülseridir (15).

Bası yaralarının klinik değerlendirmesi adına NPUAP tarafından belirlenen aşağıdaki evrelendirme sistemi kullanılmaktadır;

1. Evre: Sağlam cilt üzerinde lokalize bir kızarıklık görülür. Koyu ten rengi olan kişilerde tespit edilmesi zor olabilir.
2. Evre: Dermis tabakasının kısmi kaybı, ülser yüzeyeldir.
3. Evre: Deri ve Subkutan dokuda kayıp görülür. Deri altı yağ görülebilir ancak kemik, tendon, kas ortaya çıkmaz.
4. Evre: Tam kalınlıkla doku kaybı, kas, kemik ve destek dokularda harabiyet mevcuttur.

Evrelendirilemeyen Evre: Deri veya dokuların tüm tabakalarında kayıp görülür (16).

### **2.2.3. Bası Yarası ve Enfeksiyon**

Bası yarasında oluşan bir enfeksiyon enflamasyon basamağını uzatır. Enfeksiyon tedavi edilemediği sürece bir sonraki basamak gerçekleşmeyeceği için yara iyileşmesi gecikir. Açık yaralar belli mikroorganizmalar tarafından kontaminasyona uğrar. Her kontaminasyon enfeksiyon olarak değerlendirilemez. Bası yarasında enfeksiyonun tanımlanması kolay değildir. Klinik ve mikrobiyolojik

olarak iyi değerlendirilmesi gereklidir. Yaranın enfekte olup olmadığına karar vermek için niceliksel bakteri ölçümü yapılır. Enfeksiyon tanısı konulabilmesi için genellikle dokunun bir gramındaki mikroorganizma sayısının  $10^5$  'i aşması gerekmektedir (17).

Bası yarasında enfeksiyonun tanımlanması için, klinik muayene oldukça önemlidir. Bası yarasının klinik olarak değerlendirilmesinde alanın sıcaklığının artması, duyarlılık, cerahatli akıntı ve kötü koku gibi belirtiler enfeksiyonu belirlemede yardımcıdır. Yara enfeksiyonunun mikrobiyolojik olarak tanımlanmasında, doku biyopsi kültürü altın standarttır. Canlı dokudan alınmalıdır (18).

Yara ve yara etrafında üreyen bakteriler yara iyileşmesinde azalmaya sebep olur ya da yaranın iyileşmesini durdurur. Fakat yara iyileşmesinde yüzeysel kontaminasyon ya da enfeksiyon olup olmaması önem taşır. Bakterilerin yara üzerinde var olması ve sürekliliği yüzeysel kontaminasyondan enfeksiyona doğru ilerlemeyi sağlar. Bu ilerleme 4 kategoriye ayrılır:

#### **1. Kontaminasyon:**

Yara içinde çoğalmayan bakterilerin bulunmasıdır. Bunlar konakta reaksiyon oluşturmeyen bakterilerdir.

#### **2. Kolonizasyon:**

Yara içinde çoğalan bakterilerdir. Konakta hasar oluşumuna sebep olmazlar.

#### **3. Kritik kolonizasyon:**

Yara içinde çoğalan mikroorganizmalar vardır. Kronik yaralarda enfeksiyona doğru ilerleme görülebilir.

#### **4. İnfeksiyon:**

Yaranın içinde ve etrafında çoğalan bakteriler lokal immün yanıtın tetiklenmesine sebep olurlar (19).

Enfeksiyon bası yarasının iyileşmesini engeller. Bası yarası enfeksiyonu belirtileri arasında yavaş veya gecikmiş iyileşme ve soluk granülasyon dokusu bulunur (20).

#### **2.2.4 Bası Yaralarında Üreyen Mikroorganizmalar**

Enfeksiyon, bası yaralarının en önemli komplikasyonlarından biridir. Genellikle *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* türleri, *Enterococcus* ve *Proteus mirabilis* olarak saptanmaktadır. Enfeksiyon oluşumuna bu mikroorganizmalardan herhangi biri neden olabileceği gibi birden fazla mikroorganizmada sorumlu olabilir. Bası yarasında enfeksiyon gelişen spinal kord yaralanması olan 101 hastanın biyopsi kültür sonuçlarının incelendiği bir çalışmada, *Staphylococcus spp.* (%28), *Enterobacter* (%29), *Enterococcus faecalis* (%16) mikroorganizmalarının ürediği saptanmıştır. Spinal kord yaralanması olan ve bakteriyemi gelişen hastaların kültür sonuçları değerlendirildiğinde ise, *Streptococcus*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus mirabilis* ve anaeroblar bakteriyemi etkeni olarak değerlendirilmiştir (55).

##### **1. *Pseudomonas aeruginosa***

1882 yılında Gessard tarafından mavi irin etkeni olarak gösterilmiştir. Daha eski yıllarda bazı yaralarda ve özellikle cerrahi girişimden sonra ameliyat yeri ve gazlı bezlerde yeşil mavimsi bir irin oluşumu göze çarpıyor fakat neden oluştuğunu sebebi bilinmiyordu. *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacterium aeruginosum*, *Bacterium aeruginum*, *Bacillus aeruginosus* gibi isimlerle anılmıştır (21).

##### **Özellikleri:**

*Pseudomonas* türleri, doğada, özellikle nemli topraklarda yaygın şekilde görülen Gram negatif, aerobik, çubuk şekilli bakterilerdir. Tıbbi açıdan en önemli türler arasında yer alır. Organizmayı kültürlerde büyütme için bir terminal elektron alıcısı olarak serbest oksijen gereklidir. *Pseudomonas* enfeksiyonlarının patogenezi karmaşıktır. Organizma, konakçı hücrelere yapışmak için bağlanma pilisini kullanabilir (22).

*Pseudomonas aeruginosa* 1.5-3 µm uzunluğunda ve 0.5 µm genişliğindedir. Kısa zincirler halinde bazen de çift çift görülebilirler. Sporsuz, kapsülsüz ve çomak şeklinde bakterilerdir. Çoğu zaman bir uçlarında bir ila birkaç adet kirpik bulundurur ve çok hareketlidirler. Gram olumsuz bakterilerdir. Katı besiyerlerindeki kolonileri yuvarlak, yumuşak, yassı ortası kabarık beyazımsı renktedir. Bazı kolonileri mukoid görünümdedir. Besiyerine geçebilen piyoverdin ve piyosiyanın adlı pigmentler salgırlar. Piyosiyanın sadece *Pseudomonas*'da bulunur (23).

Kültürlerinde tatlımsı, aromatik meyve kokusunu andıran bir koku vardır (24). 42 °C' de üremesi diğer *Pseudomonas* türlerinden ayrılmasına yardımcı olur. Oksidaz testinde pozitif sonuç verir (25).

### **Dirençlilik:**

*Pseudomonas* türleri ısıya dirençsiz bakterilerdir. Çevre ısısı koşulları altında sularda aylarca canlı kalabilirler. Özellikle hastanelerde daha kolay yaşam alanı bulurlar. Hastanelerde kullanılan merhem, krem ve sıvı maddelerde kolayca barınabilirler. Steril saf su içerisinde bile üreme gösterebilirler. Dörtlü amonyum bileşikleri içeren dezenfektanları bu bakteriler karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilirler. Ampisilin ve Sefalosporin'lerin bir kısmına ürettikleri beta laktamaz enziminin aktivitesine bağlı olarak yüksek derecede direnç gösterirler (21).

## **2. *Klebsiella pneumoniae***

### **Özellikleri:**

İkili, tek tek ya da kısa zincirler şeklinde görülür. Kapsüllü, sporsuz ve hareketsiz Gram negatif çomaklardır. Polisakkarid yapısında geniş kapsülleri vardır. Gram preparatında bakteri etrafında boyanmamış olarak, geniş bir tabaka görülür. Sıvı besiyerlerinde bulanıklık ve dipte çökelti yaparak ürerler. Katı besiyerlerinde ise, mukoid büyük sarımsı gri renkte kolonilerdir. Laktoz fermantasyonu pozitif bakterilerdir (21).

### **Dirençlilik:**

Kuruluğa karşı çok dirençli bakteriler olup, organik maddeler içerisinde kurutulurlarsa uzun süre canlı kalabilirler. Isıya dayanıksızdırlar. Kemoteröpotik maddelere karşı oldukça dirençlidirler. Hastane ortamından izole edilen kökenlerin dirençlilik oranı çok yüksektir (21).

### **3. *Proteus mirabilis***

#### **Özellikleri:**

Gram negatif, sporsuz ve kapsülsüz bakterilerdir. Çok hareketli olmaları sebebiyle katı besiyerlerindeki ekimlerinde besiyerinin bütün yüzeyini kaplayarak buğu şeklinde halkalar yaparak ürerler. Kültürleri kokuşmuş balık gibi kokar (24).

#### **Dirençlilik:**

Gün ışığından uzak nemli ortamlarda uzun süre dayanırlar. Geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamlar, aminoglikozidler kapsayan birçok antimikrobiyale direnç gösterirler. Diğer bakterilerle birlikte hastane enfeksiyonlarına sebep olabilirler. Yara enfeksiyonları, sepsis ve pnömonilerde sıklıkla izole edilirler (26).

### **4. *Acinetobacter baumannii***

Kokobasil, çift çift veya kısa zincirler oluşturan bakterilerdir. Sporsuz ve Gram negatiftirler. Doğada, yiyecek, su gibi ortamlarda yaygın olarak bulunan önceden patojen olarak görülmeyen zamanla artan hastane enfeksiyonlarının önemli bir etkeni olarak kabul edilmektedir. Bakteriemi olgularında, pnömoni, yara enfeksiyonları etkeni olarak izole edilmektedir (24).

#### **Dirençlilik:**

*Acinetobacter baumannii*, karbapenemler de dahil birçok antibiyotiğe direnç gösterir. Dünyanın birçok yerinde yoğun bakımlarda sıklıkla rastlanılan ve çoklu antibiyotik direncine sahip patojen haline gelmiştir. Bu sebeple, yoğun bakımlarda yüksek oranda mortaliteden sorumlu önemli bir etken olarak görülmektedir. Çevrede ve yüzeylerde uzun süre canlı kalabilmeleri, farklı antibiyotiklere direnç genlerini

içeren plazmid, transpozon ve integronlara sahip olmaları, bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların artış göstermesine sebep olmaktadır (3).

## **2.3. BİYOFİLM**

### **2.3.1. Biyofilmin Tarihçesi**

17. yüzyılda biyofilm varlığından söz eden Anthony von Leeuwenhoek kendi dışından almış olduğu birikintilerin içinde yaşayan mikroorganizma topluluğundan bahsetmiştir (27).

1978 yılında, Dr. John William Costerton bakterilerin katı yüzeylere yapışan bir film oluşturan koruyucu biyopolimerik bir matriksle kaplandığı, büyüdüğü biyofilm teorisinin gelişimine öncülük etmiştir (28).

1970'li yıllarda Costerton, dağlarda bulunan akarsuların içinde yaşamını sürdüren bakterilerin %99,9 oranında bir yüzeye yapışarak yaşamlarını sürdürdüklerini ortaya koymuştur (28).

1973 yılında Characklis, endüstriyel su sistemlerinde yaşayan mikrobiyal toplulukları gözlemleyerek yüzeye sıkıca bağlanan topluluğun aynı zamanda klor gibi dezenfektanlara karşı büyük oranda direnç gösterdikleri görülmüştür (29).

Heukelekian ve Heller, deniz mikropları için büyüme ve aktivitenin, yapışabilecekleri bir yüzey varlığında geliştiğini bulmuşlardır (27).

Zobell, Su içerisinde biyofilm yapısına katılan bakterilerin suda serbest dolaşan bakterilere göre daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (30).

### **2.3.2. Biyofilmin Tanımı**

Biyofilmin son yıllardaki tanımı ise “Hücrelerin birbirlerine ve çoğu zamanda bir yüzeye yapışmış farklı fenotipik özellikler gösteren mikroorganizma topluluğunu” içerir. Bu yapışkan hücreler, hücre dışı polimerik maddelerden oluşan (EPS) sümüksü bir hücre dışı matriksin içine gömülü hale gelir. Biyofilm içindeki hücreler, tipik olarak hücre dışı polisakkaritlerin, proteinlerin, lipitlerin ve DNA'nın polimerik bir bileşeni olan EPS bileşenlerinin üretir (31).

Üç boyutlu bir yapıya sahip olduklarından ve mikroorganizmalar için bir topluluk yaşam tarzını temsil ettikleri için mecazi olarak "mikroplar için şehirler" olarak tanımlanmışlardır. Canlı ya da cansız bir yüzeye yapışarak, ekstrasellüler polisakarit matriks içerisine gömülmüş ve hareketsiz biçimde birbirine, sert bir yüzeye ya da bir ara yüzeye geri dönüşümsüz şekilde tutunmuş protein sentezi ve genetik yapı açısından tamamen farklı fenotip gösterebilen mikroorganizmaların oluşturduğu bir topluluk' olarak belirtilmektedir (1).

Bu topluluk, birbirleri arasında etkileşimin olmadığı serbest yaşayan bakteri üremesinden farklıdır. Tek ya da bir çok farklı türden bakteri veya mantar biyofilmde yer alır (25).

Biyofilm içerisindeki bakteri topluluğunun aşağıdaki dört temel kriteri sağladığı düşünülür;

1. Kendi başlarına organize olabilmeye özelliğine sahiptirler.
2. Çevresel düzensizliklere direnç gösterirler.
3. Birlikte olduklarında daha çok etki gösterirler.

4. Çevrede olan değişikliklere karşı tek olarak değil toplu halde karşılık verirler (32).

### **2.3.3. Biyofilmin Temel Bileşeni EPS**

Hücre dışı polimerik maddeler (EPS'ler), mikroorganizmalar tarafından çevrelerine salgılanan yüksek moleküler ağırlıklı doğal polimerlerdir. Bu polimerler biyofilmlerin işlevsel ve yapısal bütünlüğünü oluşturur ve bir biyofilmin fizyokimyasal özelliklerini belirleyen temel bileşen olarak kabul edilir. EPS'ler çoğunlukla polisakaritler (ekzopolisakaritler) ve proteinlerden oluşur, ancak DNA, lipitler ve hüme maddeler gibi diğer makro molekülleri içerir (33).

EPS'ler bakteri yerleşimlerinin yapı malzemesidir. Hücrenin dış yüzeyine bağlı kalır ya da büyüme ortamına salgılanır (33).



Bu bileşikler biyofilm oluşumunda ve hücrelerin yüzeylere yapışmasında önemlidir. EPS'ler, bir biyofilmin toplam organik maddesinin % 50 ila % 90 'ını oluşturur (33).

EPS yapısındaki maddelerin biyofilm yapısındaki rollerini şu şekilde özetlemek mümkündür:

1. Hidrofilik polisakkaritler ve bazı proteinler, su birikimine sebep olurlar.
2. Polisakkaritler ve proteinler, antimikrobiyal maddelere, fagositoza, spesifik veya spesifik olmayan konakçı immün savunma sistemine karşı direnç oluşumuna sebep olurlar.
3. Yüklü polisakkaritler ve proteinler, inorganik iyonların alınımını sağlarlar.
4. eDNA, genetik aktarımın düzenlenmesi suretiyle genetik çeşitliliği sağlar.
5. Hümik bileşikler ve proteinler, elektron verici ve alıcıları olarak enerjetik reaksiyonlarda görev alırlar.
6. Nükleik asitler, enzimler, lipopolisakkaritler ve fosfolipitler içeren membran vezikelleri ve su kanalları, boşaltım sisteminin oluşumuna yardımcı olmaktadır.

Bunlara ilave olarak EPS, hücre dışı enzimlerin bu yapıda toplanmasını sağlamak suretiyle çok yönlü bir sindirim sistemi oluşumunu gerçekleştirir. Bu yolla polimerler, bir yandan besin maddelerinin çözülmesini ve biyofilmi oluşturan mikroorganizmalar için besin ve enerji kaynağı olarak kullanılmasını sağlarlar. Diğer taraftan da biyofilm içerisinde parçalanmış hücrelerin bütün elemanlarını tutarak geri dönüşümü sağlarlar (2).

#### **2.3.4. Biyofilm Oluşumu**

Bir biyofilm oluşumu, serbest yüzer mikroorganizmaların bir yüzeye eklenmesi ile başlar (34). Bir biyofilmin ilk kolonist bakterisi, başlangıçta zayıf van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkiler ile yüzeye yapışabilir (35). Kolonistler derhal yüzeyden ayrılmazsa, pili gibi hücre yapışma yapılarını kullanarak kendilerini

kalıcı olarak demirleyebilirler. Hidrofobik özellik, bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneğini de etkileyebilir. Hidrofobik özelliği arttırılmış bakteriler, substrat ve bakteri arasında itmeyi azaltmıştır. Bazı bakteri türleri sınırlı hareket kabiliyetleri nedeniyle bir yüzeye kendi başlarına başarılı bir şekilde bağlayamazlar, bunun yerine kendilerini matrise veya doğrudan diğer erken bakteri kolonilerine bağlayabilirler. Hareketli olmayan bakteriler yüzeyleri hareketli bakteriler kadar kolay bir şekilde tanıyamazlar. Yüzey kolonizasyonu sırasında bakteriler, N-asil homoserin lakton (AHL) gibi çekirdek algılama (QS) ürünlerini kullanarak iletişim kurabilirler. Kolonizasyon başladıktan sonra, biyofilm hücre bölünmesi ve işe alım kombinasyonu ile büyür. Polisakarit matrisleri tipik olarak bakteriyel biyofilmleri kapsar. Polisakaritlere ek olarak, bu matrisler ayrıca mineraller, toprak parçacıkları ve eritrositler ve fibrin gibi kan bileşenleri dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere çevre ortamdan materyal içerebilir (36).

Biyofilm oluşumunun son aşaması dispersiyon olarak bilinir ve biyofilmin kurulduğu aşamadır, sadece şekil ve büyüklük değişebilir. Bir biyofilm gelişimi, bir toplu hücre kolonisinin antibiyotiklere karşı artan bir şekilde dirençli olmasını sağlayabilir. Hücre-hücre iletişim algılamasının çeşitli bakteri türlerinde biyofilm oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (37).

### **2.3.5. Biyofilm Oluşumu ve Cyclic-di-GMP**

Bakteriler, besinleri güvenceye almak, konakçı hücrelere saldırmak veya koruyucu konsorsiyumlar oluşturmak için biyofilm adında kolonileşme stratejileri geliştirmişlerdir. Gram negatif bakterilerin çoğunda biyofilm oluşumu tek bir molekül tarafından düzenlenir: cyclic-di-GMP (siklik guanozin monofosfat). Düşük c-di-GMP konsantrasyonunda, Gram negatif bakteriler serbest yaşama sahiptirler. Fakat c-di-GMP seviyesi yükseldiğinde, yüzeylerde topluluklar oluşturmaya başlarlar. C-di-GMP'nin hücre içi konsantrasyonu, Gram negatif bakteri bir yüzeye dokunduğunda saniyeler içinde artar. Bu aktiflenme bakterinin yüzeye yapışmasını sağlamlaştırmak için “çapa” görevi gören yapışkan pili üretimini aktive eder. Daha sonraki aşamalarda, bakteriler güçlü bir şekilde yapışan bir matriks üreterek geri dönüşümsüz olarak bağlanmaya başlayacaktır. Aynı zamanda, c-di-GMP, bakterinin yüzmesini engelleyerek flagella sentezini bastırır. Bastırıldığında, biyofilmler daha az yapışır ve tedavi edilmesi kolaydır (45).

### 2.3.6. Mikroorganizmalar Neden Biyofilm Oluşturur?

Bakterilerin yalnız bir şekilde yaşayan formları ile biyofilm oluşturabilen formları arasında değişiklikler görülür.

#### Bakterilerin biyofilm oluşturmasının nedenleri:

##### 1. Savunma

Biyofilm, bazı fiziksel güçlere karşı dayanıklılığa sahiptir. Biyofilm içerisindeki bakteriler, dezenfektan maddelere, fagositoza, pH değişikliğine, besin yoksunluğunun olmasına ve antibiyotik maddelere karşı bağımsız formlarından daha dirençlidirler (29).

##### 2. Adezyon ve Kolonizasyon

Adezyon, bir mikroorganizmanın konak dokuya tutunmasıdır. Bakterinin konakta hastalığa sebep olabilmesi için ilk olarak konak dokuya tutunması gerekir (38).

Konak dokuya tutunup sabit kalabilmek içinde bazı yöntemleri vardır. Bakteriler, konakçının ekstraselüler matriks proteinlerine yapışırlar. Bu adezin ve matriks proteinleri, konakçıya bakterinin aderansında önemli bir yere sahiptir. Belli bir bölgeye yerleşen bakteriler belli bir popülasyona ulaşmak amacıyla çoğalırken bir yandan da biyofilm oluşumuna başlarlar (38).

##### 3. Yaşayabilmek için gerekli çevreyi geliştirmek

Biyofilm oluşumunun, bakteri yüzeyde hayata geçişi tetikleyen çevresel koşulları algıladığında başlaması düşünülmektedir. Bu çevresel sinyaller organizmalar arasında farklılık gösterir (39).

Örneğin, *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens*, büyümeye izin veren hemen hemen her koşulda biyofilmler oluşturacaktır. Öte yandan, bazı *Escherichia coli* K-12 suşları ve *Vibrio cholerae*, aminoasitlerle desteklenmediği sürece, minimum ortamda biyofilm oluşturmayacaktır. Ortamın besin içeriğine ek olarak, biyofilm oluşumunu etkileyebilecek diğer çevresel ipuçları ise sıcaklık, ozmolarite, pH, demir

ve oksijendir (40).

#### **4. Topluluk oluşturmak**

Bakterilerin ortama adapte olmasındaki birliktelik biyofilm oluşumunda sık olarak grlmektedir. Bakteriler biyofilm oluşturduktan sonra ortamdan aldıkları besin, pH ve ısı gibi uyarılar sonucunda hızla bağıqmsız hale geçebilirler. Biyofilm içerisindeki bakterilerin evre faktörlerine aynı yanıtı vermiş olmaları ve fenotipik değişiklikler sergilemeleri toplu olarak yaşamalarının en önemli göstergesidir (41).

#### **2.3.7 Biyofilmin Oluşum Aşamaları**

Biyofilmler, mikrobiyal gelişim sürecinin bir ürünüdür. Süreç, biyofilm geliştirmenin 5 ana aşaması ile özetlenmiştir (40).

1. Tutunma aşaması
2. Bağlanma aşaması
3. Toplanma aşaması
4. Olgun biyofilm oluşturma aşaması
5. Kopya ve ayrılma aşaması

#### **1. Tutunma aşaması**

Biyofilmin oluşmasında ilk basamak yüzey kolonizasyonudur. Bakteriler kamılarını kullanarak yüzeyde ilerler ve kolonize olurlar. Bazı bakteriler aralarında kmeleşmek için piluslarını kullanırlar bazıları ise hücre bölünmesiyle kolonizasyonu başlatırlar. Bakteriler tarafından salgılanan sinyal molekülleri sürekli ama düşük düzeyde salgılanır. Yüzeye tutunan bakterilerin sayıları arttıça sinyal moleküllerinin yoğunluğu da artar. Bu yoğunluktaki artış, biyofilmin oluşmasına yönelik bazı işlemlerin başlamasına sebep olur. Belli bir eşik değerine ulaşıldığında bakteriler yanıt vermeye, gen aktivitelerini ve davranış biçimlerini değiştirmeye başlarlar (42).

## **2. Bağlanma aşaması**

Bakterilerin yüzeye yapışıp, sıkı bir şekilde tutunmasıyla gerçekleşir.

## **3. Toplanma aşaması**

Bakteriler birbirleriyle etkileşerek mikrokoloniler halinde toplanırlar.

## **4. Olgun biyofilm oluşturma aşaması**

Ekstraselüler polisakkarid üretilir. Metabolik yolları ve virülans faktörlerinin üretilmesine etki eden genler aktive olabilir. Ekzopolisakkarid matriks içinde bulunan bakteri konağın immün mekanizmasından korunur. Matriks bazı antimikrobiyal maddelerin diffüzyonunu engeller (25).

## **5. Kopma ve ayrılma aşaması**

Biyofilm kolonisinden hücrelerin dağılması, biyofilm yaşam döngüsünün önemli bir aşamasıdır. Dispersal, biyofilmlerin yeni yüzeyleri yaymasını ve kolonileştirmesini sağlar. Biotin B ve deoksiribonükleaz gibi biyofilm hücre dışı matrisini parçalayan enzimler biyofilm dağılımına katkıda bulunabilir (43, 44).

## **2.4. ÇEVREYİ ALGILAMA (QUARUM SENSING)**

Mikrobiyolojide en dikkat çekici keşiflerden biri uzun yıllardan beri bakteriyel hücrelerin iletişim kurduğu gerçeğidir. Bakterilerde hücreden hücreye iletişim geniş bir yayılım gösterir. Bakterilerde gen ekspresyonunun çekirdek algılama sonuçları ile modülasyonu fenotipik değişikliklerde büyüme sırasında çevresel koşullara daha iyi uyum göstermelerine yol açar (45). Çoğunluk algılanması, ilk olarak Nealson ve ark. tarafından *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi* bakterilerinin biyoluminesansları araştırılırken keşfedilmiştir. O zamandan beri çoğunluk algılanmasının biyofilm oluşumunda, antimikrobiyal maddelerin üretiminde, hareket gibi birçok çeşitli mekanizmada rol oynadığı görülmüştür (46).

Hücreler arası iletişimin sağlanması otoindüser adındaki sinyal molekülleri tarafından gerçekleştirilir. Bakterilerin çoğalması sırasında bu sinyal molekülleri düşük konsantrasyonda üretilir ve gizlenir. Otoindüser sinyal moleküllerinin

konsantrasyonu arttığında bakteri popülasyonu artar ve belli bir seviyeye ulaştığında çekirdek algılayıcıya bağımlı hedef gen ekspresyonunu düzenleyerek fenotipik etkileri indükler (47).

Çekirdek algılamasıyla modüle edilen çeşitli işlemler genellikle bakterilerin zarar gördüğü durumlarda yürütülür ve stresli koşullar altında bakterilerin hayatta kalmaları sağlanır. Quorum algılama başlıca virülansın düzenlenmesi, genetik yeterlilik, konjugatif plazmitlerin transferi, sporülasyon, biyofilm oluşumu, antimikrobiyal peptid sentezi gibi olayların içeriğinde yer alır (48).

#### **2.4.1 Çevreyi Algılama ve Biyofilm Oluşumu**

Çevreyi algılamanın, tamamen gelişmiş ve sağlıklı biyofilm oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir. Biyofilmin tanımlanmış mimarisinin karmaşık ve çok katmanlı yapıları, bakteri topluluklarının korunmuş bir ortamda yaşamalarına yardımcı olur (40).

Biyofilm oluşumu, mikrobiyal yüzey tutturma, hücreden hücreye toplanma ve çoğalma, ekzopolisakkarit matris üretimi, büyüme, olgunlaşma ve son olarak biyofilm ayrılma veya bozunması ile başlayan çok adımlı bir işlemdir (49).

Quorum algılama sistemleri, biyofilm oluşumunun tüm aşamalarında yer almaktadır. Mevcut biyofilm içerisinde popülasyon yoğunluğunu, metabolik aktiviteleri, mevcut besinsel talep ve kaynaklara uyacak şekilde düzenlerler. Biyofilmlerde bulunan bakteriler, aynı suştaki serbest yaşayan bağımsız bakterilerden belirgin şekilde farklı transkripsiyonel programlara sahiptir (50).

Quorum algılama sistemlerinin, bakterilerin biyofilmin hücre dışı matriksinden salınmasında da etkili olduğu görülmektedir. Biyofilmler tarafından korunan alan, bakterilerin içinde bulunduğu hücre dışı matristen kaçmalarını engeller. Biyofilmdeki popülasyon yoğunlukları yükseldiğinde bakteri çevreye salınır. Stafilokokların polisakkarit hücre içi adezyon üretimini azaltmak ve bakterilerin biyofilmden kaçmasına izin vermek için AI-2 sinyallerini kullandıkları bilinmektedir (51).

Çekirdek yoğunlaştırma kontrolü altındaki deterjan özelliklerine sahip kısa peptitler ayrıca hücre yoğunlukları yüksek olduğunda, biyofilmler için bakteri salgılamak üzere kullanılır. Biyofilmlerdeki sapsız bakteriler, bakteri popülasyonları genişledikçe sürekli bir planktonik bakteri kaynağı sağlar (51).

## **2.5 BİYOFİLM VE ENFEKSİYON HASTALIKLARI**

Tüm bakteriyel enfeksiyonların yaklaşık % 65' inin bakteriyel biyofilmlerle ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (52).

Bunlar hem cihaz hem de cihazla ilişkili olmayan enfeksiyonları içerir. Cihazla ilişkili enfeksiyonlar için veriler, meme implantları için % 2; eklem protezleri için % 2; mekanik kalp kapakçıkları için% 4; ventriküler şantlar için% 10; kalp pili ve defibrilatör için% 4 ve ventriküler destekli cihazlar için yaklaşık % 40 olarak tahmin edilmiştir (53).

Doğal kapak endokardit, bakterilerin kalbin vasküler endotel ve pulmonik kapakçıklarla etkileşiminin neden olduğu bir iltihaptır. Bu genellikle streptokok, stafilokok, Gram negatif bakteri ve/veya mantar enfeksiyonlarının sonucudur (54).

Bu durumda mikrobiyal hücreler, gastrointestinal sistem, idrar yolu ve / veya orofarinks aracılığıyla kalbe ve kana erişirler. Sağlam kapak endoteli, kendisine bağlanan mikroorganizmalar tarafından zarar gördüğünde, bakteri bağışıklık sistemi tarafından temizlendikten sonra bile, yaralanma yerinde bir bakteriyel olmayan trombotik endokardit gelişir ve bunun sonucunda bir trombüs oluşumu meydana gelir. Trombüs; trombositlerin, kırmızı kan hücrelerinin ve fibrinlerin toplandığı duruma denir (29).

### **2.5.1 Cihazla İlgili Biyofilm Enfeksiyonları**

Biyofilmler genellikle kontakt lensler, santral venöz kateterler, mekanik kalp kapakçıkları, periton diyaliz kateterleri, protez eklemleri, kalp pilleri, üriner kateterler ve ses protezleri gibi kalıcı tıbbi cihazlar üzerinde veya içerisinde meydana gelir (55). Biyofilmler yalnızca bir tek veya farklı türdeki mikrobiyal türlerden oluşabilir. Bu, cihazlara ve işlem sürelerine bağlıdır (36).

Kontakt lensler yumuşak ve sert kontakt lensler olarak sınıflandırılır. Mikroorganizmalar her iki lens tipine de yapışabilir. Kontakt lenslere tutturulan mikroorganizma türleri esas olarak *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida*, *Serratia* ve *Proteus* vb. şeklindedir, ancak lenslere yapışma dereceleri de önemlidir (29).

Biyofilm oluşumu santral venöz kateterlerde evrenseldir, ancak biyofilm oluşumunun yeri ve kapsamı kateterizasyon süresine bağlıdır. Örneğin, kısa süreli (<10 gün) bir kateter dış yüzeyde daha fazla biyofilm oluşumuna sahipken, uzun süreli kateterler (30 gün) kateter lümeninde daha büyük biyofilm oluşumuna sahiptir (56).

### **2.5.2 Cihazla İlgili Olmayan Enfeksiyonlar**

Periodontitis dişeti enfeksiyonudur. Bu enfeksiyonda yumuşak dokulara ve ayrıca dişleri destekleyen kemiklere zarar verir (57). *Fusobacterium nucleatum* ve *Aerobicus* spp. periodontitisin etkenleri arasındadır. Bu mikroorganizmalar ayrıca ağız boşluğundaki mukozal yüzeyler dahil olmak üzere çeşitli yüzeylerde biyofilmler oluşturma kabiliyetine sahiptir (58).

Osteomyelit, bakteri hücreleri veya mantarların neden olabileceği bir kemik hastalığıdır. Bakteriler kemiklere kan dolaşımından, travmadan veya önceki enfeksiyonlardan girerler (59).

Mikroplar kan dolaşımına girdiğinde ve kemiğin metafizi enfekte olduğunda, bu durum beyaz kan hücrelerinin bölgeye alınmasına yol açar. Bu beyaz kan hücreleri, enzimleri salgılayarak patojenleri fagositoz veya lize etmeye çalışır. Bu enzimler, irin oluşumuyla sonuçlanan kemiği parçalayabilir ve kemik kan damarlarından yayılır, böylece doğru kan akışını durdurabilir ve doku hasarına ve etkilenen kemik alanlarının işlevinin bozulmasına neden olabilir (60).



## 2.6 ANTİMİKROBİYAL DİRENÇ

### 2.6.1 Kemoterapötik Maddelerin Tarihçesi ve Tanımı

Kimyasal maddelerin organizma dışındaki ortamda mikroorganizmalar üzerinde öldürücü veya üremelerini durdurucu etkilerine bakılarak hastalıkların tedavisinde bu maddelerden yararlanma fikri oldukça eskidir. 17. yüzyıldan itibaren sıtma ve amipli dizanteriye karşı kullanılan emetin ve kinin gibi maddeler ilk kimyasal tedavi maddeleri arasında yer almaktadır. Kemoterapinin temellerini 20. Yüzyılın başında Paul Ehrlich tarafından ortaya atılmıştır. Kemoterapötik maddeler, çok küçük miktarlarda mikroorganizmalar üzerinde zarar verici etkileri büyük, organizma üzerindeki etkileri ise çok küçük olan ya da hiç olmayan, enfeksiyon hastalıklarının tedavisi amacı ile kullanılan kimyasal maddelerdir. Kemoterapide Paul Ehrlich tarafından ortaya atılan ilk adımlardan sonra asıl gelişmeler 1935’de Domagk’ın ilk sülfanomidleri tedaviye sokmasından sonra görülür. 1929 yılında Fleming tarafından bulunan ve toksik etkileri sebebiyle kemoterapiye sokulamamış olan ancak laboratuvar çalışmalarında kullanılan Penisilin 1940 yılında Chain ve Florey’in çalışmalarıyla kemoterapi alanına girmiştir. Penisilin kemoterapi alanına girmesi, kimyasal maddelerle tedavide yeni ufukların açılmasına neden olmuş ve antibiyotiklerin ortaya çıkmasına sebep olmuştur (15).

### 2.6.2 Antimikrobik İlaçlara Direnç

Direnç, bakterinin antimikrobiyal maddelerin öldürücü ya da üremeyi durdurucu etkilerine karşı koyabilme yeteneğidir. Mikroorganizmalar, antimikrobiyal maddelere çeşitli mekanizmalar yoluyla direnç gösterebilirler (25).

1. Mikroorganizmalar aktif antimikrobiyal maddeleri parçalayan enzimler üretebilirler.

En sık görülen direnç mekanizması, beta laktam halkasının hidrolize edilmesidir. Bu grup antibiyotikleri inaktive etmek için beta laktamaz üretirler. Penisilin G’ye direnç gösteren stafilokoklar ilacı parçalayan beta laktamaz enzimi üretirler (25).

2. Mikroorganizmalara ilaçlara karşı geçirgenliklerini değiştirebilirler. Tetrasiklinler kendilerine duyarlı olan bakteri hücrelerinin içinde birikirken, dirençli bakteri hücrelerinde ise hücre içine giremezler (25).

3. Mikroorganizmalar ilaın hedeflediği bölgede değişiklikler yaparak farklı bir hedef oluştururlar. *S. pneumoniae* ve enterokoklarda penisilin direnci penisilin bağlayıcı proteinlerin farklılaşmasına bağlıdır (25).

4. Mikroorganizmalar ilaçların inhibe ettikleri reaksiyonlara karşı farklı metabolik yollar geliştirirler (25).

5. Mikroorganizmalar ilaıtan daha az etkilenen farklı enzimler üretirler (25).

### **2.6.3 Biyofilm ve Antimikrobiyal Direnç**

Ekzopolisakkarid matriks içerisinde yer alan bakteri konağın immün mekanizma sisteminden korunur (18).

Biyofilm tabakası içerisinde bulunan bakterilere ve kullanılan ilaılara bağlı olarak biyofilm direncinin etki gösterdiği mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalar, biyofilm içerisine antimikrobiyallerin giriş yapmasının kimyasal ya da fiziksel bariyer oluşturulması, besin sınırlandırılmasına bağlı olarak biyofilm oluşumunun yavaşlatılması ve biyofilme bağlı fenotipin ortaya çıkmasını içerir (22).

Antimikrobiyal maddelerin biyofilm içerisine tamamen giriş yapamaması biyofilm matriksini meydana getiren polimetrik maddenin antibiyotiklerin hücre içerisine geçişini engellediği bilinmektedir. Biyofilm içerisindeki mikroorganizmaların besin sınırlanmasından dolayı yavaş büyüme evresine geçtiği bu sebepten dolayı antibiyotiklere karşı direnç gösterdikleri düşünölmektedir. Besinlerin sınırlandırılmasına bağlı olmayan genel strese karşı bir cevap olarak da büyümenin yavaşladığı görölmektedir (23).

Sıvı ortamda serbest bir şekilde üreme gösteren bakterilere oranla biyofilm içerisinde bakteriler antimikrobiyal maddelere önemli ölçekte direnç gösterirler. Bu ise, biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinin zor olduğunu açıklamaktadır (18).

## 2.7 DİRENÇ FAKTÖRLERİ

Biyofilmlerde antibiyotik direncinin ortaya çıkmasında rol oynayan bazı faktörler;

### 2.7.1. Mutasyon

Biyofilm ortamında büyüyen bakterilerde mutasyonların görülme sıklığı, serbest ortamda yetişen bakterilere kıyasla anlamlı derecede daha yüksektir ve ek olarak yatay gen transferinin de biyofilm içinde daha yüksek olduğu bulunmuştur (61).

Bu fizyolojik koşullar, bakteriyel biyofilmlerin çoklu ilaç direncinin arkasındaki nedeni açıklar. Bu bakteriler, aminoglikositlere, florokinolonlara ve beta laktam antibiyotiklere kolayca dirençli hale gelir. Bakteriyel biyofilmler aynı anda antibiyotik degradasyon enzimleri üretebilir. Deneysel olarak, bakteriyel biyofilmlerdeki mutasyonların, özellikle çoklu ilaç etkisiz pompalarının ekspresyonu nedeniyle, antibiyotik direncinin yüzeyini oluşturduğu gösterilmiştir. Mutasyon kabiliyetinin artmasının sebebi, bakteriyel biyofilmlerin maruz kaldığı oksidatif stresin bir sonucu olarak kabul edilir (62).

### 2.7.2 Dirençli Fenotip Varlığı

Biyofilmin olgunlaşması sürecinde bazı bakteriler daha dayanıklı fenotipik yapı gösterebilir. Dirençli fenotip, belirli çevresel stres türleri, besin kısıtlamaları, yüksek hücre yoğunluğu veya tüm bu olayların birleşmesiyle indüklenebilir. Biyofilm hücrelerinde antibiyotik direncini indüklemeye yönelik başka bir mekanizma, antibiyotik ajanlarına maruz kalmasına yanıt olarak membran-protein bileşimi değişimidir. Elde edilen değişim, hücrenin bu maddelere geçirgenliğini azaltabilir (1).

### 2.7.3. Stres ve Hasara Karşı Bakteriyel Adaptasyon

Bakteriyel biyofilmlerin antibiyotik direncinin bir diğer nedeni de bakterilerin stres koşullarına adapte olabilmesidir. Bakteriyel biyofilmler, strese cevap genlerini açarak sıcaklık değişiklikleri, ozmolaritede değişiklikler, pH, hücre yoğunluğu ve

beslenme kalitesi gibi yaygın çevre-zihinsel streslerle karşı karşıya kaldıklarında kendilerini daha toleranslı fenotiplere döndürebilirler (63).

#### **2.7.4. Antibiyotik Penetrasyonunun Başarısızlığı**

Glikokaliks veya ekzopolisakkarit matris üretimi, biyofilmlerin ayırt edici özelliklerinden biridir. Bu matris, diğer işlevleri yerine getirmenin yanı sıra, antibiyotiklerin toplumda yerleşik olan bakteriyel hücrelere erişmelerini de önler (63).

Araştırmacılar, antibiyotik siprofloksasinin kolonize yüzeye taşınma oranının steril bir yüzeye kıyasla azaldığını göstermek için kızıl ötesi spektroskopiden faydalanmış, siprofloksasinin düşük penetrasyonunun biyofilm bileşenlerine bağlanmasından dolayı olduğu öne sürülmüş ve biyofilm matrisine adsorbe edilen antibiyotik ajanların bile geciktirilmiş bir penetrasyona sahip olduğu gösterilmiştir (61).

## **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. GEREÇ**

#### **3.1.1. Besiyerleri ve Kimyasal Bileşikler**

- Kanlı Agar (GBL)
- Brain Heart Infusion Broth (BIOLIFE)
- Bacteriological Agar (CONDA)
- Sukroz (WISENT)
- Kongo Kırmızısı (ISOLAB)
- Triptik Soy Broth (MERCK)
- Etanol (ISOLAB)
- Kristal Viyole (MERCK)
- Aseton (ISOLAB)

#### **3.1.2. Cihazlar**

- 96 Kuyucuklu Mikrotitrasyon Plağı (NEST)
- Spektrofotometre
- Hassas Terazî
- Otoklav (SANYO)
- Etüv (Heraeus)
- Vorteks (Dragon Lab)
- Cam Balonlar (Lamtek)
- Plastik Petriler (9 mm çapında, steril)
- Plastik Öze (Steril 10)
- Mikropipetler (Soccorex)
- -20 °C derin dondurucu (Uğur)
- Vitek 2 (Biomerieux)
- Mikroskop (Olympus CX31)

### 3.1.3 Bakteri Suşları

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Palyatif biriminden Ocak 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında alınan kronik bası yarası örnekleri Klinik Mikrobiyoloji laboratuvarı'nda değerlendirildi. 36 kronik bası yarasından toplam 67 suş izole edildi. Kontrol olarak güçlü biyofilm oluşturan *S. aureus* ATCC 43300 kullanıldı. Suşları uzun süre muhafaza etmek amacıyla Triptik soy broth besiyerine ekimleri yapıldı. -20°C'de saklandı. Suşlar çalışılmadan evvel Koyun kanlı agara pasajları alındı. Taze kültürlerden elde edilen koloniler çalışmaya alındı.

Suşların VITEK cihazı ile tür tayini yapıldı. Örnekler kanlı agara ekilerek 37 °C 24 saat inkübe edildi. Koloni morfolojisi ve Gram boyama özellikleri dikkate alınarak tanımlamada konvansiyonel yöntemlerden faydalanıldı.

Çalışma için Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan HNEAH-KAEK 2017/155 (HNEAH KAEK 2017/KK/155) karar numarası ile izin alınmıştır. Bu çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünce 2018/031 proje numarası ile desteklenmiştir.

## 3.2 YÖNTEM

### 3.2.1. Hastaların Seçimi

Yatağa bağımlı, evre 3 ve 4 bası yarası olan hastalar, 18 -80 yaş arası olan hastalar araştırmaya dahil edilmiştir. Kanama pıhtılaşma bozukluğu olan hastalar ve onam vermeyen hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Prospektif bir araştırmadır.

### 3.2.2. Örneklem Büyüklüğü

Çalışma evreninden basit tesadüfi örnekleme yöntemi ile örneklem genişliği hesaplaması yapıldığında, gerekli değerler formülde yerine konulduğunda toplanması gereken minimum olgu sayısı 34 olarak hesaplanmıştır.

### 3.2.3. İstatistiksel Yöntem

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri

değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, frekans) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

#### **3.2.4. Yara Örneğinin Alınması**

Yara, steril serum fizyolojik ve steril gazlı bezle yıkandı. Yara yüzeyindeki ölü doku uzaklaştırıldı. Yara yatağından bistüri ile 3 ile 4 mm büyüklüğünde doku parçası alındı. Alınan örnek steril taşıma kabı içinde laboratuvara gönderildi.

#### **3.2.5. Yara Kültürü Değerlendirme**

Yara örnekleri tiyoglikolatlı sıvı besiyerinde 24 saat bekletildi. 24 saat bekletildikten sonra koyun kanlı agar, MacConkey agar ve çukolata agara ekim yapıldı. 37 °C 24 saat inkübe edildi. Gram Boyalı preparatta direkt inceleme yapıldı. Hücre (lökosit, epitel) ve bakteri sayımı yapıldı. 10X objektifle 20-40 saha tarandı. 100X objektifle 10 saha tarandı.

#### **3.2.6. Mikroorganizmaların İdentifikasyonu**

İzole edilen mikroorganizmalar katalaz, koagulaz, oksidaz testleri ve hemoliz oluşturma özellikleri dikkate alınarak değerlendirildi. İdentifikasyon için mikroorganizmaların saf pasajları alındı. Vitek cihazı ile tür tayini yapıldı. Tür olarak tanımlanan suşlar -20 °C stok besiyerine kaldırıldı.

#### **3.2.7. Biyofilm Oluşumunun Değerlendirilmesi**

Biyofilm oluşumunun değerlendirilmesinde Kongo kırmızılı agar ve Mikroplak yöntemi kullanıldı.

##### **3.2.7.1 Kongo kırmızılı agar yöntemi**

##### **Kongo kırmızılı agarın hazırlanması:**

##### **Formül:**

- 1 litre Distile su
- 10 gr Agar

- 50 gr Sukroz
- 37 gr Beyin Kalp İnfüzyon Buyyon
- 0.8 gr Kongo Kırmızısı

#### **Besiyerinin hazırlanması:**

10 gr agar, 50 gr sukroz, 37 gr beyin kalp infüzyon buyyon 950 ml distile suda çözüldü. 0.8 gr kongo kırmızısı 50 ml distile suda eritilerek 121°C’de 15 dk otoklavda sterilize edildi. Hazırlanan besiyeri 9 mm çapındaki steril plastik petrilere dağıtıldı.

#### **Deneyin Yapılışı:**

Test edilecek mikroorganizma suşları ve güçlü biyofilm oluşturduğu bilinen *S. aureus ATCC 43300* pozitif kontrol olarak, koyun kanlı agara tek koloni düşecek şekilde ekilip 24 saat 37°C’de inkübe edildi. Koyun kanlı agara ekilen mikroorganizma suşlarından bir koloni alınarak kongo kırmızılı agara pasajları yapıldı. 37 °C’de 24 saat inkübe edildi. Deney üç defa tekrarlandı.

#### **Değerlendirme:**

Koyu kırmızı kuru yüzeyli koloniler biyofilm pozitif, pembe-şeffaf koloniler ise biyofilm negatif olarak değerlendirildi(64).

### **3.2.7.2 Mikroplak Yöntemi**

#### **Mikroplak yönteminin hazırlanması:**

##### **Formül:**

- Triptik Soy Broth (TSB)-30 gr
- Glukoz-20 gr
- Distile Su
- %1’lik Kristal viyole boyası
- Etanol
- Aseton
- Fosfat Tamponu (PBS)



- 96 Kuyucuklu düz tabanlı mikroplak
- Spektrofotometre

### **%2 Glukoz içeren Triptik Soy Broth besiyerinin hazırlanışı:**

- 1 litre Distile su
- 30 gr Triptik soy broth
- 20 gr Glukoz

Triptik soy broth distile suda çözdürüldü. 20 gr glukoz eklenip distile suda çözdürüldü. 121°C' de 15 dakika otoklavlandı.

### **%1'lik Kristal viyole boyası hazırlanışı:**

#### **Ana karışım:**

- 20 cc Alkol
- 1 gr Kristal Viyole

#### **Esas karışım:**

- %1 Ana karışım
- %1 Acid fenic
- %98 Distile su

20 cc alkol ve 1 gr kristal viyole boyası karıştırıp ana karışım elde edildi. Esas karışım için %1 oranında ana karışım ve %98 distile su karıştırıldı. %1 oranında fenik asit benmaride eritilerek soğutuldu ve karışımın içine eklendi. Boyanın dibe çökmemesi için belirli aralıklarla çalkalandı.

### **Deneyin yapılışı:**

Taze kültürlerinden birer koloni alınan mikroorganizmalar içinde Triptik soy broth besiyeri bulunan tüplere inoküle edildi. İnoküle edilen mikroorganizmalar 37°C' de 24 saat süresince inkübasyona bırakıldı. 1/100 (990 mikrolitre besiyeri +10 mikrolitre bakteri süspansiyonu) oranında seyreltilen mikroorganizmalar 150 mikrolitre ölçeğinde 96 kuyucuklu mikroplaklara her bir örnekten ayrı ayrı 3 kuyucuk olacak şekilde aktarıldı. Negatif kontrol için her mikroplağa 3 kuyucuk

olacak şekilde sadece besiyeri eklendi. Pozitif kontrol olarak ise *S.aureus ATCC 43300* suşu her bir mikroplağın 3 kuyucuğuna aktarıldı. Mikroplaklar 37°C’ de 48 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra plaklar etüvden alınarak, kuyucuklardaki besiyeri boşaltılarak, fosfat solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Ardından kuyucuklara 150 mikrolitre %1’ lik Kristal viyole çözeltisi ilave edilerek boyanmanın gerçekleşmesi için plaklar 30 dk bekleme alını. Kuyucuklardaki Kristal viyole çözeltisi 3 kez fosfat tamponu ile yıkandı. Kuruyan plaklara 150 mikrolitre etanol-aseton çözeltisi ilave edilerek, boyanan biyofilm tabakasının çözülmesi sağlandı. Ardından mikroplaklar, 540 nm’ de spektrofotometre cihazında okutuldu. Kuyucuklara konulan pozitif ve negatif kontroller ile elde edilen absorban değerleri karşılaştırıldı.

### **3.8. Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi**

Her bir örnek için iki tüp alındı. Vitek solüsyonundan tüplere 3 ml olacak şekilde koyuldu. Birinci tüp bakteri tanımlaması için, ikinci tüp antibiyogram için kullanıldı. Hazırlanan bu tüplere Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler için 0,5 McFarland olacak şekilde süspansiyon hazırlandı. Antibiyogram için hazırlanan tüpe aktarıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastalar ve Mikroorganizmalar

Çalışma Grubu, Ocak 2018 - Ağustos 2018 tarihleri arasında yaşları 38 ile 79 arasında değişmekte olan, 20'si (%55.6) erkek ve 16'sı (%44.4) kadın olmak üzere toplam 36 hastadan oluşmaktadır. Çalışmada bu 36 hastadan alınan bası yarası örneğiyle çalışılmıştır. Olguların yaş ortalaması  $72.61 \pm 9.2$ 'dir.

**Tablo 4.1.** Çalışma parametrelerinin dağılımı

		n	%
<b>Yaş</b> <i>Min-Max, Ort±SS</i>		38-79	72,61±9,2
<b>CRP (n=31)</b> <i>Min-Max, Ort±SS</i>		1,6-23,7	12,03±5,81
<b>Glukoz (n=22)</b> <i>Min-Max, Ort±SS</i>		81-359	154,54±73,79
<b>WBC (n=35)</b> <i>Min-Max, Ort±SS</i>		2,59-23,76	11,54±4,24
<b>Cinsiyet</b>	Erkek	20	55,6
	Kadın	16	44,4
<b>Tıbbi tanı</b>	Diabetes mellitus	11	30,6
	Hipertansiyon	9	25
	Alzheimer	8	22,2
	Parkinson	7	19,4
	Serebral Enfarktüs	3	8,3
	Serebrovasküler	8	22,2
	Demans	4	11,1
	Epilepsi	2	5,6
	Bipolar bozukluk	1	2,8
	KOAH	1	2,8
	Kronik Hastalık	32	88,9
	Kanser	2	5,6
<b>Örneğin alındığı bölge</b>	Sağ Kalça	5	13,9
	Sağ Trokanterik Bölge	4	11,1
	Sakral Bölge	23	63,9
	Sırt	1	2,8
	Sol Femur Başı	1	2,8
	Sol Tibial Bölge	2	5,6
<b>Bası yarasının derecesi</b>	3. Evre	16	44,4
	4. Evre	8	22,2
	Evrelendirilemeyen evre	12	33,3
<b>Kültür sonucu</b>	<i>P. aeruginosa</i>	18	50
	<i>P. mirabilis</i>	7	19,4
	<i>E. coli</i>	5	13,9
	<i>Acinetobacter spp.</i>	6	16,7
	<i>P. stuartii</i>	8	22,2
	KNS	1	2,8
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	22,2
	Non-candida albicans	1	2,8
	Mikroorganizma üremedi.	3	8,3
	<i>E. faecalis</i>	4	11,1
	<i>Corynebacterium striatum</i>	1	2,8

Olguların yaşları 38 ile 79 arasında değişmekte olup, ortalaması  $72.61 \pm 9.2$  idi. CRP (c-reaktif protein) değerleri 1.6 ile 23.7 arasında değişmekte olup, ortalaması  $12.03 \pm 5.81$  idi. Glukoz değerleri 9.2 ile 359 arasında değişmekte olup, ortalaması  $151.28 \pm 78.63$  idi. WBC (white blood cell) değerleri ise 2.59 ile 23.76 arasında değişmekte olup, ortalaması  $11.54 \pm 4.24$ 'dü.

Olguların %55.6'sı (20) erkek, %44.4'ü (16) kadındı. %30.6'sına (11) *diabetes mellitus*, %25'ine (9) *hipertansiyon*, %22.2'sine (8) *alzheimer*, %19.4'üne (7) *parkinson*, %8.3'üne (3) *serebral enfarktüs*, %22.2'sine (8) *serebrovasküler*, %11.1'ine (4) *demans*, %5.6'sına (2) *epilepsi*, %2.8'ine (1) *bipolar bozukluk*, %2.8'ine (1) *KOAH*, %88.9'una (32) *kronik hastalık* ve %5.6'sına (2) *kanser* tanısı konulmuştu. Örnekler, %63.9 (23) oranında *sakral bölgeden*, %13.9 (5) oranında *sağ kalçadan*, %11.1 (4) oranında *sağ trokanterik bölgeden*, %5.6 (2) oranında *sol tibial bölgeden*, %2.8 (1) oranında *sırttan* ve %2.8 (1) oranında ise *sol femur başından* alındı.

Olguların %44.4'ünün (16) bası yarası derecesi 3. evre iken, %22.2'sinin (8) 4. evre, %33.3'ünün (12) evrelendirilemeyen evreydi. Olguların %41.7'sinde (15) tek tür, %58.3'ünde (21) ise 2 ve üzeri bakteri izole edildi. Alınan örneklerden yapılan kültürler sonucunda örneklerin %50'sinde (18) *P. aeruginosa*, %22.2'sinde (8) *P. stuartii*, %22.2'sinde (8) *Klebsiella pneumoniae*, %19.4'ünde (7) *P. mirabilis*, %16.7'sinde (6) *Acinobacter spp*, %13.9'unda (5) *E. coli*, %11.1'inde (4) *E. faecalis*, %2.8'inde (1) *Corynebacterium striatum*, %2.8'inde (1) KNS, %2.8'inde (1) *Non-candida albicanslar* ürerken, %8.3'ünde (3) ise mikroorganizma üremedi.

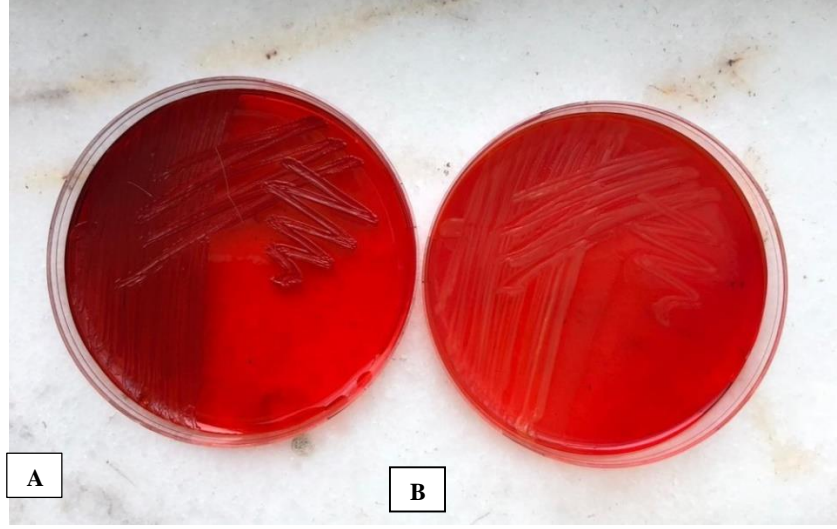
**Tablo 4.2.** Boyama sonuçlarının dağılımı

Hasta	Üreyen Bakteriler	PNL
1	Gram(-) basil	-
2	Gram(-)basil	-
3	Gram(-) kokobasil	+
4	Gram(-) basil	+
5	Gram(-) kokobasil	-
6	Gram(+) kok	-
7	Gram(+) kok, Gram(-) basil	-
8	Gram(-) basil	-
9	Gram(-) basil	-
10	Gram(-) basil	-
11	Gram(-) basil	-
12	Gram(+) kok, Gram(-) basil	-
13	Gram(+) kok, Gram(-) basil	-
14	Gram(-) basil	+
15	Üreme görülmedi.	-
16	Gram (-) basil	+
17	Gram(+) kok, Gram(-) basil	-
18	Gram(-) kok,kokobasil	-
19	Gram(-) basil	-
20	Gram(-) basil	+
21	Gram(-) basil	+
22	Gram(-)basil	-
23	Gram(-)basil	-
24	Gram(+) kok	-
25	Gram(+) zincir kok, Gram(-) basil	+
26	Gram(-) basil	+
27	Gram(-) basil	+
28	Gram(-) basil	+
29	Gram(-) basil	+
30	Gram(+) diplokok, Gram(-) basil	+
31	Gram(+) diplokok, Gram(-) basil	-
32	Gram(-) basil	+
33	Gram(+) diplokok, Gram(-) basil	+
34	Gram(+) kok, Gram(-) basil	+
35	Gram(-) basil	-
36	Gram(+) kok, Gram(-) basil	-

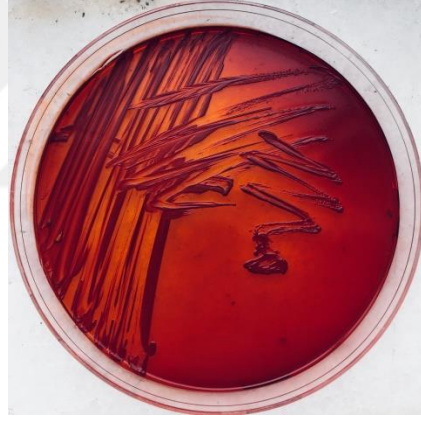
Boyama sonuçlarının dağılımı Tablo 4.2’de verilmiştir.

#### **4.2. Biyofilm Oluşumunun Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi ile Değerlendirilmesi**

Kongo kırmızılı agar besiyerine ekimi yapılan 67 izolat 37°C’de 24 saat inkübe edildi. Koyu kırmızı kuru koloni morfolojiye sahip suşlar biyofilm pozitif, pembe-şeffaf suşlar ise biyofilm negatif olarak değerlendirildi. (Resim 4.1).



**Resim 4.1.** Biyofilm Oluşumunun Kongo kırmızılı agar yöntemi ile değerlendirilmesi (**A**-Biyofilm pozitif, **B**- Biyofilm negatif ) (Çalışmadan alınmıştır.)

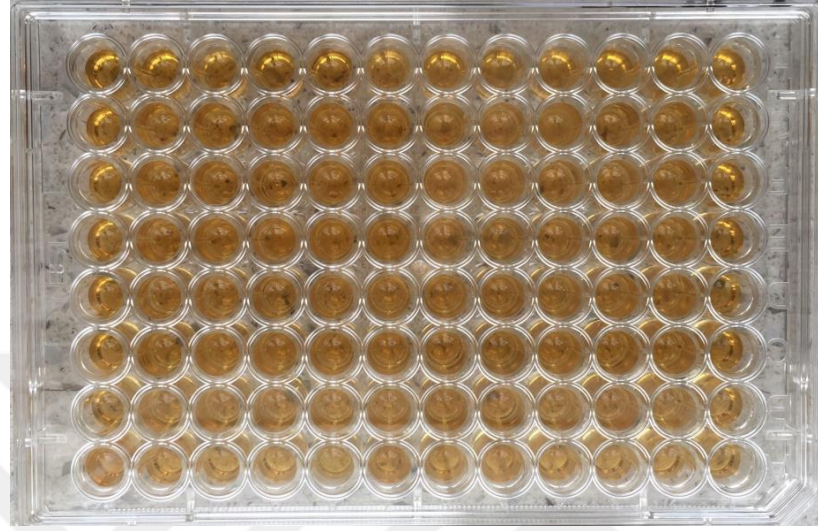


**Resim 4.2.** Biyofilm Pozitif (Çalışmadan alınmıştır.)

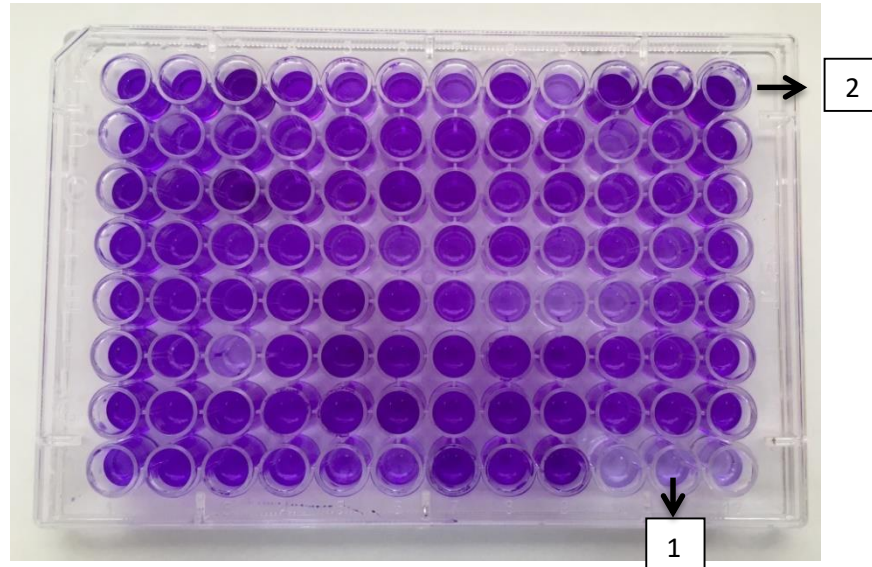
#### 4.3. Mikroplak Yönteminin Değerlendirilmesi

Mikroplak yönteminde inkübasyonun ardından kristal viyole boyası ile boyanarak 570 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında 3 defa okutularak absorbans değerleri ölçüldü. (Resim 4.3). Ölçülen sonuçların ortalaması alınarak referans aralıkları belirlendi. Biyofilm;  $OD < 0.295$  ise negatif,  $0.295 < OD < 0.590$  ise zayıf biyofilm (+),  $0.590 < OD < 1.180$  orta biyofilm (++) ,  $1.180 < OD$  güçlü biyofilm (+++) olarak değerlendirildi. Sonuçlar, biyofilm oluşturan *S. aureus* ATCC 43300 ve

sadece Triptik soy besiyeri içeren kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleriyle karşılaştırılarak yorumlandı. (Resim 4.4).



**Resim 4.3.** İnkübasyon için kuyucuklara eklenmiş mikroorganizma solüsyonunun görüntüsü (Çalışmamızdan)



**Resim 4.4.** Biyofilm oluşumunun Mikroplak yöntemi ile değerlendirilmesi **1:** Biyofilm negatif, **2:** Biyofilm pozitif (Çalışmadan alınmıştır.)

**Tablo 4.3.** Mikroplak yöntemi ve değeri, kongo kırmızılı agar yöntemi, kongo kırmızılı agar ve bakteri türlerinin dağılımı

		N	%
<b>Mikroplak Yöntemi değeri</b> <i>Min-Max, Ort±SS</i>		0,30-2,90	1,54±0,68
<b>Bakteri Türü</b>			
	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	6	8,9
	<i>Acinetobacter</i> spp.	1	1,6
	<i>Corynebacterium striatum</i>	1	1,6
	<i>E. coli</i>	4	6,0
	<i>E. faecalis</i>	3	4,5
	<i>Enterococcus faecium</i>	1	1,6
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	11,8
	KNS	1	1,6
	Non-candida albicans	2	2,9
	<i>P. aeruginosa</i>	22	32,9
	<i>Proteus mirabilis</i>	10	14,9
	<i>Providencia stuartii</i>	8	11,8
<b>Mikroplak Yöntemi</b>	Hafif	4	5,9
	Orta	19	27,9
	Güçlü	46	66,2
<b>Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi</b>	Negatif	15	22,1
	Orta	40	58,8
	Güçlü	14	19,1
<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	Biyofilm -	15	22,1
	Biyofilm +	54	77,9

Mikroplak yöntemi değerleri 0.30 ile 2.90 arasında değişmekte olup, ortalaması 1.54±0.68'dir.

Bakteri türleri %32.9 *P.aeruginosa*, %14.9 *Proteus mirabilis*, %11.8 *Klebsiella pneumoniae*, %11.8 *Providencia stuartii*, %8.9 *Acinetobacter baumannii* complex, %6.0 *E. coli*, %4.4 *E. faecalis* 2.9 Non-candida albicans, %1.6 *Acinobacter* spp, %1.6 *Corynebacterium striatum*, %1.6 *Enterococcus faecium* ve %1.6 oranında KNS şeklinde dağılım göstermektedir. Mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşumu



%5.9’unda hafif düzeyde iken, % 27.9’inde orta, % 66.2’sinde ise güçlü biyofilm oluşumu gösterdi. Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşumu suşların %22.1’sinde negatif iken, %58.8’inde orta düzeyde ve %19.1’ünde ise güçlü düzeyde idi. Genel olarak suşların %22.1’i biyofilm negatif, %77.9’ü ise değişik düzeylerde biyofilm pozitif olarak saptandı.

**Tablo 4.4.** Bakteri türlerinde ve totalde mikropalak yöntemi ile kongo kırmızılı agar yöntemi arasındaki uyumun değerlendirilmesi

Bakteri Türü	Bakteri Türü		Mikropalak Yöntemi			Total	p
			Hafif	Orta	Güçlü	Total	
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	p
	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Negatif</b>	2 (%2,9)	5 (%7,4)	8 (%11,8)	15(%21,1)	<b>0,000*</b>
<b>Total</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Orta</b>	2 (%2,9)	13(%19,1)	25(%36,8)	40 (%58,8)	
<b>Total</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Güçlü</b>	-	1 (%1,5)	12(%17,6)	13(%19,1)	
<b>Total</b>	<b>Yöntemi</b>	<b>Total</b>	4 (%5,9)	19(%27,9)	46(%66,2)	68 (%100)	
<b>Acinetobacter baumannii</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Orta</b>	-	2 (%33,3)	4 (%66,7)	6 (%100)	<b>0,046*</b>
<b>Acinetobacter baumannii</b>	<b>Yöntemi</b>	<b>Total</b>	-	2 (%33,3)	4 (%66,7)	6 (%100)	
<b>Klebsiella complex</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Negatif</b>	-	1 (%12,5)	-	1 (%12,5)	<b>0,059</b>
<b>Klebsiellinae</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Orta</b>	-	4 (%50)	3 (%37,5)	7 (%87,5)	
<b>Klebsiellinae</b>	<b>Yöntemi</b>	<b>Total</b>	-	5 (%62,5)	3 (%37,5)	8 (%100)	
<b>pneumoniae</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Negatif</b>	-	-	1 (%4,5)	1 (%4,5)	<b>0,000*</b>
<b>P. aeruginosa</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Orta</b>	-	1 (%4,5)	12(%54,5)	13(%59,1)	
<b>P. aeruginosa</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Güçlü</b>	-	-	8 (%36,4)	8 (%36,4)	
<b>P. aeruginosa</b>	<b>Yöntemi</b>	<b>Total</b>	-	1 (%4,5)	21(%95,5)	22 (%100)	
<b>P. aeruginosa</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Negatif</b>	-	2 (%20)	5 (%50)	7 (%70)	<b>0,010*</b>
<b>Proteus</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Orta</b>	-	1 (%10)	1 (%10)	2 (%20)	
<b>Providencia</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Güçlü</b>	-	-	1 (%10)	1 (%10)	
<b>Providencia</b>	<b>Yöntemi</b>	<b>Total</b>	-	3 (%30)	7 (%70)	10 (%100)	
<b>Providencia mirabilis</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Negatif</b>	-	2 (%25)	2 (%25)	4 (%50)	<b>0,028*</b>
<b>Providencia</b>	<b>Kongo Kırmızılı Agar</b>	<b>Orta</b>	1 (%12,5)	-	3 (%37,5)	4 (%50)	
<b>Providencia</b>	<b>Yöntemi</b>	<b>Total</b>	1 (%12,5)	2 (%25)	5 (%62,5)	8 (%100)	

Wilcoxon Sign Test \*p<0.05

Totalde mikropalak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamadı (p:0.000; p<0.05). Mikropalak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %5.9’i hafif, %27.9’i orta ve %66.2’si güçlü

bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında sonuçların %22.1'si negatif, %58.8'inde orta ve %19.1'ünde güçlü biyofilm oluşumu saptandı.

*Acinetobacter baumannii* complex bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunmadı (p:0.046; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında izolatların %33.3'ünde orta, %66.7'sinde güçlü biyofilm oluşumu bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında ise %100'ünde orta düzeyde biyofilm pozitif saptandı.

*Klebsiella pneumoniae* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulundu (p:0.059; p>0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında sonuçların %62.5'inde, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında ise sonuçların %87.5'inde orta düzeyde biyofilm varlığı gözlemlendi.

*P.aeruginosa* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamadı (p:0.000; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %4.5'i orta ve %95.5'i güçlü bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında sonuçların %4.5'i negatif, %59.1'i orta ve %36.4'ü güçlü biyofilm oluşumu gösterdi.

*Proteus mirabilis* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamadı (p:0.010; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %30'unda orta ve %70'inde güçlü biyofilm bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında sonuçların %70'inde negatif, %20'sinde orta ve %10'unda güçlü biyofilm varlığı saptandı.

*Providencia stuartii* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamadı (p:0.028; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %12.5'inde hafif, %25'inde orta ve %62.5'inde güçlü biyofilm üretimi bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında ise sonuçların %50'si negatif bulundu, %50'sinde ise orta düzeyde biyofilm üretimi saptandı.

İzole edilen tüm bakterilerin antibiyotiklere dirençlerin dağılımı ise Tablo 4.5'de verilmektedir.

**Tablo 4.5.** İzole edilen bakterilerin antibiyotiklere genel dirençlilik durumları

		N	%
<b>Piperasilin (n=25)</b>	<b>Duyarlı</b>	4	16
	<b>Dirençli</b>	21	84
<b>Piperasilin/Tazobaktam (n=52)</b>	<b>Duyarlı</b>	13	25
	<b>Dirençli</b>	39	75
<b>Aztreonam (n=8)</b>	<b>Duyarlı</b>	1	12,5
	<b>Dirençli</b>	7	87,5
<b>İmipenem (n=23)</b>	<b>Duyarlı</b>	9	39,1
	<b>Dirençli</b>	14	60,9
<b>Meropenem (n=38)</b>	<b>Duyarlı</b>	20	52,6
	<b>Dirençli</b>	18	47,4
<b>Ertapenem (n=20)</b>	<b>Duyarlı</b>	10	50
	<b>Dirençli</b>	10	50
<b>Seftazidim (n=47)</b>	<b>Duyarlı</b>	16	34
	<b>Dirençli</b>	31	66
<b>Sefepim (n=40)</b>	<b>Duyarlı</b>	12	30
	<b>Dirençli</b>	28	70
<b>Amikasin (n=38)</b>	<b>Duyarlı</b>	25	65,8
	<b>Dirençli</b>	13	34,2
<b>Gentamisin (n=49)</b>	<b>Duyarlı</b>	20	40,8
	<b>Dirençli</b>	29	59,2
<b>Netilmisin (n=30)</b>	<b>Duyarlı</b>	12	40
	<b>Dirençli</b>	18	60
<b>Tobramisin (n=31)</b>	<b>Duyarlı</b>	16	51,6
	<b>Dirençli</b>	15	48,4
<b>Siprofloksasin (n=50)</b>	<b>Duyarlı</b>	16	32
	<b>Dirençli</b>	34	68
<b>Levofloksasin (n=31)</b>	<b>Duyarlı</b>	12	38,7
	<b>Dirençli</b>	19	61,3
<b>Kolistin (n=43)</b>	<b>Duyarlı</b>	32	74,4
	<b>Dirençli</b>	11	25,6
<b>Tigesiklin (n=19)</b>	<b>Duyarlı</b>	8	42,1
	<b>Dirençli</b>	11	57,9
<b>Ampisilin (n=18)</b>	<b>Duyarlı</b>	2	11,1
	<b>Dirençli</b>	16	88,9
<b>Trimetoprim/Sülfametaksazol (n=21)</b>	<b>Duyarlı</b>	5	23,8
	<b>Dirençli</b>	16	76,2
<b>Sefazolin (n=18)</b>	<b>Duyarlı</b>	3	16,7
	<b>Dirençli</b>	15	83,3

*Acinetobacter baumannii* complex bakteri türünde; Mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.6’da görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.6.** *Acinetobacter baumannii* complex türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Antibiyotik		Mikroplak Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi			
		Hafif	Orta	Güçlü	
		n (%)	n (%)	n (%)	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Piperasilin	Dirençli	-	-	2 (%100)
	Piperasilin/Tazobaktam	Dirençli	-	2 (%100)	3 (%100)
	İmipenem	Dirençli	-	-	1 (%100)
	Meropenem	Dirençli	-	1 (%100)	2 (%100)
	Ertapenem	Dirençli	-	-	1 (%100)
	Seftazidim	Dirençli	-	2 (%100)	3 (%100)
	Sefepim	Dirençli	-	-	1 (%100)
	Amikasin	Duyarlı	-	-	2 (%50)
		Dirençli	-	2 (%100)	2 (%50)
	Gentamisin	Dirençli	-	2 (%100)	3 (%100)
	Netilmisin	Dirençli	-	1 (%100)	1 (%100)
	Tobramisin	Dirençli	-	1 (%100)	1 (%100)
	Siprofloksasin	Dirençli	-	2 (%100)	3 (%100)
	Levofloksasin	Dirençli	-	1 (%100)	1 (%100)
	Kolistin	Duyarlı	-	1 (%100)	3 (%100)
	Tigesiklin	Duyarlı	-	-	3 (%100)
	Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	2 (%100)
	Sefuroksim	Duyarlı	-	1 (%100)	-
	Sefoksitin	Duyarlı	-	-	1 (%100)
Sefuroksim Asetil	Duyarlı	-	1 (%100)	-	
Aztreonam	Dirençli	-	-	1 (%100)	

*Klebsiella pneumoniae* türlerinde; Mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.7’de görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.7.** *Klebsiella pneumoniae* türlerinin mikropalak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotik		Mikropalak Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi		
			Hafif	Orta	Güçlü
			n (%)	n (%)	n (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Piperasilin	Dirençli	-	1 (%100)	1 (%100)
	Piperasilin/Tazobaktam	Dirençli	-	4 (%100)	3 (%100)
	İmipenem	Dirençli	-	2 (%100)	--
	Meropenem	Duyarlı	-	2 (%40)	-
		Dirençli	-	3 (%60)	1 (%100)
	Ertapenem	Duyarlı	-	2 (%50)	-
		Dirençli	-	2 (%50)	2 (%100)
	Seftazidim	Duyarlı	-	1 (%25)	-
	Sefepim	Duyarlı	-	1 (%25)	-
		Dirençli	-	3 (%75)	3 (%100)
	Amikasin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	1 (%100)
	Gentamisin	Duyarlı	-	2 (%50)	1 (%33,3)
		Dirençli	-	2 (%50)	2 (%66,7)
	Netilmisin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	-
	Tobramisin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	-
	Siprofloksasin	Duyarlı	-	2 (%40)	-
		Dirençli	-	3 (%60)	1 (%100)
	Levofloksasin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Kolistin	Duyarlı	-	3 (%75)
	Dirençli		-	1 (%25)	-
	Tigesiklin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	2 (%100)
	Ampisilin	Dirençli	-	3 (%100)	2 (%100)
	Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	1 (%100)
	Sefazolin	Dirençli	-	3 (%100)	2 (%100)
	Sefuroksim	Duyarlı	-	1 (%25)	-
		Dirençli	-	3 (%75)	1 (%100)
	Sefoksitin	Duyarlı	-	2 (%100)	-
Dirençli		-	-	1 (%100)	
Seftriakson	Dirençli	-	3 (%100)	2 (%100)	
Sefuroksim Asetil	Dirençli	-	1 (%100)	1 (%100)	
Aztreonam	Dirençli	-	1 (%100)	-	

*P. aeruginosa* türlerinde; Mikropalak yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.8’de görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.8.** *P. aeruginosa* türlerinin mikropalak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotik		Mikropalak Yöntemi ile		
			Biyofilm oluşturma düzeyi		
			Hafif	Orta	Güçlü
			n (%)	n (%)	n (%)
<i>P. aeruginosa</i>	Piperasilin	Duyarlı	-	-	3 (%20)
		Dirençli	-	1 (%100)	12 (%80)
	Piperasilin/Tazobaktam	Duyarlı	-	-	5 (%26,3)
		Dirençli	-	1 (%100)	14 (%73,7)
	İmipenem	Duyarlı	-	-	9 (%64,3)
		Dirençli	-	1 (%100)	5 (%35,7)
	Meropenem	Duyarlı	-	-	9 (%75)
		Dirençli	-	-	3 (%25)
	Seftazidim	Duyarlı	-	-	10 (%55,6)
		Dirençli	-	-	8 (%44,4)
	Sefepim	Duyarlı	-	-	7 (%43,8)
		Dirençli	-	-	9 (%56,3)
	Amikasin	Duyarlı	-	-	10 (%66,7)
		Dirençli	-	1 (%100)	5 (%33,3)
	Gentamisin	Duyarlı	-	-	13 (%65)
		Dirençli	-	1 (%100)	7 (%35)
	Netilmisin	Duyarlı	-	-	10 (%50)
	Tobramisin	Duyarlı	-	-	15 (%71,4)
		Dirençli	-	1 (%100)	6 (%28,6)
	Siprofloksasin	Duyarlı	-	-	12 (%57,1)
		Dirençli	-	1 (%100)	9 (%42,9)
	Levofloksasin	Duyarlı	-	-	11 (%55)
		Dirençli	-	1 (%100)	9 (%45)
	Kolistin	Duyarlı	-	1 (%100)	17 (%94,4)
Dirençli		-	-	1 (%5,6)	
Trimetoprim/Sülfametaksazol	Dirençli	-	-	1 (%100)	
Aztreonam	Duyarlı	-	-	1 (%20)	
	Dirençli	-	-	4 (%80)	

*Proteus mirabilis* türlerinde; Mikropalak yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.9'da görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.9.** *Proteus mirabilis* türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Antibiyotik		Mikroplak Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi		
		Hafif	Orta	Güçlü
		n (%)	n (%)	n (%)
Piperasilin/Tazobaktam	Duyarlı	-	1 (%50)	3 (%60)
	Dirençli	-	1 (%50)	2 (%40)
İmipenem	Dirençli	-	1 (%100)	1 (%100)
Meropenem	Duyarlı	-	2 (%66,7)	3 (%75)
	Dirençli	-	1 (%33,3)	1 (%25)
Ertapenem	Duyarlı	-	2 (%66,7)	3 (%75)
	Dirençli	-	1 (%33,3)	1 (%25)
Seftazidim	Duyarlı	-	2 (%66,7)	2 (%50)
	Dirençli	-	1 (%33,3)	2 (%50)
Sefepim	Duyarlı	-	2 (%100)	1 (%33,3)
	Dirençli	-	-	2 (%66,7)
Amikasin	Duyarlı	-	-	4 (%80)
	Dirençli	-	-	1 (%20)
Gentamisin	Duyarlı	-	-	2 (%40)
	Dirençli	-	1 (%100)	3 (%60)
Netilmisin	Duyarlı	-	-	1 (%100)
Tobramisin	Dirençli	-	-	1 (%100)
Siprofloksasin	Duyarlı	-	-	1 (%25)
	Dirençli	-	1 (%100)	3 (%75)
Levofloksasin	Dirençli	-	-	1 (%100)
Ampisilin	Duyarlı	-	1 (%33,3)	-
	Dirençli	-	2 (%66,7)	4 (%100)
Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	-	-	1 (%25)
	Dirençli	-	1 (%100)	3 (%75)
Sefazolin	Duyarlı	-	2 (%66,7)	1 (%25)
	Dirençli	-	1 (%33,3)	3 (%75)
Sefuroksim	Duyarlı	-	2 (%66,7)	2 (%66,7)
	Dirençli	-	1 (%33,3)	1 (%33,3)
Sefoksitin	Duyarlı	-	1 (%50)	2 (%50)
	Dirençli	-	1 (%50)	2 (%50)
Seftriakson	Duyarlı	-	2 (%66,7)	2 (%50)
	Dirençli	-	1 (%33,3)	2 (%50)
Sefuroksim Asetil	Duyarlı	-	1 (%50)	1 (%33,3)
	Dirençli	-	1 (%50)	2 (%66,7)

*Proteus Mirabilis*

*Providencia stuartii* türlerinde; Mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.10'da görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.10.** *Providencia stuartii* türlerinin mikroplak yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotik		Mikroplak Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi		
			Hafif	Orta	Güçlü
			n (%)	n (%)	n (%)
<i>Providencia stuartii</i>	Piperasilin	Dirençli	-	2 (%100)	2 (%100)
	Piperasilin/Tazobaktam	Duyarlı	-	-	1 (%20)
		Dirençli	1 (%100)	2 (%100)	4 (%80)
	İmipenem	Dirençli	-	2 (%100)	-
	Meropenem	Duyarlı	-	-	1 (%33,3)
		Dirençli	1 (%100)	2 (%100)	2 (%66,7)
	Ertapenem	Dirençli	1 (%100)	-	2 (%100)
	Seftazidim	Dirençli	-	2 (%100)	5 (%100)
	Sefepim	Dirençli	1 (%100)	2 (%100)	4 (%100)
	Amikasin	Duyarlı	-	1 (%100)	4 (%100)
	Gentamisin	Dirençli	-	2 (%100)	3 (%100)
	Netilmisin	Dirençli	-	2 (%100)	1 (%100)
	Tobramisin	Dirençli	-	2 (%100)	1 (%100)
	Siprofloksasin	Dirençli	-	2 (%100)	2 (%100)
	Levofloksasin	Dirençli	-	2 (%100)	1 (%100)
	Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	-	-	1 (%100)
	Sefazolin	Dirençli	1 (%100)	-	3 (%100)
	Sefuroksim	Dirençli	1 (%100)	-	2 (%100)
	Sefoksitin	Duyarlı	-	-	1 (%33,3)
		Dirençli	1 (%100)	-	2 (%66,7)
	Seftriakson	Dirençli	1 (%100)	-	3 (%100)
Sefuroksim Asetil	Dirençli	-	-	2 (%100)	
Tetrasiklin	Dirençli	-	-	1 (%100)	
Aztreonam	Dirençli	-	-	1 (%100)	

*Acinetobacter baumannii* complex türlerinde; Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.11'de görüldüğü gibidir.



**Tablo 4. 11.** *Acinetobacter baumannii* complex türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotikler	Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi ile			
		Biyofilm oluşturma düzeyi			
		Negatif	Orta	Güçlü	
		n (%)	n (%)	n (%)	
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	Piperasilin	Dirençli	-	1 (%100)	-
	Piperasilin/Tazobaktam	Dirençli	-	5 (%100)	-
	İmipenem	Dirençli	-	1 (%100)	-
	Meropenem	Dirençli	-	3 (%100)	-
	Ertapenem	Dirençli	-	1 (%100)	-
	Seftazidim	Dirençli	-	5 (%100)	-
	Sefepim	Dirençli	-	1 (%100)	-
	Amikasin	Duyarlı	-	2 (%33,3)	-
		Dirençli	-	4 (%66,7)	-
	Gentamisin	Dirençli	-	5 (%100)	-
	Netilmisin	Dirençli	-	2 (%100)	-
	Tobramisin	Dirençli	-	2 (%100)	-
	Siprofloksasin	Dirençli	-	5 (%100)	-
	Levofloksasin	Dirençli	-	2 (%100)	-
	Kolistin	Duyarlı	-	4 (%100)	-
	Tigesiklin	Duyarlı	-	3 (%75)	-
		Dirençli	-	1 (%25)	-
	Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	-	1 (%25)	-
		Dirençli	-	3 (%75)	-
	Sefuroksim	Duyarlı	-	1 (%100)	-
	Sefoksitin	Duyarlı	-	1 (%100)	-
	Sefuroksim Asetil	Duyarlı	-	1 (%100)	-
	Aztreonam	Dirençli	-	1 (%100)	-

*Klebsiella pneumoniae* türlerinde; Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.12’de görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.12.** *Klebsiella pneumoniae* türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotikler	Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi			
		Negatif n (%)	Orta n (%)	Güçlü n (%)	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Piperasilin	Dirençli	-	2 (%100)	-
	Piperasilin/Tazobaktam	Dirençli	1 (%100)	6 (%100)	-
	İmipenem	Dirençli	-	2 (%100)	-
	Meropenem	Duyarlı	-	2 (%40)	-
		Dirençli	1 (%100)	3 (%60)	-
	Ertapenem	Duyarlı	-	2 (%40)	-
		Dirençli	1 (%100)	3 (%60)	-
	Seftazidim	Duyarlı	-	1 (%20)	-
		Dirençli	-	4 (%80)	-
	Sefepim	Duyarlı	-	1 (%16,7)	-
		Dirençli	1 (%100)	5 (%83,3)	-
	Amikasin	Duyarlı	-	1 (%33,3)	-
		Dirençli	-	2 (%66,7)	-
	Gentamisin	Duyarlı	-	3 (%50)	-
		Dirençli	1 (%100)	3 (%50)	-
	Netilmisin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	-
	Tobramisin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	-
	Siprofloksasin	Duyarlı	-	2 (%40)	-
		Dirençli	1 (%100)	3 (%60)	-
	Levofloksasin	Duyarlı	-	1 (%50)	-
		Dirençli	-	1 (%50)	-
	Kolistin	Duyarlı	-	5 (%100)	-
		Dirençli	1 (%100)	-	-
	Tigesiklin	Duyarlı	1 (%100)	-	-
		Dirençli	-	3 (%100)	-
	Ampisilin	Dirençli	-	5 (%100)	-
	Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	-	1 (%33,3)	-
		Dirençli	-	2 (%66,7)	-
Sefazolin	Dirençli	1 (%100)	4 (%100)	-	
Sefuroksim	Duyarlı	-	1 (%25)	-	
	Dirençli	1 (%100)	3 (%75)	-	
Sefoksitin	Duyarlı	-	2 (%66,7)	-	
	Dirençli	-	1 (%33,3)	-	
Seftriakson	Dirençli	1 (%100)	4 (%100)	-	
Sefuroksim Asetil	Dirençli	-	2 (%100)	-	
Aztreonam	Dirençli	-	1 (%100)	-	

*P. aeruginosa* türlerinde; Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.13’de görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.13.** *P. aeruginosa* türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotikler	Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi			
		Negatif	Orta	Güçlü	
		n (%)	n (%)	n (%)	
<i>P. aeruginosa</i>	Piperasilin	Duyarlı	-	2 (%20)	1 (%16,7)
		Dirençli	-	8 (%80)	5 (%83,3)
	Piperasilin/Tazobaktam	Duyarlı	-	4 (%30,8)	1 (%14,3)
		Dirençli	-	9 (%69,2)	6 (%85,7)
	İmipenem	Duyarlı	1 (%100)	4 (%40)	4 (%100)
		Dirençli	-	6 (%60)	-
	Meropenem	Duyarlı	1 (%100)	4 (%57,1)	4 (%100)
		Dirençli	-	3 (%42,9)	-
	Seftazidim	Duyarlı	-	8 (%66,7)	2 (%33,3)
		Dirençli	-	4 (%33,3)	4 (%66,7)
	Sefepim	Duyarlı	-	5 (%50)	2 (%33,3)
		Dirençli	-	5 (%50)	4 (%66,7)
	Amikasin	Duyarlı	1 (%100)	6 (%66,7)	3 (%50)
		Dirençli	-	3 (%33,3)	3 (%50)
	Gentamisin	Duyarlı	1 (%100)	7 (%58,3)	5 (%62,5)
		Dirençli	-	5 (%41,7)	3 (%37,5)
	Netilmisin	Duyarlı	1 (%100)	5 (%41,7)	4 (%50)
		Dirençli	-	7 (%58,3)	4 (%50)
	Tobramisin	Duyarlı	1 (%100)	9 (%69,2)	5 (%62,5)
		Dirençli	-	4 (%30,8)	3 (%37,5)
	Siprofloksasin	Duyarlı	1 (%100)	6 (%46,2)	5 (%62,5)
		Dirençli	-	7 (%53,8)	3 (%37,5)
	Levofloksasin	Duyarlı	-	6 (%46,2)	5 (%62,5)
		Dirençli	-	7 (%53,8)	3 (%37,5)
Kolistin	Duyarlı	-	10 (%90,9)	8 (%100)	
	Dirençli	-	1 (%9,1)	-	
Trimetoprim/Sülfametaksazol	Dirençli	-	1 (%100)	-	
Aztreonam	Duyarlı	-	1 (%50)	-	
	Dirençli	-	1 (%50)	3 (%100)	

*Proteus mirabilis* türlerinde; Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.14'de görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.14.** *Proteus mirabilis* türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotikler	Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi			
		Negatif	Orta	Güçlü	
		n (%)	n (%)	n (%)	
<i>Proteus mirabilis</i>	Piperasilin	Dirençli	1 (%100)	-	-
	Piperasilin/Tazobaktam	Duyarlı	2 (%40)	2 (%100)	-
		Dirençli	3 (%60)	-	-
	İmipenem	Dirençli	2 (%100)	-	-
	Meropenem	Duyarlı	3 (%60)	2 (%100)	-
		Dirençli	2 (%40)	-	-
	Ertapenem	Duyarlı	3 (%60)	2 (%100)	-
		Dirençli	2 (%40)	-	-
	Seftazidim	Duyarlı	2 (%40)	2 (%100)	-
		Dirençli	3 (%60)	-	-
	Sefepim	Duyarlı	1 (%33,3)	2 (%100)	-
		Dirençli	2 (%66,7)	-	-
	Amikasin	Duyarlı	3 (%75)	1 (%100)	-
		Dirençli	1 (%25)	-	-
	Gentamisin	Duyarlı	1 (%20)	1 (%100)	-
		Dirençli	4 (%80)	-	-
	Netilmisin	Duyarlı	1 (%100)	-	-
	Tobramisin	Dirençli	1 (%100)	-	-
	Siprofloksasin	Duyarlı	1 (%25)	-	-
		Dirençli	3 (%75)	1 (%100)	-
	Levofloksasin	Dirençli	1 (%100)	-	-
	Ampisilin	Duyarlı	1 (%20)	-	-
		Dirençli	4 (%80)	2 (%100)	-
	Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	1 (%33,3)	-	-
		Dirençli	2 (%66,7)	2 (%100)	-
	Sefazolin	Duyarlı	1 (%20)	2 (%100)	-
		Dirençli	4 (%80)	-	-
	Sefuroksim	Duyarlı	2 (%50)	2 (%100)	-
		Dirençli	2 (%50)	-	-
	Sefoksitin	Duyarlı	1 (%25)	2 (%100)	-
Dirençli		3 (%75)	-	-	
Seftriakson	Duyarlı	2 (%40)	2 (%100)	-	
	Dirençli	3 (%60)	-	-	
Sefuroksim Asetil	Duyarlı	2 (%40)	-	-	
	Dirençli	3 (%60)	-	-	

*Providencia stuartii* türlerinde; Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşturma düzeylerine göre antibiyotik direnç dağılımı Tablo 4.15’de görüldüğü gibidir.

**Tablo 4.15.** *Providencia stuartii* türlerinin Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşturma düzeylerinin antibiyotik direnciyle ilişkisi

Bakteri	Antibiyotikler		Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi ile Biyofilm oluşturma düzeyi		
			Negatif n (%)	Orta n (%)	Güçlü n (%)
<i>Providencia stuartii</i>	Piperasilin	Dirençli	2 (%100)	2 (%100)	-
	Piperasilin/Tazobaktam	Duyarlı	1 (%25)	-	-
		Dirençli	3 (%75)	4 (%100)	-
	İmipenem	Dirençli	2 (%100)	-	-
	Meropenem	Duyarlı	1 (%25)	-	-
		Dirençli	3 (%75)	2 (%100)	-
	Ertapenem	Dirençli	1 (%100)	2 (%100)	-
	Seftazidim	Dirençli	4 (%100)	3 (%100)	-
	Sefepim	Dirençli	3 (%100)	4 (%100)	-
	Amikasin	Duyarlı	3 (%100)	2 (%100)	-
	Gentamisin	Dirençli	4 (%100)	1 (%100)	-
	Netilmisin	Dirençli	2 (%100)	1 (%100)	-
	Tobramisin	Dirençli	2 (%100)	1 (%100)	-
	Siprofloksasin	Dirençli	3 (%100)	1 (%100)	-
	Levofloksasin	Dirençli	2 (%100)	1 (%100)	-
	Ampisilin	Dirençli	2 (%100)	2 (%100)	-
	Trimetoprim/Sülfametaksazol	Duyarlı	1 (%100)	-	-
	Sefazolin	Dirençli	2 (%100)	2 (%100)	-
	Sefuroksim	Dirençli	1 (%100)	2 (%100)	-
	Sefoksitin	Duyarlı	1 (%50)	-	-
		Dirençli	1 (%50)	2 (%100)	-
Seftriakson	Dirençli	2 (%100)	2 (%100)	-	
Sefuroksim Asetil	Dirençli	1 (%100)	1 (%100)	-	

### İstatistiksel İncelemeler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma, frekans) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0.05$  düzeyinde değerlendirildi.

## 5. TARTIŞMA

Hastanede yatan hastalar arasında bası yarası gelişimi sağlık hizmetlerinde büyük bir sorundur. Bireysel rahatsızlıkların yanı sıra, ilişkili morbidite, yoğun hemşirelik bakımı, hastanede uzun süreli kalma, pahalı cihazların kullanımı ve bazen cerrahi tedavi gibi yaşlanan bir popülasyonun sonucu olarak artan maliyetli bir problemdir.

Bası yaralarında sürüntü kültürü yerine doku kültürü altın standart yöntem olarak bilinmektedir. Yüzeysel sürüntü örneklerinde kutanöz floradan kaynaklanan kontaminasyon sıklıkla görülmektedir. Bu sebeple, derin doku kültürlerinden elde edilen sonuçlar daha güvenilir kabul edilir. Doğru antibiyotik seçimi için gerçekçi veri oluşturur. Araştırmamız, bu sebeple önem arz etmektedir (65).

Demirci Şahin A ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, 42 (%59,20) hastanın sakrumunda, 10 (%14,10) hastanın trokanterik bölgesinde, 7 (%9,90) hastanın topuğunda, 3 (%4,20) hastanın torakal vertebra ve skapuler bölgesinde, 2 (%2,80) hastanın kol ve diğer bölgelerinde bası yarası tespit edilmiştir (66).

Dansereau ve Conwey'in yaptığı, 2000 olguyu kapsayan bir çalışmada, basınç ülserlerinin iskiyal (% 28), trokanterik (% 19), sakral (% 17) ve diğer anatomik bölgelerde (topuklar, malleoller ve dizler) lokalize olduğu bildirilmiş, 13 olguda sakral bölgede ve 4 olguda topuklarda basınç yarası tespit edilmiştir (67).

Ferrel BA ve ark.nın yaptığı çalışmada, % 40.30 hastada evre II, % 27 hastada ise evre III ve IV bası yarası mevcuttur (68). Bergquit ve ark.nın araştırmasında, % 49,10 oranında evre I, % 50 oranında evre II, % 0,9 oranında ise evre III bası yarası olduğu bildirilmiş, bası yaralarının % 52'sinin pelvik bölgede, %14'ünün topukta olduğu saptanmıştır (69). Aktürk ve ark.nın yaptığı çalışmada bası yaralarının başlıca sakral bölgede (% 72) yerleşim gösterdikleri ve en fazla II.evrede olmak üzere % 33 oranında bası ülseri geliştiği bildirilmiştir (70). Demirci Sahin A. ve ark.nın yaptığı çalışmada, % 61,1 oranında evre II bası yarası saptanmış, en fazla lokalizasyonun % 59,20 oranında sakrumda görüldüğü bildirilmiştir (66).

Çalışmamızda, hastalarda gelişen bası yaralarının % 13.9'u sağ kalçada, % 11.1'i sağ trokanterik bölgede, % 63.9'u sakral bölgede, % 2.8'i sırtda, % 2.8'i sol

femur başında ve hastanın % 5.6'sı sol tibial bölgesinde tespit edilmiştir. Bası yaralarının % 63.9'unun sakral bölgede bulunması sebebiyle çalışmamız literatürle uyumlu bulunmuştur.

K. Macit ve ark.nın yaptığı çalışmada, hastaların % 25.50'inde serebrovasküler olay, %19.1'inde kemik kırıkları ve %10.6'sında kanser nedeniyle bası yarası geliştiği bildirilmiş olup hastaların %36.20'sinde DM ve/veya hipertansiyon varlığı görülmüştür (71).

Lyman ve ark.nın yaptığı çalışma sonucu, hastaların % 91 inde kalça kırığı, % 65' inde DM, % 63'ünde serebrovasküler olay, %43'ünde periferel damar hasarı görülmüştür. (70). Demirci Sahin A ve ark.nın yaptıkları bir başka çalışmada ise hastaların % 32,40'ünde DM, % 54,90'unda hipertansiyon, % 36,60'sında kronik kalp hastalığı, % 45,10'unda geçirilmiş serebrovasküler hastalık, % 9,90'ında malign hastalık tespit edilmiştir (66).

Çalışmamızda, olguların % 30.6'sında *diabetes mellitus*, % 25'inde *hipertansiyon*, % 22.2'sinde *Alzheimer*, % 19.4'ünde *parkinson*, % 8.3'ünde *serebral enfarktüs*, % 22.2'sinde *serebrovasküler olay*, % 11.1'inde *demans*, % 5.6'sında *epilepsi*, % 2.8'inde *bipolar bozukluk*, % 2.8'inde *KOAH*, % 88.9'unda kronik hastalık ve % 5.6'sında ise kanser tanısı konulmuştur.

Biyofilm üreten bakteriler birçok enfeksiyonundan sorumludur ve ortadan kaldırılması oldukça zordur. Biyofilm varlığı, sınırlı antibiyotik penetrasyonu, düşük büyüme hızı ve direnç genlerinin ekspresyonu gibi çeşitli yöntemlerle antibiyotik direncine yardımcı olurlar (72). Bakteriler immun sistemden ve antimikrobiyal ajanlardan korunmak için biyofilm oluşturmaktadır. Gram negatif bakteriler hücre duvarlarındaki dış membran yapısı sebebiyle Gram pozitif bakterilere göre antibiyotiklere daha dirençlidirler. Gram negatif bakteri türleri biyofilm oluşturabilmeleri, çevreyi algılama sistemleri ile çoklu direnç özelliği kazanabilmektedir (73).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda teknolojinin de gelişmesiyle biyofilm çalışmalarında kullanılan yöntemlerin sayısı artmaktadır. Biyofilm oluşumu, ilk olarak Christensen ve ark. tarafından keşfedilen ve zamanla farklı araştırmacıların da modife ettiği kalitatif test tüp yöntemi ve kantitatif doku kültürleri yöntemleri ile incelenmiştir. Christensen tarafından geliştirilen mikropalak yöntemi, *S. aureus*

bakterilerinin biyofilm oluşturma derecelerinin, kristal viyole boyası kullanılarak ve spektrofotometrik ölçümler yapılarak değerlendirilmesine dayanan bir yöntemdir (74).

Freeman ve ark.nın geliştirdikleri ve farklı araştırcılarında modifiye ederek değiştirdikleri bir yöntem olan Kongo kırmızılı agar besiyeri biyofilm oluşumunun belirlenmesi için kullanılmaktadır. Kongo kırmızılı agarda üreyen, *S. aureus* koloni morfolojileri bakılarak yapılan değerlendirmeler sonucundan biyofilm oluşumu hakkında fikir edinilebileceğimiz bir yöntem olarak bildirmiştir (75).

Vasudevan ve ark.nın 2003 yılında yaptığı çalışmada 35 *S.aureus* suşu Kongo kırmızılı agar ve mikropalak yöntemi kullanılarak konvansiyonel yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada Kongo kırmızılı agar besiyeri kullanarak araştırılan 35 *S. aureus* suşun 32'si (% 91.4) biyofilm pozitif olarak değerlendirilmiş, mikropalak yöntemiyle yapılan çalışmada ise bu 35 *S. aureus* suşunun sadece 24'ünde (% 68.5) biyofilm pozitifliği saptanmıştır. Kongo kırmızılı agar yönteminde biyofilm negatif bulunan üç izolattan birinde mikropalak yöntemiyle biyofilm oluşumu saptanırken iki izolat ise negatif olarak değerlendirilmiştir (76).

Mathur ve ark.nın 2006 yılında yaptığı çalışmada doku kültürü mikropalak yöntemi, tüp yöntemi ve kongo kırmızılı agar yöntemi ile 152 klinik *S.aureus* suşu biyofilm oluşumu yönünden karşılaştırılmıştır. Kongo kırmızılı agar yönteminde biyofilm oluşumu değerlendirilen 152 klinik *S. aureus* suşunun sadece 8'i biyofilm pozitif olarak değerlendirilmiştir. Biyofilm pozitif olarak kabul edilen 8 suşun 6'sının orta, 2'sinin güçlü biyofilm oluşturan suşlar olduğu gözlenmiştir. Tüp yönteminde ise *S. aureus* suşlarının 18' i (% 11.8) güçlü, 45'i (% 29.6) orta düzeyde biyofilm oluşturduğu saptanırken, 89 (% 58.6) suş biyofilm negatif olarak değerlendirilmiştir. Mikropalak yönteminde ise 22 (% 14.4) suş güçlü, 60 (% 39.4) suş orta düzeyde biyofilm oluşturmuş, 70 (% 46.0) suş ise biyofilm negatif olarak bildirilmiştir. Mikropalak yöntemi ve kongo kırmızılı agar yöntemi arasında zayıf bir uyum olduğu gözlemlenmiştir (77).

Yazdani ve ark.nın 2006 yılında yaptığı çalışmada yara yeri enfeksiyonlarından izole edilmiş 50 *S. aureus* suşunun Kongo kırmızılı agar yöntemiyle biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi sonucunda 27 (%54) suş biyofilm pozitif, 23 suş (%46) biyofilm negatif olarak kaydedilmiştir. Mikropalak



yöntemi ile biyofilm dereceleri ölçülmüş ve 50 *S. aureus* suşunun 26'sında (% 52) biyofilm pozitifliği görülürken, 24 (% 48) suş ise biyofilm negatif olarak değerlendirilmiştir (78).

Yasmeen ve ark.nın 2012 yılında yaptığı çalışmada farklı kliniklerden izole edilen 115 *S. aureus* suşu ile çalışılmıştır. Çalışılan suşların kateter, idrar, vajinal sürüntü, kan ve yara yeri örneklerinin biyofilm oluşturma dereceleri, Kongo kırmızılı agar, mikropalak yöntemi ve tüp yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada 115 *S. aureus* suşunun 63'ü (% 54.8) tüp yöntemi ile biyofilm pozitif olarak değerlendirilmiştir. Mikropalak yöntemi ile 19 (% 16.52) *S. aureus* suşu biyofilm pozitif olarak kaydedilmiştir. Kongo kırmızılı agar yöntemi ile *S. aureus* suşlarının yalnızca 4 'ünde (% 3.47) biyofilm pozitifliği görülmüştür. Bu çalışmada Kongo kırmızılı agar yöntemi, biyofilm oluşumunun değerlendirilmesi için önerilmemiştir (79).

Melo ve ark.nın 2013 yılında yaptığı çalışmada farklı kliniklerden izole edilmiş 60 *S. aureus* suşunun biyofilm oluşumunu değerlendirmek için Kongo kırmızılı agar ve mikropalak yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmada 60 *S. aureus* suşunun 32'si (% 65) Kongo kırmızılı agar yönteminde siyah koloniler oluşturarak biyofilm pozitif değerlendirilirken, 21 (% 35) suş kongo kırmızılı agar besiyerinde pembe koloniler oluşturarak biyofilm negatif olarak değerlendirilmiştir. Mikropalak yöntemi ile yapılan değerlendirmede 35 (% 58) suş biyofilm pozitif ve 25 (% 42) suş ise biyofilm negatif olarak bildirilmiştir (80).

Araştırmamızda bakteri türleri % 32.9 *P. aeruginosa*, % 14.9 *Proteus mirabilis*, % 11.8 *Klebsiella pneumoniae*, % 11.8 *Providencia stuartii*, % 8.9 *Acinetobacter baumannii* complex, % 6.0 *E. coli*, % 4.3 *E. faecalis* 2.9 Non-candida *albicans*, % 1.6 *Acinobacter* spp, % 1.6 *Corynebacterium striatum*, % 1.6 *Enterococcus faecium*, % 1.6 KNS şeklinde dağılım göstermektedir. Suşların % 5.9'unda mikropalak yöntemi ile biyofilm oluşumu hafif düzeydeyken, % 27.9'unda orta düzeyde, % 66.2'sinde ise güçlüdür. Kongo kırmızılı agar yöntemi ile suşların % 22.1'si negatif saptanmış, % 58.8'inde orta düzeyde ve % 19.1'inde ise güçlü düzeyde biyofilm gelişimi gözlenmiştir. Genel olarak suşların % 22.1'sinin biyofilm negatif, % 77.9'unun ise biyofilm pozitif olduğu tespit edilmiştir. Mikropalak yöntemi

ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunmamıştır.(p:0.000; p<0.05).

Moskowitz ve ark.nın 2005 yılında yaptıkları bir çalışmada, çeşitli servis ve kliniklerden izole edilen 96 *P.aeruginosa* suşunun % 73'ü biyofilm pozitif olarak bildirilmiştir(81). Çoban ve ark.nın 2009 yılında yaptığı diğer bir çalışmada ise kistik fibrozisli hastalardan izole edilen 60 *P. aeruginosa* suşunun % 33,3' ünün biyofilm oluşturdukları bildirilmiştir(82). Diğer benzer çalışmalardan, Yıldırım ve ark.nın 2008 yılında yaptığı çalışmada, 148 suşun % 45'i, Çelik ve ark.nın 2010 yılında yaptığı araştırmada ise 104 izolatin % 48' i biyofilm pozitif olarak değerlendirilmiştir(83).

Çalışmamızda izole edilen 22 *P.aeruginosa* suşu mikropalak yöntemiyle % 100 oranında biyofilm pozitif bulundu. Kongo kırmızılı agar yönteminde ise, 21'i biyofilm pozitif, 1'i biyofilm negatif bulundu.

Bası yaralarında sistemik antibiyotik ile tedavi tartışma konusudur. Bası yarasındaki etken ajanı bulmak için yapılacak sürüntü kültürü, kontaminasyon sebebiyle üreme olabileceğinden anlamlı bulunmaz. Doğru bir sonuç elde edebilmek için altın standart olarak kabul edilen biyopsi örneği alınmalıdır. Fakat bu, klinikte kolay uygulanabilir bir yöntem değildir. Bu sebeple çalışmamız sonuçları açısından önem taşımaktadır. Etken bakteriler, genel olarak stafilokok ya da streptokoklar veya *E.coli*, *Proteus* ve *P.aeruginosa* gibi enterik bakterilerdir(84).

Çalışmamızda, olguların % 50'sinin kültür sonucu *P.aeruginosa* iken, %19.4'ünün *P.mirabilis*, %13.9'unun *E.coli*, %16.7'sinin *Acinobacter* spp, %22.2'sinin *P.stuartii*, %22.2'sinin *Klebsiella pneumoniae*, %11.1'inin *E.faecalis* ve %2.8'inin *Corynebacterium striatum*, %2.8'inin KNS, %2.8'inin non-candida *albicans* olduğu gözlenmiş, %8.3'ünde ise herhangi bir mikroorganizma ürememiştir.

*Klebsiella pneumoniae* bakterisinde mikropalak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyumsuzluk bulunmamıştır. (p:0.059; p>0.05). Mikropalak yöntemi ile bakıldığında sonuçların % 62.5'inde, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında ise sonuçların % 87.5'inde orta düzeyde biyofilm üretimi saptanmıştır.

Antimikrobiyal maddelerin biyofilm içerisine tamamen giriş yapamaması biyofilm matriksini meydana getiren polimetrik maddenin antibiyotiklerin hücre

içerisine geçişini engellediği bilinmektedir(85). Biyofilm içerisindeki mikroorganizmaların besin sınırlanmasından dolayı yavaş büyüme evresine geçtiği bu sebepten dolayı antibiyotiklere karşı direnç gösterdikleri düşünülmektedir. Bundan dolayı, biyofilm oluşturan mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi önem arz etmektedir.

Köksal ve ark.nın 2009 yılında yaptıkları bir çalışmada, septisemi hastalarının kan kültürlerinde slime pozitif MRSA izolatlarının (%81), slime negatif MRSA izolatlarından (%57) daha yüksek oranda saptandığı ortaya konmuştur(86).

Ay ve ark.'ı 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada biyofilm oluşturan KNS suşlarının, metisilin, amoksisilin- klavulanik asit, sefazolin, gentamisin, klindamisin ve siprofloksasine daha dirençli olduklarını bildirmişlerdir (61).

Çiftçi ve ark.nın 2009 yılında yapmış oldukları bir çalışma, biyofilm oluşumunun antibiyotik dirençliliği üzerine bir etkisinin olmadığını göstermiş, ayrıca biyofilm pozitif izolatların biyofilm negatif izolatlara oranla antibiyotiklere karşı daha duyarlı olduklarını ortaya koymuştur. Bu çalışmada 59 izolatın 2'sinde biyofilm pozitifliği ve metisilin direnci saptanmış, biyofilm oluşumu ile metisilin direnci arasında bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (82).

Şahin ve ark.nın 2010 yılında yapmış olduğu çalışmada, 20 *P. aeruginosa* ve 20 *A. baumannii* olmak üzere toplam 40 suş kullanılmıştır. *P. aeruginosa* suşlarına kolistin, gentamisin, seftazidim ve amikasin; *A. baumannii* suşlarına ise tigesiklin, kolistin ve gentamisin en etkili antibiyotikler olarak bulunmuştur (87).

*P. aeruginosa* izolatları, diğer izolatlardan farklı olarak antibiyotiklere daha yüksek oranlarda direnç göstermektedirler. Bu izolatlar, aminoglikozitlere (amikasin, gentamisin, tobramisin), sefalosporinlere, siprofloksasine ve karbapenemlere karşı % 20 ila % 40 oranında direnç gösterirken, yalnızca kolistine karşı % 100 oranında duyarlılık bulunmuştur (88).

Çalışmamızda izole edilen 22 *Pseudomonas aeruginosa* izolatının, biyofilm oluşturan 18 suşu kolistin'e duyarlı, 1 suş dirençli bulunurken, güçlü biyofilm oluşturan 10 suşun tümü netilmisine duyarlı bulunmuştur. Bu sonuçlar Kolistin duyarlılığı açısından literatür ile uyum sağlamaktadır.

Melchior ve ark.nın 2006 yılında yaptıkları çalışmada, biyofilm oluşturan *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının piperasilin difüzyonuna engel olduğu ve bu antibiyotiğin biyofilme penetre olmasını engellediği gösterilmiştir (88).

Schaber ve ark.nın yaptığı benzer bir çalışmada ise, polikarbonat membranda biyofilm oluşturan *P.aeruginosa* suşları ile, planktonik formda biyofilm oluşturan *P.aeruginosa* suşlarına bağlı enfeksiyonlarda, sık kullanılan imipenem (karbapenem,  $\beta$ -laktam), gentamisin (aminoglikozid) ve piperasilin-tazobaktam ( $\beta$ -laktamaz inhibitörü) antibiyotiklerine karşı duyarlılıkları araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda, polikarbonat membranda biyofilm oluşturan formların planktonik formlara oranla yaklaşık 10 kat daha dirençli hâle geldiklerini ortaya koymuşlardır (81).

Çalışmamızda, biyofilm oluşturan 13 *Pseudomonas aeruginosa* izolatı piperasiline dirençli iken 3'ü duyarlı bulunmuştur. Biyofilm oluşturan 15 *Pseudomonas aeruginosa* izolatının piperasilin/tazobaktama dirençli, 5'inin ise duyarlı olduğu gözlenmiştir. Sonuçlarımız literatürle uygunluk sağlamaktadır.

*K. pneumoniae*'nin oluşturduğu biyofilm tabakasına ampisilinin penetre olamadığı, biyofilm içinde çoğalan *K. pneumoniae* beta-laktamaz mutantlarının ampisiline daha dirençli olduğu bulunmuştur (88). Çalışmamızda izole edilen 8 *K.pneumoniae* izolatının, biyofilm oluşturan 5'i ampisilin'e dirençli bulunmuş olup bu yönüyle literatürle uyumludur.

Domenico ve ark.nın 2017 yılında yaptığı çalışmada, *K.pneumoniae*, 3. ve 4. kuşak sefalosporinlere % 100, amoksisilin/klavulanik asite %83, siprofloksasin, piperasilin/ tazobaktam ve trimetoprim ise değişen oranlarda dirençli bulunmuştur. *P.mirabilis*, test edilen antimikrobiyal maddelere karşı yüksek direnç göstermiş, sadece ertapenem ve meropenem karşı % 100 oranında duyarlı bulunmuştur. Ayrıca biyofilm üreten *P.aeruginosa* suşlarında % 73.7 oranında yüksek biyofilm varlığı gösterilmiştir. Buna karşı *K.pneumoniae* suşlarının sadece % 60'ının biyofilm ürettiği ve hiçbirinin yüksek biyofilm üreticisi olmadığı bulunmuştur (88). Bu literatür verileri, çalışmada alınan sonuçlarla uyum sağlamaktadır.

Çalışmamızda izole edilen 8 *K.pneumoniae* izolatının 7'si piperasilin/tazobaktama, 5'i ise seftriakson dirençli bulunmuştur. Bu izolatlarının 4'ü sefuroksime dirençli iken 1'i duyarlı olarak saptanmıştır. Biyofilm oluşturan

*P.mirabilis* suşlarının 5'inin ertapeneme duyarlı, 2'si ise dirençli bulunmuştur. Bu suşların 5'i meropeneme duyarlı, 2'si ise dirençli olarak saptanmıştır.

Mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşumu %5.9'unda hafif düzeydeyken, % 27.9'inde orta, % 66.2'sinde ise güçlü biyofilm oluşumu göstermiştir. Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşumu suşların %22.1'sinde negatif iken, %58.8'inde orta düzeyde ve %19.1'ünde ise güçlü düzeydedir. Genel olarak suşların %22.1'i biyofilm negatif, %77.9'ü ise değişik düzeylerde biyofilm pozitif olarak saptanmıştır.



## 6. SONUÇLAR

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastahanesi Palyatif biriminden Ocak 2018-Ağustos 2018 tarihleri arasında alınan 36 kronik bası yarası örneği klinik mikrobiyoloji laboratuvarı'nda değerlendirildi. 67 izolat çalışmaya alınmıştır.

Yara enfeksiyonundan şüphelenildiğinde veya tanı konulduğunda doğrulamak için kültür alınmalıdır. Bakteriyel kültürler antimikrobiyal tedavi seçiminin belirlenmesi yanında, kolonizasyon ve enfeksiyonun ayırt edilmesinde de yardımcı olur . Hastaların % 88,9' unda kronik hastalık tespit edilmiştir. Bu hastalıklar aynı zamanda diğer sistemik enfeksiyonlara zemin hazırlayabilir. Kronik bası yarası olan hastalarda crp (c-reaktif protein) , glukoz ve lökosit değerleri tespit edilmiştir. C-reaktif protein ortalaması yüksek bulunmuştur. Bası yarası gelişimi en çok sakral bölgede görülmüştür. Bası yarasından çoğunlukla *P.aeruginosa* bakterisi izole edilmiştir. 3 hasta kültüründe üreme görülmemiştir.

Bakteri türleri %32.9'u *P.aeruginosa*, %14.9'i *Proteus mirabilis*, %11.8'si *Klebsiella pneumoniae*, %11.8'si *Providencia stuartii*, %8.9'si *Acinetobacter baumannii* complex, %6.0'i *E. coli*, %4.4'ü *E. faecalis* 2.9'u Non-candida albicans, %1.6'ü *Acinobacter* spp, %1.6'ü *Corynebacterium striatum*, %1.6'ü *Enterococcus faecium*, %1.6'ü KNS şeklinde dağılım göstermektedir. Mikroplak yöntemi ile biyofilm oluşumu %5.9'unda hafif düzeydeyken, % 27.9'inde orta, % 66.2'sinde ise güçlü biyofilm oluşumu gösterdi. Kongo kırmızılı agar yöntemi ile biyofilm oluşumu suşların %22.1'sinde negatif iken, %58.8'inde orta düzeyde ve %19.1'ünde ise güçlü düzeyde idi. Genel olarak suşların %22.1'i biyofilm negatif, %77.9'ü ise değişik düzeylerde biyofilm pozitif olarak saptandı.

Totalde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamadı (p:0.000; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %5.9'i hafif, %27.9'i orta ve %66.2'si güçlü bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında sonuçların %22.1'si negatif, %58.8'inde orta ve %19.1'ünde güçlü biyofilm oluşumu saptandı.

*Klebsiella pneumoniae* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunmuştur (p:0.059;

p>0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında sonuçların %62.5'inde, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında ise sonuçların %87.5'inde orta düzeyde biyofilm varlığı gözlenmiştir.

*P.aeruginosa* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamamıştır (p:0.000; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %4.5'i orta ve %95.5'i güçlü bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında sonuçların %4.5'i negatif, %59.1'i orta ve %36.4'ü güçlü biyofilm oluşumu göstermiştir

*Proteus mirabilis* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamamıştır (p:0.010; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %30'unda orta ve %70'inde güçlü biyofilm bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında sonuçların %70'inde negatif, %20'sinde orta ve %10'unda güçlü biyofilm varlığı saptanmıştır.

*Providencia stuartii* bakterisinde mikroplak yöntemi ile Kongo kırmızılı agar yöntemi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir uyum bulunamamıştır (p:0.028; p<0.05). Mikroplak yöntemi ile bakıldığında bakterilerin %12.5'inde hafif, %25'inde orta ve %62.5'inde güçlü biyofilm üretimi bulunurken, Kongo Kırmızılı Agar yöntemi ile bakıldığında ise sonuçların %50'si negatif bulunmuş, %50'sinde ise orta düzeyde biyofilm üretimi saptanmıştır.

Çalışmamızda izole edilen 22 *Pseudomonas aeruginosa* izolatının, biyofilm oluşturan 18 suşu kolistin'e duyarlı, 1 suş dirençli bulunurken, güçlü biyofilm oluşturan 10 suşun tümü netilmisine duyarlı bulunmuştur. Bu sonuçlar Kolistin duyarlılığı açısından literatür ile uyum sağlamaktadır.

Çalışmamızda, biyofilm oluşturan 13 *Pseudomonas aeruginosa* izolatu piperasiline dirençli iken 3'ü duyarlı bulunmuştur. Biyofilm oluşturan 15 *Pseudomonas aeruginosa* izolatının piperasilin/tazobaktama dirençli, 5'inin ise duyarlı olduğu gözlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. López D, Vlamakis H, Kolter R. Biofilms. Cold Spring Harb Perspect Biol. [Internet]. 2010 Jun 2 [cited 2018 Nov 22];2(7):a000398. Available from: <https://cshperspectives.cshlp.org/content/2/7/a000398>
2. Akçelik N, Akçelik M. Bakteriyel Biyofilmler ve Konakçı Savunma Sistemi ile Etkileşimleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi. [Internet]. 2017 Apr 24 [cited 2018 Nov 22];33(1):15-28. Available from: <http://dergipark.org.tr/erciyesfen/issue/35924/403116>
3. Yolbaş İ, Tekin R, Güneş A, Kelekçi S, Şen V, Tan İ, et al. Bir üniversite hastanesindeki *Acinetobacter baumannii* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. Journal of Clinical & Experimental Investigations/Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi. [Internet]. 2013 Sep [cited 2018 Nov 24];4(3). Available from: [www.jceionline.org](http://www.jceionline.org)
4. Pastrana T, Jünger S, Ostgathe C, Elsner F, Radbruch L. A matter of definition—key elements identified in a discourse analysis of definitions of palliative care. Palliat Med. [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2018 Nov 25];22(3):222-32. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18477716>
5. WHO. (Ed.). National cancer control programmes: policies and managerial guidelines: World Health Organization. Italy: WHO. [Internet]. 2002 [cited 2018 Nov 25] Available from: <https://www.who.int/cancer/media/en/408.pdf>
6. Walsh D, Gombeski Jr WR, Goldstein P, Hayes D, Armour M. Managing a palliative oncology program: The role of a business plan. J Pain Symptom Manage. [Internet]. 1994 Feb [cited 2018 Nov 26];9(2):109-18. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7517428>
7. Ferris FD, Al Khateib AA, Fromantin I, Hoplamazian L, Hurd T, Krasner DL, et al. Palliative wound care: managing chronic wounds across life's continuum: a consensus statement from the International Palliative Wound Care Initiative. J Palliat Med. [Internet]. 13 Feb 2007 [cited 2018 Nov 28];10(1):37-9. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jpm.2006.9994>
8. Elliott R, McKinley S, Fox V. Quality improvement program to reduce the prevalence of pressure ulcers in an intensive care unit. Am J Crit Care. [Internet]. 2008 July [cited 2018 Nov 28];17(4):328-34. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18593831>
9. GÜNEŞ ÜY, İsmet E. Nemli yara iyileşmesi ve oklusif pansumanların nemli yara iyileşmesindeki önemi. C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi. [Internet]. 2006 [cited 2018 Nov 28];10(2):57-65. Available from: <http://eskidergi.cumhuriyet.edu.tr/makale/1374.pdf>
10. ÖZKORKMAZ EG, Yusuf Ö. Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi. [Internet]. 2009 [cited 2018 Nov 28];(2):63-7. Available from: <https://docplayer.biz.tr/17678889-Yara-iyilesmesi-ve-yara-iyilesmesinde-kullanilan-bazi-bitkiler.htm>
11. Kadriye A, AYGİN D. (2015) .Yaşlılarda Yara Gelişimi Risk Faktörleri, Önleme ve Bakım Yaklaşımları. Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi. [Internet]. 2015 Dec 27 [cited 2018 Nov 28];19(2): 54-9. Available from: <https://dergipark.org.tr/download/article-file/260164>



12. Shah JB. The history of wound care. The Journal of the American College of Certified Wound Specialists. [Internet]. 2012 Apr 19 [cited 2018 Dec 14]; 3(3):65-6. Available from :  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876498312000069?via%3Dihub>
13. Sipos P, Gyory H, Hagymasi K, Ondrejka P, Blázovics A. Special wound healing methods used in ancient Egypt and the mythological background. World J Surg. [Internet]. 2004 Feb [cited 2018 Dec 14];28(2):211. Available from: <http://www.ijps.org/article.asp?issn=0970-0358;yea>
14. Agrawal K, Chauhan N. (2012). Pressure ulcers: Back to the basics. Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India. [Internet]. 2012 May [cited 2018 Dec 14];45(2):244.
15. Joyce P, Moore ZE, Christie J. Organisation of health services for preventing and treating pressure ulcers. Cochrane Database Syst Rev. [Internet]. 2018 Dec 9 [cited 2018 Dec 14];(12). Available from: [https://www.cochrane.org/CD012132/WOUNDS\\_organisation-health-services-preventing-and-treating-pressure-ulcers](https://www.cochrane.org/CD012132/WOUNDS_organisation-health-services-preventing-and-treating-pressure-ulcers)
16. Pacific P. (2015) .Prevention and Treatment of Pressure Ulcers: Quick Reference Guide. National Pressure Ulcer Advisory Panel.75. [Internet]. 2015 [cited 2018 Dec 16] Available from: <http://www.epuap.org/wp-content/uploads/2010/10/Quick-Reference-Guide-DIGITAL-NPUAP-EPUAP-PPPIA-16Oct2014.pdf>
17. Sönmez A. Kronik Yaralarda Risk Faktörlerinin Ortadan Kaldırılması. Türkiye Aile Hekimliği Dergisi. [Internet]. 2007 May 9 [cited 2018 Dec 16];11(3):123-6. Available from: <http://www.turkailehekderg.org/makaleler/derleme/kronik-yaralarda-risk-faktorlerinin-ortadan-kaldirilmesi/>
18. Dündar D, Özacan SK, Atmaca E. Evde bakım hizmeti verilen hastaların bası yaralarındaki yüzeyel kolonizasyonun mikrobiyolojik incelenmesi. Kocatepe Tıp Dergisi. [Internet]. 2012 Apr [cited 2018 Dec 22];13(1). Available from: <https://kocatepetipdergisi.aku.edu.tr/PDF/OCAK%202012/5.%20makale.pdf>
19. Songu M, Katılmış H. Enfeksiyondan korunma ve immün sistem. J Med Updates. [Internet]. 2012 [cited 2018 Dec 22];2(1):31-42. Available from: <https://dergipark.org.tr/download/article-file/105535>
20. Bluestein D, Javaheri A. Pressure ulcers: prevention, evaluation, and management. Am Fam Physician. [Internet]. 2008 Nov 15 [cited 2018 Dec 21];78(10):1186-1184. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19035067>
21. Bilgehan H. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. 1987.
22. Kayser F, Bienz K, Eckert J, Zinkernagel R. Color Atlas of Medical Microbiology. New York,Thieme. 2005. 3(4), 231-3.
23. Palleroni NJ. Pseudomonas. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. 1. 2015.
24. Bilgehan H. Klinik mikrobiyoloji: özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi. 1990.
25. Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. Medical Microbiology, (Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2013.

26. Kurtoğlu MG, Bozkurt H, Güdücüoğlu H, Bayram Y, Berktaş M. Klinik örneklerden izole edilen *Proteus mirabilis* suşlarının antimikrobiale ajanlara duyarlılıkları. Genel Tıp Dergisi. [Internet]. 2009 May 3 [cited 2018 Dec 27];18(1). Available from: [https://www.journalagent.com/vtd/pdfs/VTD\\_12\\_2\\_145\\_148.pdf](https://www.journalagent.com/vtd/pdfs/VTD_12_2_145_148.pdf)
27. Høiby N. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. Pathogens and Disease. [Internet]. 2014 Apr 1 [cited 2018 Dec 27];70(3):205-11. Available from: <https://academic.oup.com/femspd/article/70/3/205/567119>
28. Hepdeniz ÖK, Seçkin Ö. Dinamik Mikrobiyal Bir Yaşam: Oral Biyofilm. Sdü Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. [Internet]. 2017 Jul 18 [cited 2018 Dec 27];8(3):47-55. Available from: <https://dergipark.org.tr/download/issue-full-file/33942>
29. Donlan RM, Costerton JW. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. [Internet]. 2002 May [cited 2018 Dec 29];15(2):167-93. Available from: <https://cmr.asm.org/content/15/2/167>
30. Vu B, Chen M, Crawford R, Ivanova E. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. Molecules. [Internet]. 2009 May 18 [cited 2018 Dec 27];14(7):2535-54. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/14/7/2535>
31. Gün İ, İkinci FY. Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. Gıda Dergisi. [Internet]. 2009 Mar 2 [cited 2018 Dec 22];34 (3):165-173. Available from: <http://www.gidadernegi.org/EN/Genel/dg.ashx?BELGEANAH=1141&DIL=2&DOSYASIM=703340305.pdf>
32. Şimşek N, Bulut ET. Biyofilm ve Endodonti: Bölüm. İnönü sağlık bilimleri dergisi. [Internet]. 2012 [cited 2018 Dec 22];2:1-5. Available from: <http://openaccess.inonu.edu.tr:8080/xmlui/handle/11616/4779>
33. Flemming H-C, Wingender J, Griebe T, Mayer C. Physico-chemical properties of biofilms. Biofilms: recent advances in their study and control. [Internet]. 2000 Dec 21 [cited 2018 Dec 22]:19-34. Available from: <https://www.crcpress.com/Biofilms-Recent-Advances-in-their-Study-and-Control/Evans/p/book/9789058230935>
34. O'toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. Mol Microbiol. [Internet]. 1998 [cited 2018 Dec 22];28(3):449-61. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>
35. Briandet R, Herry J-M, Bellon-Fontaine M-N. Determination of the van der Waals, electron donor and electron acceptor surface tension components of static Gram-positive microbial biofilms. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. [Internet]. 2001 Aug [cited 2018 Dec 24];21(4): 299-310. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11397632>
36. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis. [Internet]. 2002 Sep [cited 2018 Dec 24];8(9):881. Available from: [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/8/9/02-0063\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/8/9/02-0063_article)
37. Sakuragi Y, Kolter R. Quorum-sensing regulation of the biofilm matrix genes (pel) of *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol. [Internet]. 2007 May 2 [cited 2018 Dec 22];189(14):5383-6. Available from: <https://jb.asm.org/content/189/14/5383>
38. Cengiz T, Mısırlıgil A, Aydın M. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş yayınevi. 2005.

39. Ammendolia M, Di Rosa R, Montanaro L, Arciola C, Baldassarri L. Slime production and expression of the slime-associated antigen by staphylococcal clinical isolates. *J Clin Microbiol.* [Internet]. 1999 Oct [cited 2018 Dec 22];37(10): 3235-8. Available from: <https://jbm.asm.org/content/189/14/5383>
40. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology.* [Internet]. 2000 Oct 54(1):49-79. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.micro.54.1.49>
41. Öztürk Ş, Sakarya S, Öncü S, Ertuğrul M. Biyofilmler ve yabancı cisim infeksiyonları. *Klimik Derg.* [Internet]. 2008 [cited 2018 Dec 26];21(3):79-86. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.micro.54.1.49>
42. Gilmore KS, Srinivas P, Akins DR, Hatter KL, Gilmore MS. Growth, development, and gene expression in a persistent *Streptococcus gordonii* biofilm. *Infect Immun.* [Internet]. 2003 Aug [cited 2018 Dec 25];71(8): 4759-66. <https://iai.asm.org/content/71/8/4759>
43. Kaplan JB, Ragunath C, Ramasubbu N, Fine DH. Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilm cells by an endogenous  $\beta$ -hexosaminidase activity. *J Bacteriol.* [Internet]. 2003 Aug [cited 2018 Dec 13];185(16): 4693-8. Available from: <https://jbm.asm.org/content/185/16/4693>
44. Izano EA, Amarante MA, Kher WB, Kaplan JB. Differential roles of poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide and extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Appl Environ Microbiol.* [Internet]. 2007 Nov 13 [cited 2018 Dec 13];74(2): 470-6. Available from: <https://aem.asm.org/content/74/2/470>
45. Turovskiy Y, Kashtanov D, Pashover B, Chikindas ML. Quorum sensing: fact, fiction, and everything in between. *Adv Appl Microbiol.* [Internet]. 2007 [cited 2018 Dec 22];62: 191-234. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065216407620073?via%3Dihub>
46. Yeniçeri M. Bakterilerde Quorum Sensing ve Antimikrobiyal Direnç Olan Etkisi. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2019 Sep 27];3(1):41-5. Available from: <https://dergipark.org.tr/cusbed/issue/38718/455907>
47. Czajkowski R, Jafra S. Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. *Acta Biochim Pol.* [Internet]. 2009 Feb [cited 2018 Nov 22];56(1):1-16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19287806>
48. Smith JL, Fratamico PM, Novak JS. Quorum sensing: a primer for food microbiologists. *J Food Prot.* [Internet]. 2004 June [cited 2018 Nov 22];67(5):053-70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15151251>
49. Cámara M, Williams P, Hardman A. (2002). Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk. *The Lancet infectious diseases.* [Internet]. [cited 2018 Nov 22];2(11): 667-76. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(02\)00447-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(02)00447-4/fulltext)
50. Asad S, Opal SM. Bench-to-bedside review: quorum sensing and the role of cell-to-cell communication during invasive bacterial infection. *Critical care.* [Internet]. 2008 Dec [cited 2018 Nov 22];12(6): 236. Available from: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/cc7101>

51. Novick RP. (2003). Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol Microbiol.* [Internet]. [cited 2018 Nov 22];48(6):1429-49. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2958.2003.03526.x>
52. Lewis K. (2001). Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 45(4):999-1007. <https://aac.asm.org/content/45/4/999>
53. Darouiche RO. Treatment of infections associated with surgical implants. *N Engl J Med.* [Internet]. 2004 Apr 1 [cited 2018 Nov 22];350(14):1422-9. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra035415>
54. Kokare C, Chakraborty S, Khopade A, Mahadik KR. Biofilm: importance and applications. *Indian journal of biotechnology.* [Internet]. 2008 Nov 2 [cited 2018 Nov 22];8:159-168. Available from: [https://www.researchgate.net/journal/0972-5849\\_Indian\\_Journal\\_of\\_Biotechnology](https://www.researchgate.net/journal/0972-5849_Indian_Journal_of_Biotechnology)
55. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis.* [Internet]. 2001 Mar [cited 2018 Nov 22];7(2): 277. Available from: <https://wwwnc.cdc.gov/eid/>
56. Donlan R, Murga R, Carson L, editors. Growing biofilms in intravenous fluids. Biofilms, the good, the bad, and the ugly. Presented at the fourth meeting of the Biofilm Club. [Internet]. 1999 [cited 2018 Dec 25]:23-29. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1726490117302587>
57. Kokare C, Kadam S, Mahadik K, Chopade B. Studies on bioemulsifier production from marine *Streptomyces* sp. S1 *Indian Journal of Biotechnology.* [Internet]. 2006 May 4 [cited 2018 Nov 22];6(1):78-84. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/279898473\\_Studies\\_on\\_bioemulsifier\\_production\\_from\\_marine\\_Streptomyces\\_sp\\_S1](https://www.researchgate.net/publication/279898473_Studies_on_bioemulsifier_production_from_marine_Streptomyces_sp_S1)
58. Overman PR. Biofilm: a new view of plaque. *The journal of contemporary dental practice.* [Internet]. 2000 Jun 1 [cited 2018 Nov 22];(3):1-8. <https://www.thejcdp.com/doi/pdf/10.5005/jcdp-1-3-37>
59. Lew DP, Waldvogel FA. (2004). Osteomyelitis. *The Lancet.* [Internet]. 2004 July 24 [cited 2018 Nov 22];364(9431):369-79. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(04\)16727-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(04)16727-5/fulltext)
60. Kumar V, Cotran RS. Robbins' basic pathology. *Arch Pathol Lab Med.* [Internet]. 1994 [cited 2018 Nov 22];118(2):203. Available from:
61. Butt A, Khan A. (2015). Antibiotics resistance of bacterial biofilms. *Middle East Journal of Business.* [Internet]. 2015 Oct [cited 2018 Nov 22];10(4):38-45. [https://www.researchgate.net/publication/281937932\\_Antibiotics\\_Resistance\\_of\\_Bacterial\\_Biofilms](https://www.researchgate.net/publication/281937932_Antibiotics_Resistance_of_Bacterial_Biofilms)
62. Driffield K, Miller K, Bostock J, O'Neill A, Chopra I. (2008). Increased mutability of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. *J Antimicrob Chemother.* [Internet]. 2008 Feb 6 [cited 2018 Nov 22];61(5):1053-6. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/61/5/1053/846026>
63. Turhan EÜ, Erginkaya Z. (2017). Bakteriyele Biyofilmlerdeki Antimikrobiyel Direnç Mekanizması. *Akademik Gıda.* [Internet]. 2018 Jun 6 [cited 2018 Nov 22];17(1):131-9. Available from: <https://dergipark.org.tr/akademik-gida/issue/44216/544978>

64. Arciola C, Campoccia D, Borrelli A, Donati M, Montanaro L. Congo red agar plate method: improved accuracy and new extended application to *Staphylococcus aureus*. *The new microbiologica*. [Internet]. 2001 Oct [cited 2018 Nov 22];24(4):355-63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11718373>
65. Robson MC, Mannari RJ, Smith PD, Payne WG. Maintenance of wound bacterial balance. *The American journal of surgery*. [Internet]. 1999 Nov [cited 2018 Nov 22];178(5):399-402. Available from: [https://www.americanjournalofsurgery.com/article/S0002-9610\(99\)00208-1/fulltext](https://www.americanjournalofsurgery.com/article/S0002-9610(99)00208-1/fulltext)
66. Şahin AD, Seyrek S, Ertürk A, Artantaş AB. Evde Bakım Hastalarında Bası Yaraları ve Hastaların Demografik Özellikleri. *Konuralp Tıp Dergisi*. [Internet]. 2017 Mar 10 [cited 2018 Nov 22];9(1):14-8. Available from: <https://dergipark.org.tr/download/article-file/269359>
67. Esen O, Öncül S, Yılmaz M, Esen HK. Retrospective Evaluation of Pressure Sores of Patients in Intensive Care. *J Kartal TR*. [Internet]. 2016 Jun 16 [cited 2018 Nov 22];27(2):111-115. Available from: [https://www.journalagent.com/scie/pdfs/KEAH-60024-RESEARCH\\_ARTICLE-ESEN%5BA%5D.pdf](https://www.journalagent.com/scie/pdfs/KEAH-60024-RESEARCH_ARTICLE-ESEN%5BA%5D.pdf)
68. Ferrell BA, Josephson K, Norvid P, Alcorn H. Pressure ulcers among patients admitted to home care. *J Am Geriatr Soc*. [Internet]. 2000 Oct [cited 2018 Nov 22];48(9):1042-7. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1532-5415.2000.tb04778.x>
69. Bergquist S. Pressure ulcer prediction in older adults receiving home health care: implications for use with the OASIS. *Adv Skin Wound Care*. [Internet]. 2003 Jun 16 [cited 2018 Nov 22];16(3):132-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12789035>
70. Aktürk AŞ, Atmaca E, Zengin S, Bayramgürler D. Kocaeli İlinde Evde Bakım Hizmeti Alan Hastalarda Bası Ülserlerinin Prevalansı ve Klinik Özellikleri. *Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi*. [Internet]. 2017 Mar 23 [cited 2018 Nov 22]; 44:128-131. Available from: <https://dergipark.org.tr/ktd/issue/28501/286610>
71. Bale S, Finlay I, Harding K. Pressure sore prevention in a hospice. *J Wound Care*. [Internet]. 1995 Nov [cited 2018 Nov 22];4(10):465-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8548573>
72. Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay D, Fatma T, Rattan A. Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol*. [Internet]. 2006 Jan [cited 2018 Nov 22];24(1):25. Available from: <http://www.ijmm.org/article.asp?issn=02550857;year=2006;volume=24;issue=1;spage=25;epage=29;aulast=Mathurs://www.magonlineibrary.com/doi/abs/10.12968/jowc.1995.4.10.465>
73. Donlan R. Biofilms on central venous catheters: is eradication possible? *Bacterial biofilms*: Springer. *Curr Top Microbiol Immunol*. [Internet]. 2008 [cited 2018 Nov 22];322:133-61. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18453275>
74. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun*. [Internet]. 1982 Jul [cited 2018 Nov 22];37(1):318-26. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC347529/>

75. Freeman D, Falkiner F, Keane C. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol*. [Internet]. 1989 Aug [cited 2018 Nov 22];42(8):872-4. Available from: <https://jcp.bmj.com/content/42/8/872>
76. Vasudevan P, Nair MKM, Annamalai T, Venkitanarayanan KS. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. *Vet Microbiol*. [Internet]. 2003 Mar 20 [cited 2018 Nov 22];92(1-2):179-85. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113502003607?via%3Dihub>
77. Knobloch JK-M, Horstkotte MA, Rohde H, Mack D. (2002). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Med Microbiol Immunol*. 191(2): 101-6. [Internet]. 2002 Jun 29 [cited 2018 Dec 22] Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12410349>
78. Yazdani R, Oshaghi M, Havayi A, Pishva E, Salehi R, Sadeghizadeh M, et al. (2006). Detection of *icaAD* gene and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates from wound infections. *Iran J Public Health*. [Internet]. 2006 Jun [cited 2018 Nov 22];25-8. Available from: <http://ijph.tums.ac.ir/index.php/ijph/article/view/2174>
79. Taj Y, Fatima I, Ali SW, Kazmi SU. Detection of genes for superantigen toxins in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Karachi. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan: JCPSP*. [Internet]. 2014 Feb [cited 2018 Nov 22];24(2):101-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24491003>
80. Melo PdC, Ferreira LM, Nader Filho A, Zafalon LF, Vicente HIG, Souza Vd. Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Braz J Microbiol*. [Internet]. 2013 May 17[cited 2018 Dec 14];44(1):119-24. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1517-83822013000100017&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822013000100017&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
81. Moskowitz SM, Foster JM, Emerson JC, Gibson RL, Burns JL. Use of *Pseudomonas* biofilm susceptibilities to assign simulated antibiotic regimens for cystic fibrosis airway infection. *J Antimicrob Chemother*. [Internet]. 2005 Sep 27 [cited 2018 Dec 14];56(5):879-86. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/56/5/879/893178>
82. Çoban AY, Çaycı YT, Yıldırım T, Erturan Z, Durupınar B, Bozdoğan B. Kistik Fibrozisli Hastalardan İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Plazmid Aracılı Kinolon Direncinin Araştırılması. *Mikrobiyol Bul*. [Internet] 2011 Mar 23 [cited 2018 Dec 12];45(4):602-8. Available from: [http://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu\\_folder/2011-04/html/2011-45-4-602-608.html](http://www.mikrobiyolbul.org/managete/fu_folder/2011-04/html/2011-45-4-602-608.html)
83. Tetik T, Eryılmaz M, Ahmet A. Çeşitli klinik örneklerden izole edilen stafilocok suşlarında slime oluşumu ve antibiyotik direnci arasındaki ilişkinin araştırılması. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. [Internet] 2010 Jan [cited 2018 Dec 12];39(3):187-94. Available from: [http://journal.pharmacy.ankara.edu.tr/wpcontent/uploads/sites/246/2018/11/2018jfpau\\_422\\_SECURED.pdf](http://journal.pharmacy.ankara.edu.tr/wpcontent/uploads/sites/246/2018/11/2018jfpau_422_SECURED.pdf)
84. Turkseven A, Ozcelik D, Ozturk E, Karadag G, Cakit H, Ankarali H. Use of tissue culture indeterminig infection agent in pressure sore cases. *Turkish journal ofplastic surgery*. [Internet] 2012 Jan [cited 2018 Dec 12];20(3):24-30. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/289233717\\_Use\\_of\\_tissue\\_culture\\_in\\_determining\\_infection\\_agent\\_in\\_pressure\\_sore\\_cases](https://www.researchgate.net/publication/289233717_Use_of_tissue_culture_in_determining_infection_agent_in_pressure_sore_cases)

85. Aydemir DH. Bakteriyal Biyofilmlerin Biyolojik Önemi ve Etkili Kontrol Stratejileri. Türk Yaşam Bilimleri Dergisi. [Internet] 2018 Jun 6 [cited 2018 Dec 14];3(1), 218-30. Available from: <https://dergipark.org.tr/download/article-file/437122>
86. Koksall F, Yasar H, Samasti M. Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. Microbiol Res. [Internet]. 2009 [cited 2018 Dec 12];164(4), 404-10. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501307000560?via%3Dihub>
87. Engel LS. Multidrug-resistant gram-negative bacteria: trends, risk factors, and treatments. Emerg Med. [Internet]. 2009 Nov [cited 2018 Dec 12];41(11), 18-27. Available from: <https://www.mdpi.com/1010-660X/54/6/92>
88. Di Domenico E, Farulla I, Prignano G, Gallo M, Vespaziani M, Cavallo I, et al. (2017). Biofilm is a major virulence determinant in bacterial colonization of chronic skin ulcers independently from the multidrug resistant phenotype. Int J Mol Sci. [Internet]. [cited 2018 Dec 12];18(5), 1077. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/5/1077>



## EKLER

### Ek. Etik Kurul Kararı



T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

SAYI : HNEAH-KAEK 2018/ 480  
KONU : Araştırma Onay Başvurusu

08.01.2018

Sayın Yrd.Doç.Dr.Hilal ÖZKAYA

Sorumlu araştırmacı olduğunuz, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Palyatif Bakım Merkezi "Yatağa bağımlı kronik hastalarda hastalarda hastalardan izole edilen etken mikroorganizmalarda biyofilm oluşumunun incelenmesi ve direnç gelişimiyle ilişkisinin değerlendirilmesi" başlıklı çalışmaya ait sunmuş olduğunuz başvuru dosyası ile ilgili belgeleri araştırmanın amacı, gerekece, yaklaşım ve yöntemleri yürürlükte bulunan "İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve "Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği" dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın yürütülmesinde etik açıdan sakınca olmadığına 08.01.2018 tarihli toplantımızda oy birliğiyle HNEAH-KAEK 2017/155 (HNEAH-KAEK 2017/KK/155) karar no ile karar verilmiştir.

"İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik" ve "Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği" kapsamında yer alan araştırmalar için çalışmaya başlamadan önce Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.

Araştırmada kullanılacak tüm ilaçların ve tetiklerin destekleyici, destekleyici yoksa araştırmacı tarafından karşılanması, destek alınacak ise desteği alınacak taahhüt edilen kurumun cevabı yazısının bir kopyasının araştırma başlamadan önce etik kurulumuza tarafınıza iletilmesi,

Araştırmanın başlamaması, iptali ve sonlandırılması halinde tarafınıza bilgi verilmesi, Araştırmanın Helsinki Bildirgesi'nin son maddesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu ve ilgili mevzuata uygun olarak yürütülmesi,

Çalışma tamamlandığında tarafınıza bildirilmesi ve araştırmaya ait yıllık bildirim raporunun tarafınıza sunulması gerekmektedir.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. M. İhsan KARAMAN  
Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Ek: HNEAH Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu





T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

SAYI : HNEAH-KAEK 2018/510  
KONU : Araştırma Onay Başvurusu

08.01.2018

**Yrd.Doç.Dr.Hilal ÖZKAYA**

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Palyatif Bakım  
Merkezi

Kurulunuz tarafından 08.01.2018 tarihli toplantımızda incelenmiş olan HNEAH-KAEK 2017/155 (HNEAH-KAEK2017/KK/155) karar nolu "Yatağa bağımlı kronik bası yaralı hastalarda bası yarısından izole edilen etken mikroorganizmalarda biyofilm oluşumunun incelenmesi ve direnç gelişimiyle ilişkinin değerlendirilmesi" başlıklı araştırmanız onaylanmış olup, kurumumuz Başhekimliğinden/Yöneticiliğinden araştırmanın hastanede yürütülmesinde sakınca olmadığına dair yazılı iznin alınmasından sonra çalışmaya başlamanız uygundur.

Bilgilerinize rica ederim.

Prof.Dr. M.İhsan KARAMAN  
Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

# ÖZGEÇMİŞ

## BİREYSEL BİLGİLER

- **Adı – Soyadı:** Elifnaz İlgar
- **Doğum yeri ve tarihi:** Şişli - 27/07/1991
- **Uyruğu:** T.C.
- **Medeni durumu:** Bekar
- **E-posta :** elifnazilgar@gmail.com
- **Yabancı dili:** İngilizce, Almanca, Arapça

## EĞİTİM

- **Yüksek Lisans:** Sağlık Bilimleri Üniversitesi – Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2019)
- **Lisans:** Fatih Üniversitesi – Biyoloji (İngilizce) (2014)
- **Lise:** Maltepe Anadolu Lisesi (2009)

## MESLEKİ DENEYİM

- Zeynep Kamil Hastanesi Genetik Tanı Merkezi.- Sitogenetik Lab.-Stajyer- 2013
- Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi—Mikrobiyoloji Ünitesi- Stajyer - 2017
- Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi-Bakteriyoloji / Mikoloji / Moleküler -Stajyer- 2017
- Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi-Mikrobiyoloji Ünitesi-Araştırmacı- 2018