

**T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ**

**KRONİK TONSİLLİT TEDAVİSİNDE  
MUKOZAL BİOFİLMİN ÖNEMİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Fuat BULUT**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Faruk MERİÇ**

**KULAK BURUN BOĞAZ**

**ANABİLİM DALI**

**DİYARBAKIR  
2009**

## TEŞEKKÜR

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalında uzmanlık eğitimim süresince tecrübe ve bilgisini paylaştığım, çalışmanın yürütülmesi ve yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof.Dr. Faruk MERİÇ'e,

Değerli hocam ve Anabilimdalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. İsmail TOPÇU'ya,

Ayrıca değerli hocalarım Yrd.Doç.Dr. Müzeyyen YILDIRIM BAYLAN'a, Yrd.Doç.Dr. Ediz YORGANCILAR'a, Yrd.Doç.Dr. Ramazan GÜN'e, Op.Dr. salih BAKIR'a ,

Histoloji Anabilimdalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yusuf NERGİZ'e, Sayın Prof.Dr. Murat AKKUŞ'a, Sayın Dr.Yasemin NASIR'a,

Asistanlık eğitimim boyunca çalışma fırsatı bulduğum, her zaman yanımda hissettiğim, dostluklarını kalbimde hissettiğim tüm arkadaşlarıma ve servis çalışanlarımıza,

Bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen anneme, babama ve büyük desteğini gördüğüm canım eşim Dr. Zehra KILINÇ BULUT'a

En içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Fuat BULUT  
Diyarbakır, 2009

# İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VI – IX
TABLOLAR DİZİNİ .....	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1- 2
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Palatin Tonsil.....	3
2.1.1. Palatin Tonsil Embriyolojisi .....	3
2.1.2. Palatin Tonsil Histolojisi.....	4- 5
2.1.3. Palatin Tonsil Anatomisi.....	5
2.1.3.1. Arterleri.....	5-6
2.1.3.2. Venleri.....	6
2.1.3.3. Lenfatik Drenajı .....	6
2.1.3.4. İnnervasyonu .....	6
2.2. Palatin Tonsillerin İmmünolojisi.....	6- 7
2.2.1. İmmün Cevapta İlk Basamak.....	7- 8
2.2.2. İmmün Cevapta İkinci Basamak.....	8- 9
2.2.3. İmmünopatoloji .....	9- 10
2.3. Palatin Tonsillerin Bakteriyolojisi. ....	10 -11
2.4 Palatin Tonsillerin Büyüklüğünün Derecelendirilmesi .....	11-12
2.5. Tonsillektomi Endikasyonları.....	12
2.5.1. Kesin Endikasyonlar.....	12
2.5.2. İsteğe Bağlı Endikasyonlar .....	12- 13
2.6. Biofilm .....	14
2.6.1. Tanım.....	14
2.6.2. Biofilm Yapısı.....	14- 15
2.6.3. Biofilm Oluşumu .....	15- 17
2.6.4. Bakteriler Arası Haberleşme (Quorum– Sensing Mekanizması)	
.....	17- 20
2.6.5. Biofilmin Özellikleri.....	20- 21

2.6.6. Biofilm Enfeksiyonlarında Etken Olan Mikroorganizmalar ve İlişkili Olan Kalıcı Tıbbi Araçlar.....	21-22
2.6.7. Biofilmin Hastalıklarla İlişkisi .....	22- 24
2.6.8. Mukozal Biofilmin Günümüzdeki Önemi .....	24- 26
2.6.9. Doğada Biofilm .....	26
2.6.10. Biofilmdeki Bakteri ile Planktonik Bakteri Arasındaki Farklar .....	26- 28
2.6.11. Kulak Burun Boğaz Enfeksiyonlarında Biofilm .....	28- 29
2.6.11.1. Kronik Tonsillitte Mukozal Biofilm Oluşumu.....	29- 30
2.6.12. Faydalı Biofilmler. ....	30
2.6.13. Biofilm ve Kültür.....	30- 31
2.6.14. Biofilmin Görüntülenmesi .....	31- 32
2.6.15. Biofilm Direnci.....	32- 33
2.6.15.1. Biofilm İçine Düşük Penetrasyon.....	34- 35
2.6.15.2. Biofilm Fenotipi Varyantlarının Oluşumu .....	35-36
2.7. Antibiofilm Etkili Ajanlar .....	36
2.7.1. N-Asetilsistein .....	36- 37
2.7.1.a. N-Asetilsistein'in Mukozal Biofilm Üzerine Etkisi .....	37- 38
2.7.2. Asetilsalisilik asit .....	38- 39
2.7.2.a. Asetilsalisilik asit'in Mukozal Biofilm Üzerine Etkisi .....	39
3. MATERYAL VE METOD .....	40- 41
4. BULGULAR .....	42- 54
5. TARTIŞMA .....	55- 57
6. SONUÇ .....	58
ÖZET .....	59
ABSTRACT.....	60
7. KAYNAKLAR.....	61- 69
8.EKLER .....	70
EK 1 Hasta Değerlendirme Formu Örneği .....	70
EK 2 Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği .....	71

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AGBHS;</b>	A grubu $\beta$ hemolitik streptokok
<b>AHL;</b>	Açıl homoserin lakton
<b>ASA;</b>	Asetilsalisilik asit
<b>ASH;</b>	Antijen sunan hücre
<b>BCR;</b>	B cell (hücre) reseptörü
<b>COX;</b>	Siklooksijenaz
<b>DH;</b>	Dentritik hücre
<b>ECM;</b>	Ekstraselüler matrix
<b>FDH;</b>	Foliküler dentritik hücre
<b>FİSH;</b>	Floresan insitu hibridizasyon
<b>GSH;</b>	İndirgenmiş aktif glutatyon
<b>HEV;</b>	High endotelyal venül
<b>ICAM-1;</b>	İnterselüler adhezyon molekülü 1
<b>IL-1;</b>	İnterlökin 1
<b>KLTM;</b>	Konfokal tarama elektron mikroskopisi
<b>KNS;</b>	Koagülaz-negatif stafilokoklar
<b>LFA-1;</b>	Lenfosit fonksiyonu assosiye antijen 1
<b>LPS;</b>	Lipopolisakkarid
<b>MHC;</b>	Majör histokompatibilite
<b>MİK;</b>	Minimum inhibitör konsantrasyon
<b>NAC;</b>	N-asetilsistein
<b>NALT;</b>	Nazofarenks assosiye lenfoid doku
<b>NO SENTETAZ;</b>	Nitrik oksit sentetaz
<b>PAO1;</b>	P.aeroginosa doğal standart suşu
<b>PQS;</b>	Pseudomonas kinolon sinyal molekülü
<b>SEM;</b>	Tarama elektron mikroskopisi
<b>TEM;</b>	Transmisyon elektron mikroskopu
<b>TNF-alfa;</b>	Tümör Nekroz Faktör- alfa

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Palatin tonsil embriyolojisi (9) .....	sf 3
<b>Şekil 2.</b> Palatin tonsil histolojik yapısı (9) .....	sf 4
<b>Şekil 3.</b> Palatin tonsilin arteryel kanlanması (9) .....	sf 6
<b>Şekil 4</b> Tonsillerin fizyolojik hiperplazileri (9) .....	sf 7
<b>Şekil 5.</b> İmmün cevabın gelişiminde hücreler arasındaki etkileşim (9) .....	sf 8
<b>Şekil 6.</b> Tonsilla palatinanın büyüklüğünün derecelendirilmesi (9) .....	sf12
<b>Şekil 7.</b> Heterojen yapıda çamur bir yapı olarak adlandırılan biofilmin, hücrelere su ve besin taşıyan kanallar sistemi (enine oklarla gösterilen) mikroskopik düzeyde şematize edilmiştir (24). .....	sf 15
<b>Şekil 8.</b> Biofilmin gelişim basamakları (26) .....	sf 16
<b>Şekil 9.</b> “Quorum sensing” sistemi (hücrelerarası bilgi alışverişi) sayesinde, bir merkezde toplanan mikroorganizmalar biofilmin temelini oluşturur (36) .....	sf 18
<b>Şekil 10.</b> Pseudomonas aeruginosa’nın oluşturduğu biofilmde AHL sinyal molekül sistemi (41).....	sf 19
<b>Şekil 11.</b> SEM görüntüsü Staphylococcus aureus’un kateter yüzeyinde oluşturduğu biofilm (57) .....	sf 23
<b>Şekil 12.</b> Endokarditte biofilmin TEM görüntülenmesi. Fibröz matrix materyal izlenmektedir (61) .....	sf 24
<b>Şekil 13</b> Biofilm ve planktonik bakteri arasındaki ilişki (33) .....	sf 27
<b>Şekil 14.</b> Planktonik bakterinin biofilmden periyodik olarak ayrılması (80) .....	sf 28
<b>Şekil 15.</b> Biofilm ve planktonik bakteriler ile invitro ve invivo yapılacak çalışmalar sayesinde daha fazla klinik çalışma yapılabilir (89) .....	sf 30
<b>Şekil 16.</b> Antibiyotikler ve antikorlar dirençli biofilm tabakası tarafından engellenir (98) .....	sf 34
<b>Şekil 17.</b> Asetilsalisilik asit’in kimyasal yapısı (114) .....	sf 38
<b>Şekil 18.</b> COX enzimi ile araşidonik asit’ten prostaglandin oluşumu (117) .....	sf 38
<b>Şekil 19.</b> Kontrol grubu ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunda yüzey epiteli ve mukozal biofilm tabakasının normal görünümü (PAS, orijinal büyütme X80 ) .....	sf 42

- Şekil 20.** Kontrol grubu ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunda yüzey epiteli ve biofilm tabakasının büyük büyütmedeki görünümü (PAS, orijinal büyütme X160) ..... sf 42
- Şekil 21.** NAC 5 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının kısmen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X40) ..... sf 43
- Şekil 22.** NAC 5 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının kısmen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80) ..... sf 43
- Şekil 23.** NAC 10 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının incelendiği, epitelde yer yer dejenerasyon ve nekrotik hücreler izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80) ..... sf 44
- Şekil 24.** NAC 10 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının yer yer kaybolduğu ve yüzey epitelin ayrıştığı izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80) ..... sf 44
- Şekil 25.** ASA 5 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunda mukozal biofilm tabakasının kalınlığındaki azalmanın yanısıra yüzey epitelinin küçük büyütme ile normal görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X40) ..... sf 45
- Şekil 26.** ASA 5 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının kalınlığındaki azalmanın yanısıra yüzey epitelinin büyük büyütme ile normal görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80)..... sf 45
- Şekil 27.** ASA 10 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının tamamen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X40) ..... sf 46

- Şekil 28.** ASA 10 dk ışık mikroskopik inceleme: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının tamamen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80) ..... sf 46
- Şekil 29:** Kontrol grubu elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri, ◆: elektron yoğun sitoplazmalı epitel hücresi, ►: perinükleer ödem, \*: açılmış yanyüz bağlantı bölgeleri, V: bağlantı birimlerinde biofilm içeren vakuoler yapılar, ↑: intraepitelial biofilm ( Uranil nitrat -kurşun asetat) ..... sf 47
- Şekil 30:** Kontrol grubu büyük büyütmede elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri, ◆: elektron yoğun sitoplazmalı epitel hücresi, ►: perinükleer ödem, \*: açılmış yanyüz bağlantı bölgeleri, V: bağlantı birimlerinde biofilm içeren vakuoler yapılar, ↑: intraepitelial biofilm ( Uranil nitrat- kurşun asetat)... sf 48
- Şekil 31:** NAC 5 dk elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri, \*: normal yapıda yanyüz bağlantı bölgeleri, V: Vakuoler oluşumlar ( Uranil nitrat - kurşun asetat) ..... sf 49
- Şekil 32:** NAC 10 dk elektron mikroskopik inceleme E: Epitel hücreleri, \*: Tamamen ayrılmış yan yüz bağlantı birimleri ( Uranil nitrat -kurşun asetat) ..... sf 50
- Şekil 33:** ASA 5 dk elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri, ◆: antijen sunan hücre olduğu düşünülen bir hücre, ►: intrasitoplazmik ödem, \*: yer yer açılma gösteren yanyüz bağlantı bölgeleri, V: vakuoler yapılar, ↑: intrasellüler biofilm ( Uranil nitrat -kurşun asetat) ..... sf 51
- Şekil 34:** ASA 5 dk büyük büyütmede elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri, ◆: antijen sunan hücre olduğu düşünülen bir hücre, ►: intrasitoplazmik ödem, \*: yer yer açılma gösteren yanyüz bağlantı bölgeleri, V: vakuoler yapılar, ↑: intrasellüler biofilm, L: lipit damlacıkları ( Uranil nitrat -kurşun asetat) ..... sf 52
- Şekil 35:** ASA 10 dk elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri, ◆: antijen sunan hücre olduğu düşünülen bir hücre, \*: normal yapıda yanyüz bağlantı bölgeleri ( Uranil nitrat- kurşun asetat) ..... sf 53



**Şekil 36:** ASA 10 dk büyük büyütmede elektron mikroskopik inceleme.E:  
Epitel hücreleri,◆: antijen sunan hücre olduğu düşünülen bir hücre, \*: normal  
yapıda yanyüz bağlantı bölgeleri, V: Vakuoler oluşumlar ( Uranil nitrat  
-kurşun asetat) ..... sf 54

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1</b> Palatin tonsilin arterleri .....	sf 5
<b>Tablo 2.</b> Tonsillit etkenleri ve yaşa göre farklılıkları (9) .....	sf 11
<b>Tablo 3.</b> Palatin tonsillerin büyüklüğünün derecelendirilmesi (9) .....	sf 11
<b>Tablo 4.</b> Biofilm enfeksiyonlarında etken olan mikroorganizmalar ve ilişkili olan kalıcı tıbbi araçlar (50) .....	sf 21-22
<b>Tablo 5.</b> Araştırmaya alınan hastalar .....	sf 40

# 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tonsiller, humoral ve hücrel immun cevap için gerekli olan bütün hücre tiplerini içeren, vücudun savunmasında ve korunmasında oldukça önemli rol oynayan lenfoid dokulardır (1).

Sağlık standartlarının yükselmesi ile birlikte tonsil dokusunun enfeksiyonları, daha az görülmesine rağmen, çocuklarda ve erişkinlerde üst solunum yolu enfeksiyonları arasında halen ilk sırayı akut tonsillit almaktadır (2). Bu nedenle tonsil enfeksiyonları önemlidir. Akut tonsillit, uygun medikal tedavi sonrasında genellikle komplikasyonsuz olarak iyileşmektedir. Ancak bazı hastalarda medikal tedaviye rağmen, kronik tonsillit gelişebilmektedir. Uygun antibiyotik tedavisine rağmen, tonsillite neden olan mikroorganizmaların eradike edilememesi ve kronik tonsillite ilerlemesi çok şaşırtıcıdır. Örneğin A grubu  $\beta$  hemolitik streptokok (AGBHS)'lara bağlı gelişen tonsillitte, penisilin tedavisi alan hastaların tedavi sonrasında % 20'sinde bakteriyoloji pozitif bulunmuştur (3).

Kronik tonsillit ile birlikte komplikasyonlarda artış olmakta ve buna bağlı olarak tedavi maliyetinde, iş gücü kaybında artış görülebilmektedir. Çoğunlukla da bu hastalara tonsillektomi yapılmaktadır. Tonsillektomi olmak istemeyen hastalarda veya tonsillektominin kontrendike (kanama diyatezi gibi) olduğu hastalarda komplikasyon gelişmesi kaçınılmazdır. Son yıllarda belirli tedavi kriterlerinin oluşturulması (uygun antibiyotik tedavilerinin uygun sürede verilmesi gibi ), tonsillektomi uygulanmasını azalttıysa da, tonsillektomi çocukluk çağında uygulanan en sık cerrahi prosedür olmaya devam etmektedir (4).

Kronik tonsillitin patogeneğinde, tedaviye rağmen enfeksiyonun neden tekrarladığı veya medikal tedaviye neden direnç oluştuğunu açıklayacak farklı teoriler öne sürülmüştür (5).

Bu teoriler; kommensal organizmaların eliminasyonu, bakteriyel patojenlerin yanında viral patojenlerin de varlığı, streptokokların epitelyal hücrelere internalizasyonu, farklı bakteriyel patojenlerin varlığı ve biofilm oluşumudur. Biofilm oluşumu, en güncel ve en ilgi çekici teoridir. Bu teoriye göre; kronik tonsillite giden süreçte tonsil yüzeyinde oluşturulan bakteriyel biofilmler rol oynamaktadır. Bakterilerin bu şekilde bir araya gelerek oluşturdukları biofilm mekanizması, bir yaşam modelidir. Biofilmler, insanlarda görülen birçok kronik enfeksiyon hastalıkları ile ilişkili olmakla birlikte medikal tedaviye direncin de başlıca nedenidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla biofilmin insan hastalıkları ile olan ilişkisi ortaya konmuş olup (6), otorinolarengeolojideki önemi daha iyi anlaşılmıştır. Biofilm oluşumuna bağlı gelişen enfeksiyonlar, diğer kronik enfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi kronik tonsillitte de ilk dönemde genellikle asemptomatiktir. Konakçı direnci düştüğünde, biofilmden periyodik olarak kopup ayrılan planktonik yani serbest formu olan mikroorganizmalar akut enfeksiyona yol açabilir. Akut enfeksiyon ataklarında, aynı tedavilerle hastalığın remisyona sokulması zorlaşmaktadır.

Özellikle, akut tonsillit ile başlayan ve kronik tonsillit ile sonuçlanan süreçte, verilen tedavilerin iyice sorgulanması amacı ile antibiofilm etkileri olan iki ajan seçildi. Mukolitik etkili, antioksidan özelliği olan N-asetilsistein (NAC) ve analjezik-antiinflamatuvar etkili, antiagregan özelliği olan Asetilsalisilik asit (ASA) kullanıldı. NAC'ın, özellikle biofilm gibi oksidatif stres altındaki dokularda, spesifik antioksidanlara erişilebilirliği arttırarak (7), salisilatlar'ın ise biofilm üretimini % 95 inhibe ederek etki gösterdiği gösterilmiştir (8).

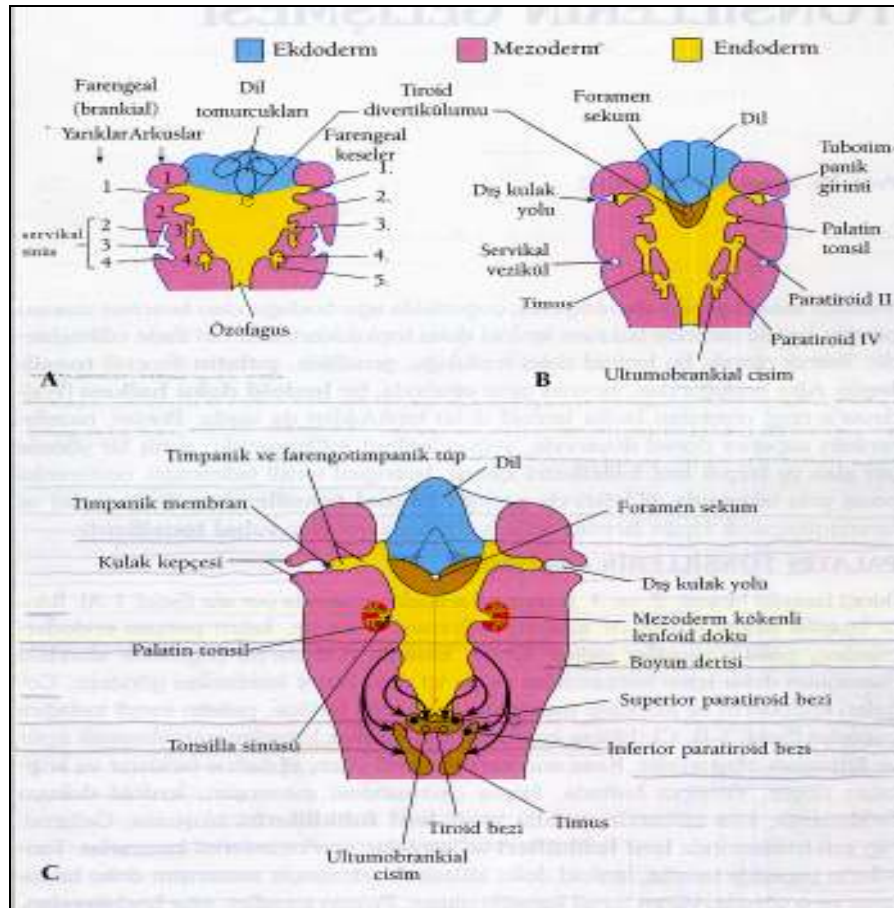
Literatür bilgileri ışığında, klinikte kronik tonsillit tanısı alan ve tonsillektomi yapılan 10 hastanın tonsil dokusunda oluşan biofilm tabakası, incelendi. İnvitro ortamda, tonsil dokusu üzerine antibiofilm etkili, NAC ve ASA uygulandı. Tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakası üzerinde oluşan değişiklikler, ışık ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak gösterildi. Rutinde Kulak Burun Boğaz polikliniklerinde sık reçete edilen NAC ve ASA'nın, kronik tonsillitte oluşan mukozal biofilm üzerine olan etkisi, dolayısı ile tedavideki yeri ve önemi farklı bir açıdan değerlendirildi.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Palatin Tonsil

#### 2.1.1. Palatin Tonsil Embriyolojisi

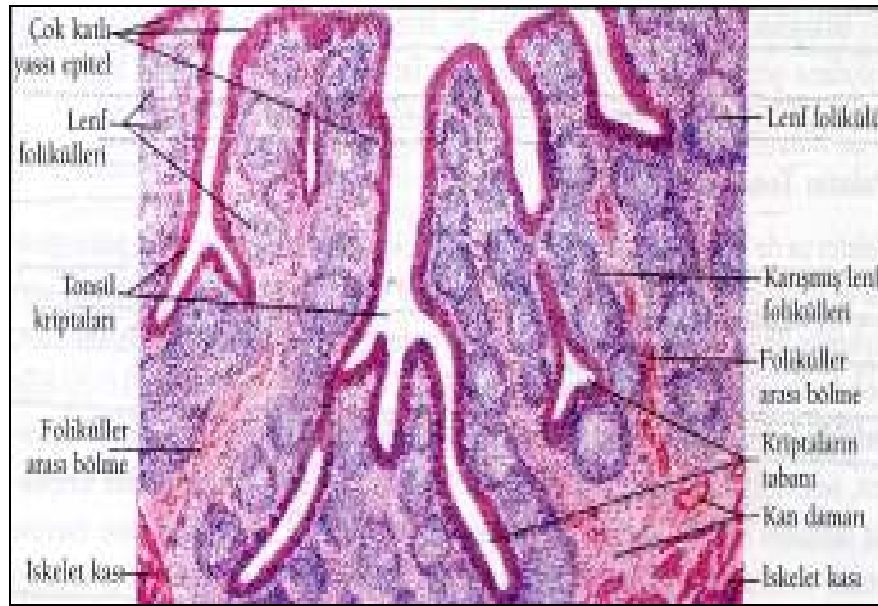
İkinci farenks kesesi, 2. ve 3. farengeal arkuslar arasında yer alır. İkinci farenks kesesi büyük bir kısmının silinmesine karşın, kalan parçası endoderminden, palatin tonsiller gelişir. Çoğalan endoderm ve altındaki mezenkim topluluğu birlikte, palatin tonsil taslağını yaparlar. Hücre kordonlarının merkez kısımları parçalanarak açılır ve kriptaları oluştururlar. Kase endodermi, tonsil yüzey epiteline farklanır ve kriptaları döşer. Yirminci haftada, kripta çevresindeki mezenşim, lenfoit dokuya farklanarak, kısa zamanda, palatin tonsil lenf foliküllerini oluşturur (9).



Şekil 1. Palatin tonsil embriyolojisi (9)

### 2.1.2. Palatin Tonsil Histolojisi

Palatin tonsil, mikrokompartmanlardan oluşur. Bunlar; kript epiteli, kript epitelyumuna paralel yerleşim gösteren büyük oranda B lenfositlerden oluşan foliküler germinal merkez, bunları çevreleyen taç şeklinde ‘mantle zone’ ve bunların arasında daha çok T lenfositlerin bulunduğu interfoliküler bölgelerdir. HEV (high endotelial venül), T ve B hücrelerin kandan tonsil dokusuna girişinde oldukça önemli fonksiyona sahiptir. Bu alanda yer alan hücreler, belli sitokinleri salgılamaktadır. Palatin tonsillerin serbest yüzeyleri, ağız ve farenks epitelyum örtüsünün devamı olan çok katlı yassı epitelyum ile döşelidir. Epitel bir bazal lamina üzerine oturur ve altında ince, fibröz bir bağ dokusu yer alır. Her bir palatin tonsilin derin yüzü, kas dokusundan fibröz yarım bir kapsülle ayrılır. Tonsil yüzeyi üzerinde yuvarlak, oval, yarık veya üçgen şeklinde delikler bulunur (9).



Şekil 2. Tonsilla palatinanın hisyolojik yapısı (9)

Bunlara ‘cryptae tonsillaris’ adı verilir. Kriptaların iç yüzeyini yassı epitelyum döşemektedir. Her lobun ortasında ‘kript’ bulunur. Kriptaların sayısı 10-30 arasında olup, ağız mukozası ile örtülüdürler ve tonsilla palatinanın medial yüzüne açılırlar. Epitel, dendritik hücreleri ve makrofajları içerir. Epitel kriptaları, sardıkları lenfoid doku tabakalarıyla kapsülden, invagine olan gevşek bağ dokusu ile birbirinden ayrılırlar. Tonsil parenkiması, yaygın bir lenfoid dokuya gömülü 1-2 mm kalınlığında pek çok

lenf foliküllerinden oluşur ve kriptaların epiteli altında tek bir tabaka halindedir. Palatin tonsillerin enfeksiyonlara karşı duyarlı olmalarının nedeni, müköz salgı yapan bez kanallarının kripta lümenlerine açılmamasından kaynaklanır. Çok çekirdekli lökositlerin çok sayıda gözlenmesi, tonsiller için enflamasyonun bir göstergesidir. Kripta lümenleri, dökülen yassı epitel hücreleri, granüler artıklar ve mikroorganizmalarla karışık, canlı ve dejenere lökositleri içerebilirler. Bu kitleler, sonradan peynirimsi plaklar biçiminde atılabilirler veya uzun bir süre kripta lümenlerinde kalacak olurlarsa kireçlenebilirler (9).

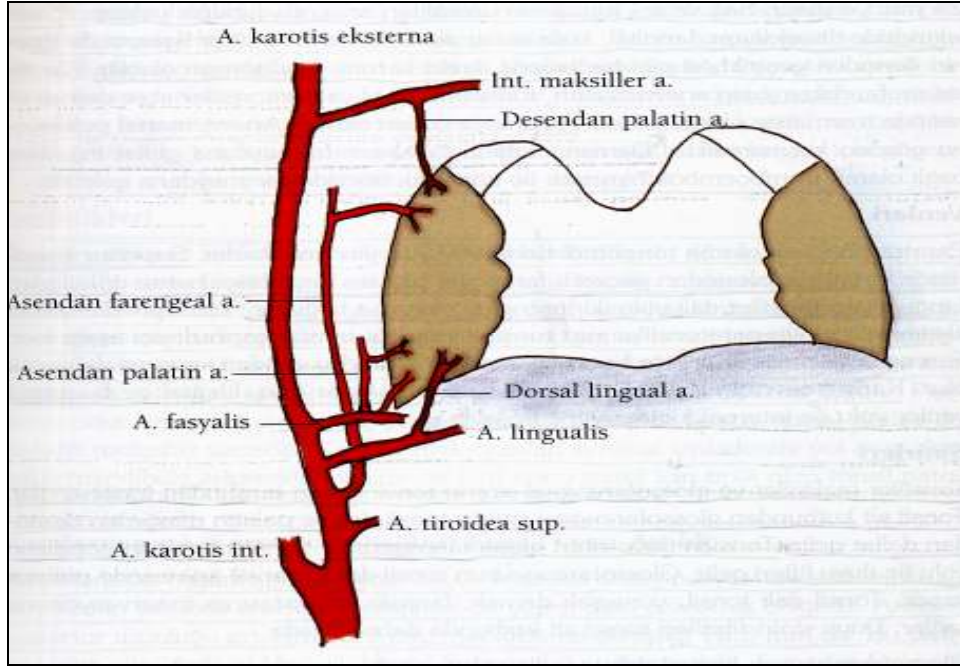
### 2.1.3. Palatin Tonsil Anatomisi

Tonsilla palatina, Waldeyer Lenf Halkasının ana elemanıdır. Tonsil ovoid biçimde, yaşa ve kişiye göre şekil ve büyüklük farkı gösterir. Tonsilin ortalama vertikal çapı 20 mm, transvers çapı 10-15 mm ve kalınlığı 10 mm dir. Tonsilla palatina orofarenksin lateral kısmında “fossa tonsillaris” denilen üçgen biçimli çukurlukta yer alır. Fossa tonsillaris önde arkus glossopalatinus, arkada arkus farengopalatinus, tabanda ise musculus konstrüktör farengus süperior sınırlar. Tonsilin dış yan yüzünde ise farengobaziller fasya tarafından oluşturulan, tonsile sıkıca yapışık yoğun elastik liflerden yapılmış, kapsül bulunur. Tonsil kapsülü, tonsili süperior konstrüktör adale ve onun lateralindeki stiloglossus adaleden ayırır. Tonsillektomide, tonsil kitlesi kapsülü ile çıkarılır ve bu cerrahi, tonsilla palatinanın 2 - 2.5 cm arka lateralinde a.karotis internanın bulunması nedeniyle de önem arzeder (9).

#### 2.1.3.1. Arterleri

**Tablo 1.** Palatin tonsilin arterleri (9)

<b>Üst kutup</b>
Desendan palatin arter (A. maksillaris)
Asendan farengeal arterin tonsil dalı
<b>Alt kutup</b>
A.fasyalisin tonsil dalı
Dorsal lingual arter (lingual arter)
Asendan palatin arter (A.fasyalis)



Şekil 3. Palatin tonsilin arteryel kanlanması (9)

#### 2.1.3.2. Venleri

Venöz drenaj, ortak fasial vene ve oradan da internal juguler vene olur.

#### 2.1.3.3. Lenfatik Drenaj

Tonsillanın afferent lenfatiği yoktur. Efferent lenfatikler üst derin servikal lenf nodlarına, özellikle “jugulodigastrik” lenf nodlarına drene olur.

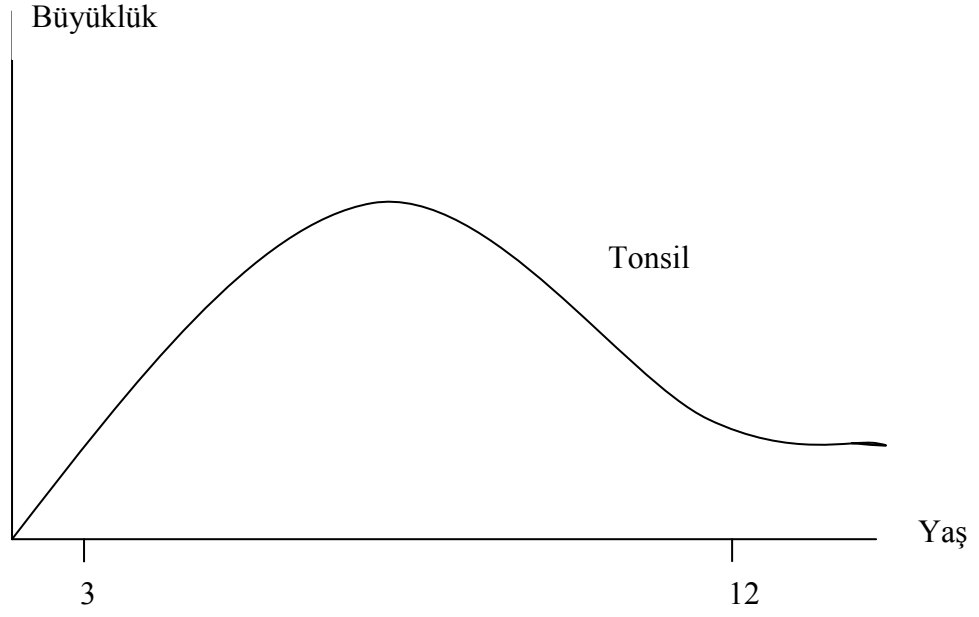
#### 2.1.3.4. İnnervasyon

Tonsilla palatinanın duyuşal innervasyonu, asıl olarak glossofarengeal sinirin tonsillar dalı ile olur. Sempatik fibriller ise süperior servikal gangliondan kaynaklanmakta olup, tonsillaya besleyici arterler etrafında ulaşırlar (10).

### 2.2. Palatin Tonsillerin İmmünolojisi

Tonsillopalatinalar, aktif immunolojik organlardır ve üst hava yolu mukozal immunitelerini güçlendirirler (11). Bakteriye yük ile birlikte T ve B hücre sayısı ile orantılı olarak, tonsillerde en belirgin immünolojik aktivite 3-10 yaş civarında gözlenmektedir. Yaşla bağılı olarak, tonsil boyutlarında küçülme gözlenmektedir.





**Şekil 4** Tonsillerin fizyolojik hiperplazisi (9)

Enfekte olmayan bir tonsilde, lenfositlerin kandan tonsillere ve tonsilden kana geri dönmesi, immün yeteneklilik için gereklidir. Dalak ve lenf nodülleri gibi sekonder bir lenfoid organ olan tonsiller, antijenin işlendiği bölgelerdir. Kript epitelyumunda M hücreleri tarafından yakalanıp dendritik hücrelere ulaşan antijenler, bu hücreler tarafından işlendikten sonra ekstrasfoliküler bölgeye ulaşır ve orada HEV aracılığıyla dokuya geçen T hücrelere sunulur. Ekstrasfoliküler alanda aktive T hücreler tarafından aktive edilen, spesifik antijeni tanıyan B hücreler germinal merkeze yerleşir. Orada proliferasyon olarak, antikoru üreten plazma hücreleri haline gelirler. Buradan diğer mukozal bölgelere dağılırlar. Bir kısım hücreler ise hafıza hücrelerine dönüşür (9).

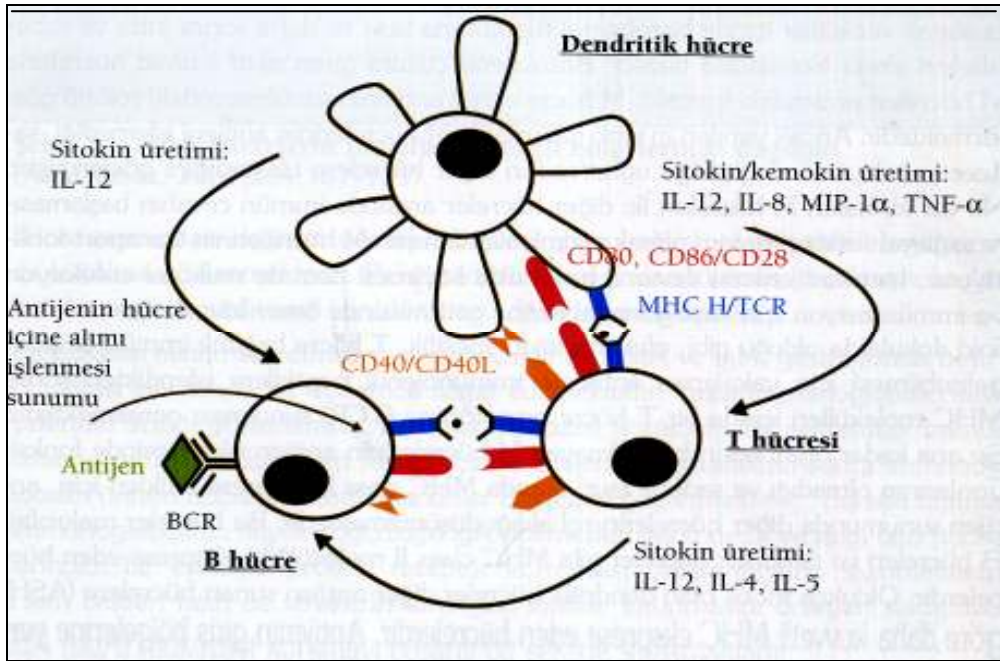
### **2.2.1. İmmün Cevapta İlk Basamak**

İlk immün cevap, orofarengeal kaviteye giren antijenlerin kript epitelyumu tarafından yakalanması ile başlatılır. M hücrelerinin burada önemli görevi vardır. M hücreleri, antijeni yakalayıp antijen transportunu gerçekleştiren hücrelerdir. Dendritik hücreler (DH) ise diğer antijen sunan hücrelere (ASH) göre daha kuvvetli major histokompatibilite (MHC) ekspres eden hücrelerdir. Dendritik hücrenin maturasyonu

(geri dönüşümsüz) bir tehlike sinyali aldıktan sonra, bakteriyel lipopolisakkarid (LPS) veya enflamatuvar sitokinler olan interlökin1 (IL-1), tümör nekroz faktör- $\alpha$  (TNF- alfa) ile gerçekleşmektedir. Sonuçta, endositik aktivite kaybolmakta ve T hücreyi stimüle edici kapasite artmaktadır (9).

### 2.2.2. İmmün Cevapta İkinci Basamak

Antijenler kript epitelinin geçtikten sonra, ektrafoliküler bölge veya lenfoid foliküllere ulaşır. Ektrafoliküler bölgede, özelleşmiş HEV bulunur. Bu venüllerde adhezyon moleküllerinden biri olan intersellüler adezyon molekülü 1 (ICAM-1) belirgin olarak eksprese edilmekte ve lenfosit fonksiyonu ile ilişkili antijen (LFA-1) taşıyan lenfositlerin bölgede tutulması sağlanmaktadır. Antijenin girişinden bir hafta sonra, antijen spesifik T hücreleri tonsiller foliküllerde bulunmaktadır. Antijen sunumu



Şekil 5. İmmün cevabın gelişiminde hücreler arasındaki etkileşim (9)

tamamlandıktan sonra ise DH'nin, T hücreler tarafından öldürüldüğü veya apoptoz ile öldüğü bilinmektedir. T ve B hücrenin hem aktivasyon hem de birbiriyle etkileşimini takiben, lenfoid foliküle girmesiyle, primer lenfoid folikülde germinal merkezler oluşur ve sekonder lenfoid folikül haline gelir. Germinal merkezler B hücrelerin, proliferasyon, somatik mutasyon, B hücre reseptörü (BCR), affinite maturasyonu ve immüoglobulin

izotip değişimi sonucu hafıza, B hücre ve plazma hücresi haline dönüşmesi için uygun mikroçevreyi sağlamaktadır. Hafıza hücreleri (plazma hücreleri)'nin büyük bir kısmı kemokinler aracılığıyla germinal merkezden ektrafoliküler bölgeye doğru göç ederler. Bu hücrelerin bir kısmı ise nazal mukoza, tükürük ve lakrimal bezlere yerleşerek, büyük oranda Ig A polimerleri üreten plazma hücrelerine farklılaşırlar. Başlangıçtaki antijen uyarısını takiben, 3–4 hafta içinde germinal merkez boyutları küçülür. Geriye sadece foliküler dentritik hücre (FDH)'ye yakın yerleşimli az sayıda antijen spesifik B-blastlar kalır (9).

### **2.2.3. İmmünopatoloji**

Nazofarenks assosiye lenfoid doku (NALT), üst solunum yolunu antijenlerden korumakta önemli rolü olan, organize bir lenfoepitelyal yapıdır. Bu lenfoepitelyal yapının immünolojik fonksiyonunu gerçekleştirmesi için, antijen sunan hücre (ASH) ve lenfositler arasında komplike bir etkileşim gerekmektedir. Özellikle CD40-CD40L etkileşimi, germinal merkez oluşumunda, somatik mutasyonda, yüksek affiniteadaki mutantların seleksiyonunda ve izotip değişiminde oldukça temel bir basamaktır. Tonsiller de, immün sistemde rol alan hücre ve moleküllerdeki defektlerden, diğer lenfoid dokulara benzer şekilde etkilenir. Bazı B ve T hücre yetmezliklerinde, tonsillerin hipoplazik oluşu ve immün cevap oluşturmaması bu duruma örnektir.

Sağlıklı palatin tonsilde, sürekli bir lenfoid hücre uyarımı gerçekleşmekte ve bu sabit aktivasyon hali de tonsillerin fizyolojik inflamasyonu olarak bilinmektedir. Tonsil lenfoid dokusundaki patojenlerin aktivitesi ve çoğalması, aktive lenfositler ve immunglobulin üreten hücrelerin koruyucu potansiyelini aşarsa, tonsillit halinden bahsedilir. Kronik veya rekürren enfeksiyonlu vakalarda cerrahi olarak tonsillerin çıkarılması, bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmekteyse de, tonsillektomi endikasyonunun dikkatle konulması gerekir (9). Tonsillektomide endikasyonlar yönünden tartışmalar vardır. Özellikle çok küçük çocuklarda konservatif davranılması önerilmektedir (12). Bunun nedeni, yaşamın ilk yıllarında immün yeteneği olan her çeşit lenfoid dokunun, optimal immün olgunlaşma ve immunglobulin için özellikle de IgA sisteminin gelişimi için gerekli olmasıdır (13).

Yapılan çalışmalarda, tonsillektominin uzun dönemde ortaya çıkan istenmeyen etkileri üzerinde durulmaktadır. Tonsillektomi yapılmış ve yapılmamış olan çocukların, polio virüsüne karşı nazofarengeal antikor cevabı karşılaştırıldığında, bu antikor cevabı tonsillektomi yapılmamış olanlarda ( spesifik IgA'nın antikor cevabına bağlı olarak) belirgin derecede yüksek bulunmuştur (14). Başka bir çalışmada ise tonsillektomi öyküsü olan kişilerde hodgkin lenfoma insidansının daha yüksek olduğu bulunmuştur (15).

### **2.3. Palatin Tonsillerin Bakteriyolojisi**

Üst solunum yolu mukozasının önemli bir bölümü nemli ortamı, zengin besin maddesi içerikleri ve uygun ısı nedeniyle normal flora ile kolonize olmuş durumdadır. Doğumdan itibaren bu florayı oluşturan mikroorganizmalar, konak ile çoğu kez mutual ve kommensal ilişki içinde olup nadiren enfeksiyona yol açarlar. Bununla birlikte çok sayıda etken, tonsil dokusunda inflamasyona sebep olur. Aerobik bakterilerden; Grup A  $\beta$  hemolitik streptokoklar, grup B, C, G streptokoklar, tip B ve tiplendirilemeyen Haemophilus influenza, Streptococcus pneumonia, Moraxella catarrhalis, Staphylococcus aerus, Haemophilus parainfluenza, Neisseria türleri, Mikobakteriler, anaerobik bakterilerden ise Bacteriodes, Peptococcus, Peptostreptococcus ve Actinomyces türleri, Viral etkenlerden Epstein-Barr virüs, Adenovirüs, influenza A ve B, Herpes simpleks, Respiratuar sinsityal ve Parainfluenza sayılabilir. Akut tonsillitte, en dikkat çekici özelliklerden birisi de boğaz kültürünün yeridir. Akut tonsillit anamnezi olan çocuklardan alınan boğaz kültürü ile sağlıklı çocuklardan alınan boğaz kültürlerinin farklı olmadığı gösterilmiştir (16).

Jason B. Surrow ve ark., rekürren tonsilliti olan hastaların tonsil yüzey ve merkez bakteriyolojisini araştırdıkları çalışmada, tonsil yüzeyinde en sık Staphylococcus aerus, ikinci sıklıkta AGBHS ve üçüncü sıklıkta Haemophilus influenza'yı bulmuşlardır. Tonsil merkezinde ise en sık Staphylococcus aerus, ikinci sıklıkta Haemophilus influenza ve üçüncü sıklıkta AGBHS'ü bulduklarını bildirmişlerdir (17). Tonsillektomili hastaların, orofarengeal mukozasından alınan kültürlerinde, patojenik mikroorganizmaların üreme insidansı daha yüksek olarak tespit edilmiştir (18).

**Tablo 2.** Tonsillit etkenleri ve yaşa göre farklılıkları (9)

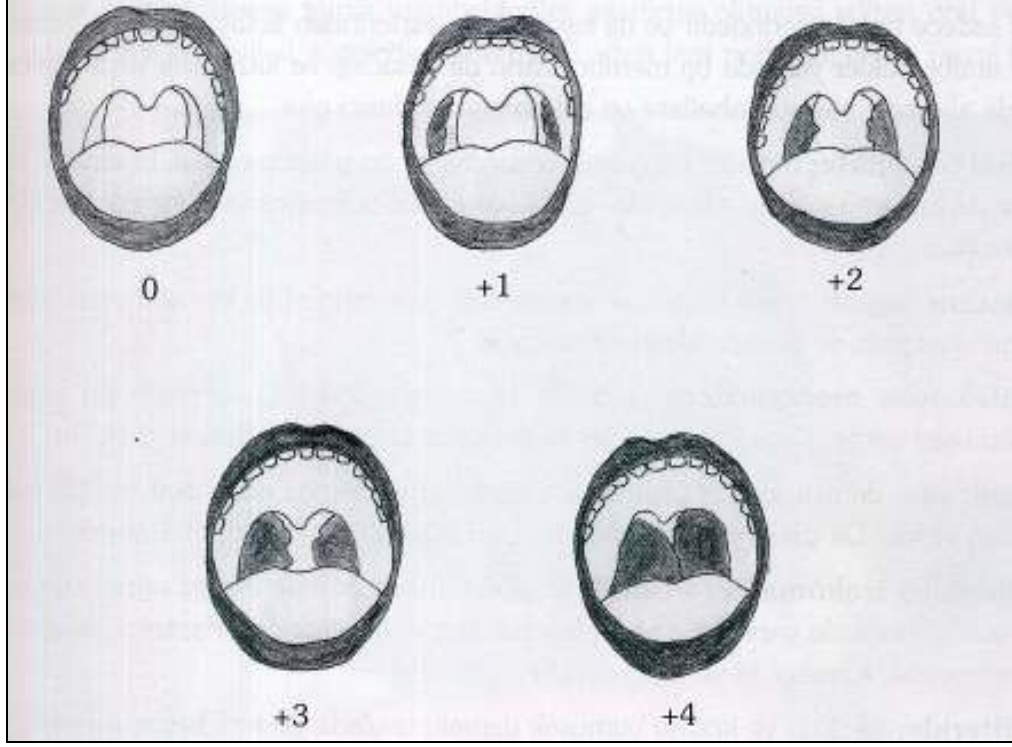
<b>Etken</b>	<b>Çocuklarda prevalans (%)</b>	<b>Yetişkinlerde prevalans (%)</b>
<b>Bakteriyel</b>	30-40	5-10
AGBHS	28-40	5-9
Grup C,G, ya da F streptokok	0-3	0-18
N.gonorrhoeae	0-0.01	0-0.01
A.haemolyticum	0-0.05	0-10
M.pneumoniae	0-3	0-10
C.pneumoniae	0-3	0-9
<b>Viral</b>	15-40	30-60
İdyopatik	20-55	30-65

#### **2.4. Palatin Tonsillerin Büyüklüğünün Derecelendirilmesi**

Obstrüktif Tonsiller Hiperplazide tonsil parenkimindeki hücre sayısında bütünüyle artış olmaktadır (Brodsky 1999). Belirgin olan hücresel aktivite, tonsiller foliküllerdeki germinal merkezlerde görülmektedir (11). Palatin tonsillerin büyüklüğünün derecelendirilmesinde numaralama sistemi kullanılır.

**Tablo 3.** Palatin tonsillerin büyüklüğünün derecelendirilmesi (9)

0	Tonsillektomili,
+ 1	Tonsil plikalar arasında gömülü,
+ 2	Tonsil ön plikalardan dışa uzanmış,
+ 3	Tonsil orta hatta yaklaşmış,
+ 4	Tonsiller orta hatta uzanmış ve birbirine dokunur durumda.



Şekil 6. Palatin tonsillerin büyüklüğünün derecelendirilmesi (9)

## 2.5. Tonsillektomi Endikasyonları

### 2.5.1. Kesin Endikasyonlar:

- a. Kronik obstruktif tonsil hipertrofisi:
- b. Uyku ile ilgili solunum bozuklukları
  - i. Tıkaçıcı uyku apnesi sendromu,
  - ii. Üst solunum yolu direnç artış sendromu
- c. Malignite şüphesi
- d. Peritonsiller apse
- e. Hemorajik tonsillit

### 2.5.2. İsteğe Bağlı Endikasyonlar:

- a. Rekürren akut tonsillit: Çocuklar için yılda 3 veya daha fazla atak (Amerikan KBB ve Baş-boyun cerrahisi Akademisi, 2000) , Erişkinler için ise yılda ikiden fazla atak

- Her atağa aşağıdakilerden en az birinin eşlik etmesi:
- 38 C ve üstünde oral ateş, 2 cm den büyük veya hassas anterior servikal lenf nodu,
- Tonsiller eksuda,
- AGBHS için kültür pozitifliği,
- İspatlanmış veya şüpheli ataklarda yeterli antibiyotik tedavisinin kullanılmış olması,
- Klinik kayıtlarda her atağın muayene ile doğrulanmış ve bunların özelliklerinin tanımlanmış olması.

b.Kronik tonsillit

- i. Rekürren akut tonsillitin eşlik ettiği
- ii. Rekürren akut tonsillitin eşlik etmediği

c. Ağız kokusu

d. Magma, tonsil debris

e. Tonsil kistleri

f. Tonsillolitiyazis

g. İnataç servikal lenfadenopati

h. Nonobstrüktif tonsil hipertrofisine neden olan durumlar

i. Yutma sorunu

ii. Horlama

iii. Konuşma bozukluğu

iiii. Diğer nedenlerle açıklanamayan gelişme geriliği ve kor pulmonale

ı. Febril konvülsiyonlara neden olan tonsillit atakları

j. Difteri/ AGBHS taşıyıcılığı

k. Eagle sendromu

l. Tüberküloz lenfadenit (9)

Ig A nefropatisi, nadir bir tonsillektomi endikasyonu olup (19), sonuç olarak, klinisyen hastalık ataklarının sıklığını, şiddetini ve süresini, antimikrobiyal tedaviye verdiği cevabı ve hastanın sosyal durumunu gözönünde bulundurarak bir değerlendirme yapmalı ve ameliyat için karar vermelidir.

## **2.6. Biofilm**

### **2.6.1. Tanım**

Biofilm, bakterilerin bir yüzeyde oluşturdukları işlevsel birlikte yaşama organizasyonu olarak tanımlanabilir (20).

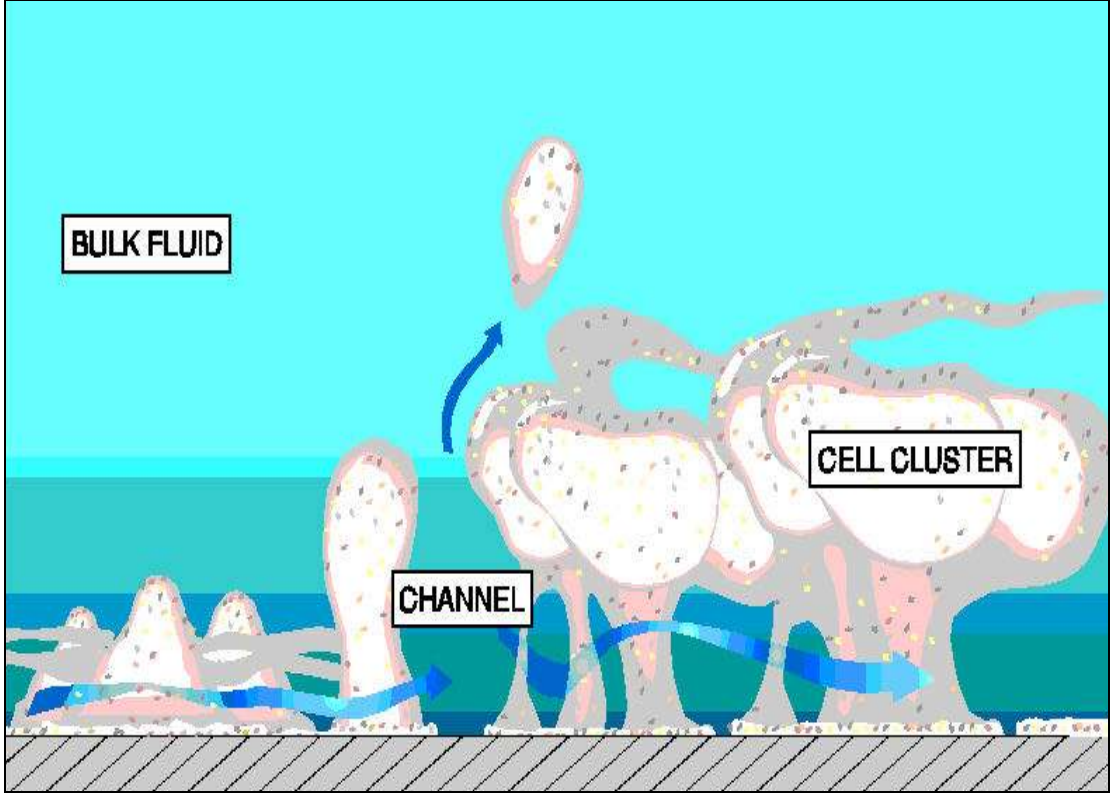
### **2.6.2. Biofilm Yapısı**

Biofilm, tek bir mikroorganizma türü tarafından oluşturulduğu gibi, birden fazla mikroorganizma türü tarafından da oluşturulabilir. İçerisinde yaşayan organizmaya bağlı olarak biofilm matrixi farklı özellikler taşıyabilir. Gram (-) bakteriler nötral veya polianyonik biofilmleri oluştururken, gram (+) bakteriler ise katyonik matriks içeren biofilmleri oluşturmaktadır. Biofilmdeki mikroorganizmalar, ekstraselüler bir komponent olan, matriks (polisakkarid, teikoik asit, nükleik asit ve protein içeren çamur veya balçık benzeri bir oluşum) içerisinde gömülü olarak bulunur. Matrikste, hücre sel yapıda olmayan mineral kristalleri, korozyon partikülleri, kan bileşenleri bulunabilir (21).

Tam hidrate ve canlı biofilm volümlerinin %15'ni hücre, % 85'ni ise matriks materyali oluşturur. Hücreler, matrikslerin çevrelediği farklı yüksekliklerdeki kuleler veya mantarlar içerisinde bulunur (22). Bu hücrelerin % 97'si su olup, gerikalanı ise % 2-3 mikroorganizma, % 1 polisakkarit, % 1 protein, % 1 DNA ve iyonlardan oluşur.

Biofilmdeki mikroorganizmalar tarafından sentezlenen polisakkaridler ise biofilmin ana ekstraselüler komponentini oluşturur. Çok tabakalı heterojen yapıdaki biofilm, kendi matriksi içerisinde yaşamlarını sürdüren hücrelere, esansiyel besinler ile birlikte oksijen taşınmasını sağlayan su kanallarına sahiptir. Biofilmdeki kanallar ve patolojik yollar, biofilmin alt tabakalarına geçmeyi sağlar (23).



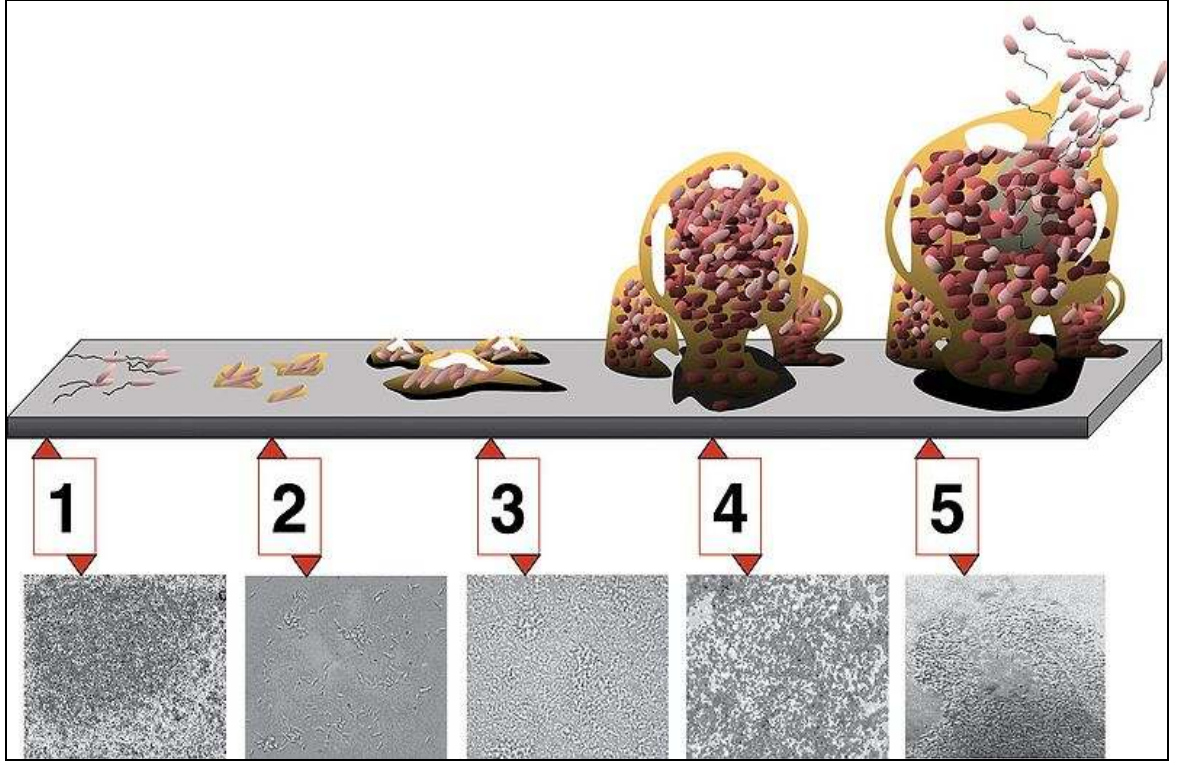


**Şekil 7.** Heterojen yapıda çamur bir yapı olarak adlandırılan biofilmin, hücelere su ve besin taşıyan kanallar sistemi (enine oklarla gösterilen) mikroskopik düzeyde şematize edilmiştir (24).

### 2.6.3. Biofilm Oluşumu

Gerçekte konak proteinleri, mukopolisakkaridler, nükleik asitler ve hatta tüm hücreler, biofilm gelişimine katkıda bulunabilir (6). Bakteriler, biofilm için gerekli olan ortak komponentlerden olup devamlı olarak lifsi yapılar, kimyasallar ve su üretirler. Diğer ortak komponentler ise glikokaliks ve yüzeydir. Bu bileşenlerden biri olmazsa, biofilm de oluşmaz (22). Biofilm oluşumu, basamaklar halinde gelişen bir olaydır (25). Biofilm gelişimi 5 aşamada tamamlanır.

1. Mikroorganizmanın yüzeye tutunma aşaması: Organik ve/veya inorganik maddeler yüzeye yapıştıktan sonra, mikroorganizmalar bu yüzeye tutunur. Bu tutunma aşaması geri dönüşümlüdür. Biofilmler, bu aşamalarda çevresel faktörlerin (besin konsantrasyonları, pH, sıcaklık, oksijen konsantrasyonu, osmolalite ve demir) değişmesi ile aktive olurlar. Dakikalar sonra 2. aşama gerçekleşir.



**Şekil 8.** Biofilmin gelişim basamakları (26)

2.Geri dönüşümsüz tutunma: Bu aşamada, mikroorganizmalar biraraya gelir ve şekillenir. Bu mikroorganizmalar hareketlidirler. Biofilm tabakası hızlı bir şekilde 10  $\mu\text{m}$ 'den kalın olur. Sinyal değişiklikleri devreye girdiğinde, genetik mekanizmalar sayesinde ekzopolisakkarid üretimi olur. Daha sonra planktonik bakteriler ve besin tuzakları da bu olaya katkıda bulunur (27). Hücre zarındaki proteinler, yüzeye tutunan hücrelerin ve bakterinin etkisi ile ekzopolisakkarid yapıda materyal sentezler. Hücreler, bu sayede birbirlerine ve yüzeye tutunur. Bakteri, bu ekzopolisakkarid ile olumsuz çevre şartlarından korunmuş olur.

3.Kolonizasyon aşaması I: Yüzeydeki bakteriler, mikrokolonileri oluştururlar.

4.Kolonizasyon aşaması II : Biofilmin kalınlığı 100  $\mu\text{m}$ 'den fazla olduğunda, kolonizasyonun 'maturasyon II' olarak da bilinen 4. aşaması gerçekleşir. Bu koloniler üzerine ortamdaki planktonik bakteriler yapışır. Bu aşamadan birkaç gün sonra 5. aşama gelişir (28).

5.Kopma: Bu aşamada hücreler dağılır. Planktonik fenotip geliştiren bazı bakteriler, biofilmden ayrılır. Biofilmin üstündeki kopan hücreler, yeni odaklarda biofilm oluşturabilir. Biofilm oluşuktan sonra, bakteride hareketi sağlayacak olan flajeller sentezlenir.

Bu aşamalardan sonra, bu durum süreklilik oluşturabilir (29). Bu süreçte, biofilm gelişen konak dokusundaki immün hücreler, non immün hücreler, sıvılar ve moleküller, önemli rol oynar. Örneğin, kistik fibrozisli hastalarda *Pseudomonas aeruginosa*'ya bağlı oluşan biofilmde, aljinat matrix ve lökosit, pulmoner dokudaki bakteri enfeksiyonunu temizlemek için girişimde bulunarak önemli rol oynarlar (30). Biofilmin oluşması, mikroorganizmanın türüne, bulunduğu sistemin yapısına ve çevresel faktörlere bağlı olarak birkaç saat ile birkaç hafta zaman alır. Örneğin, *P. aeruginosa*'nın elektrik yüklü bir yüzeye yapışması sadece 30 saniye sürer (31).

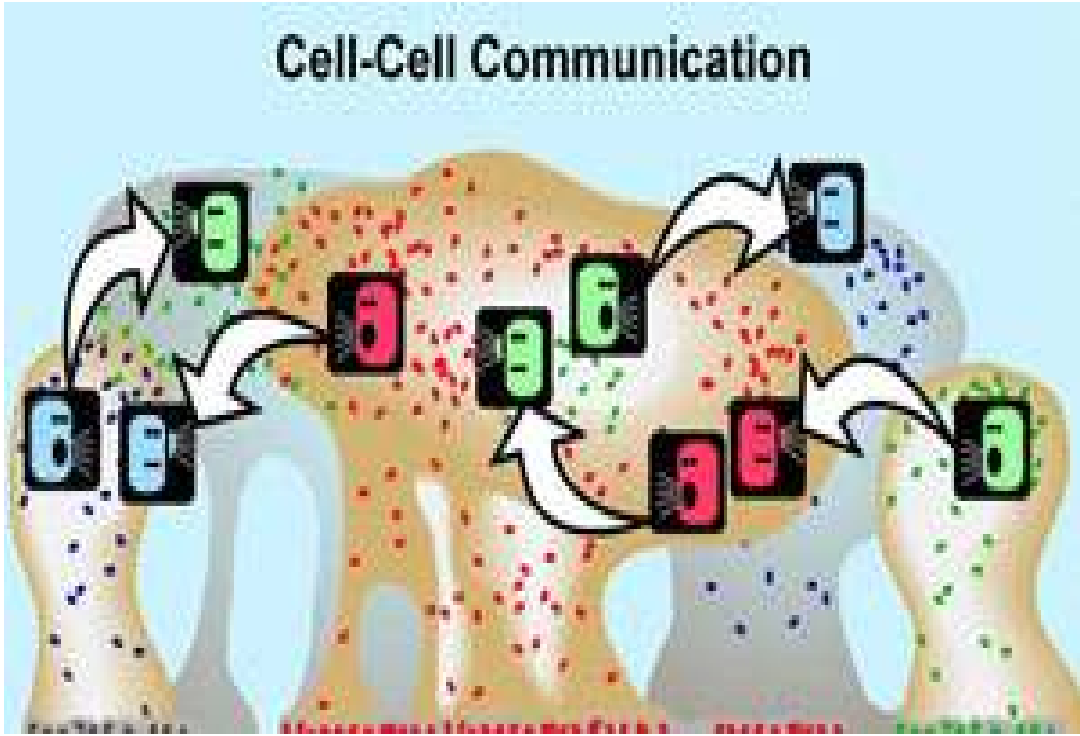
#### **2.6.4. Bakteriler Arası Haberleşme (Quorum - Sensing Mekanizması)**

Bakteri, çevresindeki değişikliklere metabolizmasında değişiklik yaparak cevap vermeye çalışır. Yani, bir şekilde adaptasyon mekanizması geliştirir. Bu adaptasyon mekanizmasını yani biofilm oluşumunu, hücreden hücreye iletişim sinyal sistemi olan "quorum sensing" ile kontrol eder. Bakteri, bu sistem yardımı ile etrafındaki popülasyon yoğunluğunu saptayarak aldığı bilgiyi yine bakteriler aracılığı ile birçok genin kontrolünü sağlamada kullanır (32).

Bakteri, biofilmden bağımsız ve hareketli olabildiği gibi, serbest ve yüzen bir şekilde de bulunabilir:

- 1.Planktonik form (Quiescent hücreler veya replikatif hücreler olarak da bilinir)
- 2.Sesil form: Polisakkarid ve proteinin hidrate edilmiş matrixi ile birlikte oluşan formdur. Bakteri topluluğu, sapsız biofilm için tuzakt olup biofilmin karışık yapısını kontrol eder. Birçok bakteri türü örneğin, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve *Haemophilus* türleri yüzeye yapışma kapasitesine sahiptir. Bakteri yüzeye yapışır yapışmaz, kompleks polisakkaridi sekrete eder ve bu kompleks yapıya gömülür. Bu mikrokoloniler, yavaş bir şekilde genişleyerek "quorum sensing" olarak adlandırılır ve sesil bakterinin geniş büyük bir formunu oluştururlar. Biofilm, planktonik bakteri

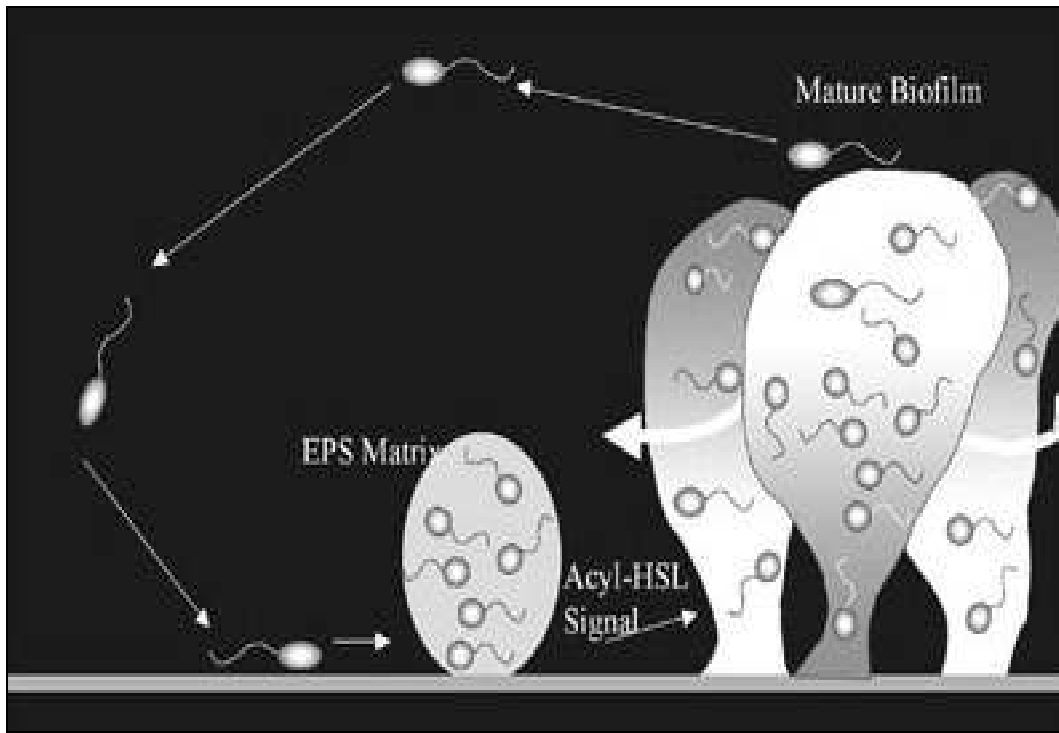
tarafından kullanılan farklı mekanizmalarla tedaviye direnç gösterir (33). “Quorum sensing” sistemi, Bacillus ve Streptococcus bakteri enfeksiyonlarında gösterilmiştir (34). Shih ve ark., P. aeruginosa doğal standart suş (PA01) ile “quorum sensing”den yoksun mutantları, biofilm oluşturma yönünden karşılaştırmışlardır. Başlangıçta, biofilm yoğunluğu yönünden aralarında farklılık yokken, “quorum sensing” özelliği taşıyan doğal suşla biofilm oluşumunun, mantarlardan daha hızlı ilerlediğini göstermişlerdir (35).



**Şekil 9.** “Quorum sensing” sistemi (hücrelerarası bilgi alışverişi) sayesinde, bir merkezde toplanan mikroorganizmalar biofilmin temelini oluşturur (36). (**Quorum:** yeterli çoğunluk)

Mikroorganizma, konakta enfeksiyon sırasında bu sistem sayesinde virülans faktörlerinin regülasyonu ile immün yanıtı kaçabilir. Burada en önemli rolü sinyal molekülleri üstlenir. Aynı zamanda bu moleküllere “autoinducer” denilmektedir., Aynı aileye ait sinyal moleküllerini farklı gram (-) bakteriler sentezleyebilir. Örneğin, kistik fibrozisli hastaların akciğerlerinde, ciddi enfeksiyona yol açan ve mortalite nedenlerinden olan P. aeruginosa ve Burkholderia cepacia, aynı sinyal moleküllerinin

kullanıldığı “quorum sensing” sistemine sahip olmaları nedeniyle, birbirlerinin virülans faktörlerinin sentezine yardımcı olurlar (37). Aynı tür veya farklı türler arasında sinyal molekülleri ile etkileşim olabildiği gibi, farklı cinsler arasında da pozitif veya negatif yönde etkileşim olabilmektedir (38). Bakterilerdeki sinyal molekülleri, gram (-) bakterilerde açıl homoserin lakton (AHL) ve siklik dipeptidler iken, gram (+) bakterilerde küçük peptidlerdir. Gram (-) ve gram (+) bakterilerde sinyal molekülleri “autoinducer-2” olarak adlandırılır (39). Virülans faktörlerinin sunumunu P. Aeruginosa, hücre ve “quorum sensing” sayesinde kontrol ederek kronik enfeksiyonlara, biofilm oluşumu ile zemin hazırlar (40).



**Şekil 10.** *Pseudomonas aeruginosa*'nın oluşturduğu biofilmde AHLsinyal molekül sistemi (41)

*P.aeruginosa*'da bulunan sinyal molekülleri, açıl homoserin lakton (AHL) ve *Pseudomonas* kinolon sinyal molekülü (PQS)'dür. PQS, yapısal olarak kinolonlara benzemekte ve AHL'ye bağlı “quorum sensing” sistemini düzenlemektedir (42). Ayrıca, bu mikroorganizmada AHL ailesi üyelerinin yer aldığı, *las* ve *rhl* olmak üzere iki “quorum sensing” sistemi de bulunmaktadır (43). *P.aeruginosa*, biofilm içinde üreme sayesinde, antibiyotiklerin etkisinden ve akciğerlerdeki immün yanıtından korunmaktadır.

Antimikrobiyal ilaçlara ve immün sisteme karşı oluşan direnç, besin kaynaklarındaki yetersizliğe bağlı olarak durağan faza geçiş ile birlikte biofilm üzerinde oluşan çeşitli metabolik aktiviteler mikroorganizmalara uzun dönem yaşama ve beraberinde biofilme seçici bir avantaj sağlar (44).

### **2.6.5. Biofilmin Özellikleri**

Oluşur oluşmaz enfeksiyöz olabilen, birçok sistemde şiddetli problemlerin başlıca nedeni olan, bakteriyel biofilmlerle ilgili daha öncesine kadar bağımsız davranış gösterebilen planktonik formu biliniyordu. Aslında, bakterilerin planktonik formundan çok, bir dokuya veya yüzeye tutunarak biofilm oluşturdukları ve hayatlarına bu şekilde devam ettikleri son yıllardaki çalışmalarla gösterilmiştir. Biofilmdeki bakteriler, koordinasyon yetenekleri bulunan, fonksiyonel toplulukların oluşturduğu belirli bir yapıya sahip biyolojik sistemlerdir (45). Biofilme ait bakteriler, doku hasarı yapmakla birlikte aynı zamanda antimikrobiyal tedaviye 1000 kattan daha fazla direnç gösterirler (46). Herhangi bir yüzeyde (diş, kateter vb.) bulunan biofilmler dokudaki biofilmlere göre daha hassastır. Ancak yine de bakteriler, bir yüzeye yapışıp biofilm oluşturduktan sonra, o yüzeyden hafif durulama ile uzaklaştırılmazlar (47).

Biofilmler, sadece yüzeye yapışmış durumda bulunan ve içerisinde mikroorganizmaların bulunduğu homojen bir tabakadan ibaret değildir. Son yıllardaki çalışmalarda Donlan ve Costerton, biofilm oluşturan mikrobiyal hücrelerin özellikleri üzerinde durmuşlardır (22).

Buna göre;

1. Mikrobiyal hücreler, ürettikleri ekstrasellüler polimerik maddeden oluşan bir matriks içerisinde gömülü halde bulunurlar.
2. Mikrobiyal hücreler, geri dönüşümsüz bir şekilde substrata, ara yüze veya birbirlerine tutunmuşlardır.
- 3) Gen yapıları ve büyüme hızları bakımından, serbest dolaşan türdeşleri ile aralarında farklılıklar vardır.

Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae ve Moraxella catarrhalis gibi birçok mukoza patojeninin biofilm oluşturduğu açıkça ortaya konmuştur. Biofilmlerde yüksek stres koşulları altında olan bakteriler, türün alt gruplarını hedefleyen ve böylece sağ kalan hücrelerin kullanacağı besinlerin ve DNA'nın serbest kalmasını sağlayan bakterisidal bileşikler salgılayabilirler (48). Biofilmler, tek tip veya karışık mikroorganizma içerebilirler. Polisakkarid matrix ile sarılı bir bakteri topluluğu olan biofilm formasyonu, serbest yaşam olduğunda başlar. Daha sonra, planktonik bakteriler bir yüzey ile çevrelenir. Zamanla biofilmdeki hücreler, matriksten koparak dolaşıma geçebilirler. Dolaşıma geçen bu hücreler, planktonik formda olmalarına rağmen, ayrıldıkları topluluğun direnç özelliğini taşırlar (22). Dokuda veya yaşam dışı yüzeylerde Streptococcus pyogenes ile oluşan biofilmde, gen ekspresyonunda aşağı yukarı % 50 farklılık vardır. Bu farklılık biofilmin dirençli olma özelliğine katkıda bulunur (49).

#### **2.6.6. Biofilm Enfeksiyonlarında Etken Olan Mikroorganizmalar ve İlişkili Olan Kalıcı Tıbbi Araçlar**

Klinikte girişimsel tekniklerin ve kalıcı tıbbi araçların kullanımının artışı ile birlikte, biofilm enfeksiyonlarında artış olmuştur. Kalıcı tıbbi araçlar üzerinde gelişen biofilmler, gram (+) ve/veya gram (-) bakteriler ve/veya mayalardan oluşur.

**Tablo 4.** Biofilm enfeksiyonlarında etken olan mikroorganizmalar ve ilişkili olan kalıcı tıbbi araçlar (50)

<b>Enfeksiyon veya hastalık</b>	<b>Etken mikroorganizma</b>
Kronik tonsillit	Çeşitli aerop ve anaerop bakteriler
Otitis media	Tiplendirilemeyen H.influenzae
Kistik fibrozis pnömoni	P.aeruginosa, Burkholderia cepacia
Diş çürüğü	Streptokoklar
Endokardit	Viridans grup streptokoklar, stafilokoklar

Tablo 4'ün devamı

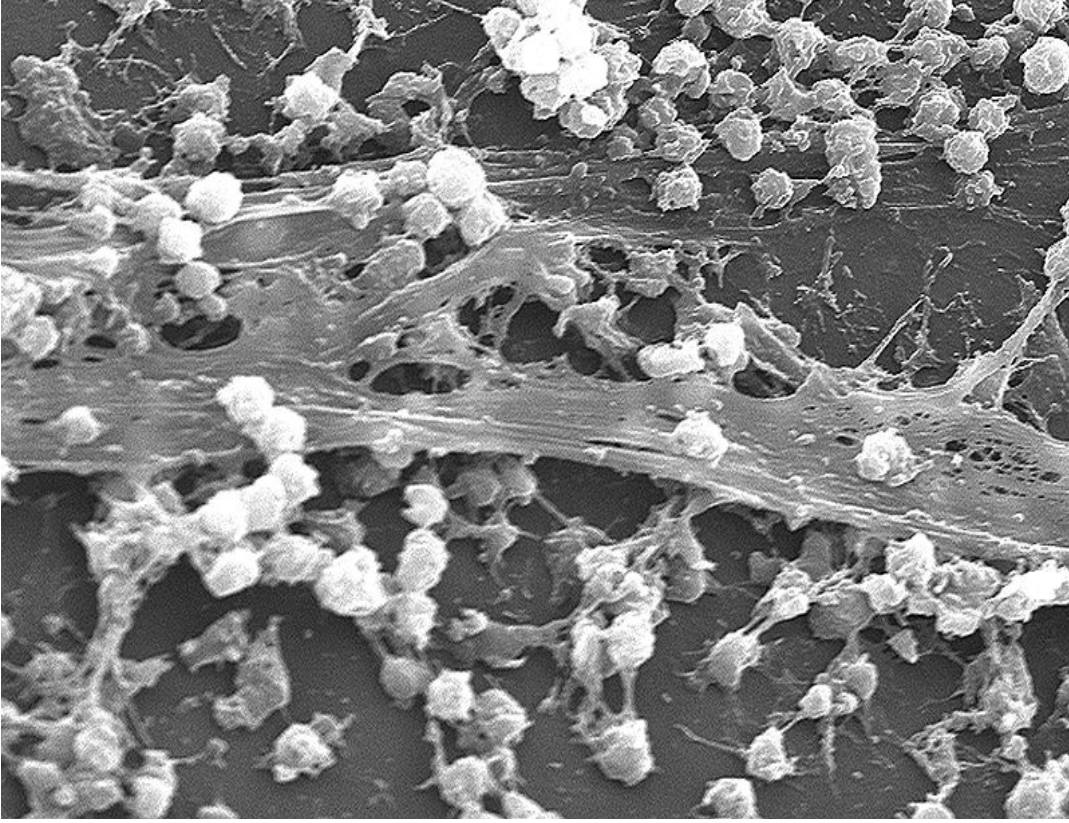
<b>Yabancı cisim enfeksiyonları</b>	<b>Etken mikroorganizma</b>
Endotrakeal tüpler	Enterik gram (-) basiller
Santral venöz kateter	KNS, S.aureus, enterokoklar
Üretral kateter	E.coli, Candida spp., KNS
Koroner stentler	S. aureus, KNS, P. aeruginosa, Candida spp
Periton diyaliz kateterleri	S.aureus,P.aeruginosa,diğer gram(-) bakteriler
Ortopedik protezler	Stafilokoklar, S. pneumoniae, diğer streptokoklar, P. acnes
Meme implantları	Stafilokoklar, E. coli, Peptostreptococcus spp., Clostridium perfringens
Koklear implantlar	S.aureus, P. aeruginosa, streptokoklar, N.meningitidis, mantarlar

Koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS), hastane enfeksiyon etkenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kateter, yapay kalp kapakçıkları ve plastik malzemelerin yaygın olarak kullanımı, KNS'ye bağlı hastane enfeksiyonlarında önemli bir artışa neden olmuştur (51). KNS'ye bağlı gelişen enfeksiyonlar genellikle biyomateryaller üzerinde biofilm tabakası oluşumuyla karakterizedir (52).

#### **2.6.7. Biofilmin Hastalıklarla İlişkisi**

Mukozal lokalizasyonlarda biofilm belirlenmesine rağmen, biofilmin insanlarda hastalıkları tetikleme, halâ tartışılan güncel bir konudur. Mikrobiyal biofilmler, insan hastalıklarında bir önemli rol oynamaktadır (53). Birleşmiş Devletlerin Ulusal Sağlık Enstitüsünün son yıllarda yaptığı çalışmaya göre; biofilmler, insanlardaki yumuşak veya sert doku enfeksiyonlarının % 80'den fazlasını başlatırlar (54). Kronik enfeksiyonlarda ; kolesteatomada (55), kronik sinüzitte (56), kronik tonsillitte (5), bakteriler, biofilm oluşumu ile mukozal yüzeyde kalıcı olurlar. Biofilmler, özellikle kalıcı tıbbi araç bulunan ve immün sistemi baskılanmış hastalarda gelişen enfeksiyonlarda önemli rol oynarlar. Bu enfeksiyonlardan sonra da tedavi maliyeti ve mortalite oranı artmaktadır.



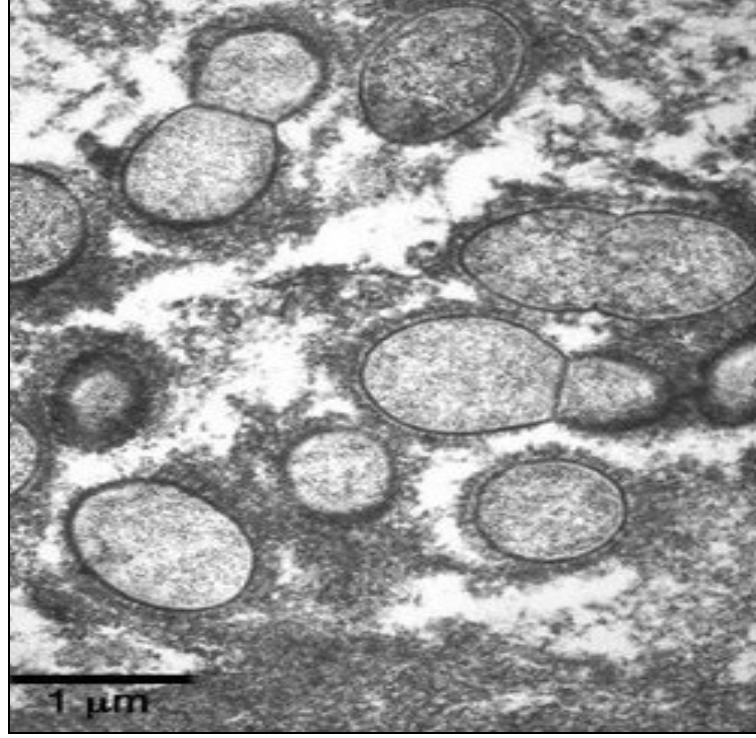


**Şekil 11.** SEM görüntüsü *Staphylococcus aureus*un kateter yüzeyinde oluşturduğu biofilm (57)

*Proteus mirabilis*, idrar sondalarında ve kateterlerde oluşturdukları biofilmler boyunca yayılarak konakçı hücrelerin invazyonuna yol açabilir (58).

*Staphylococcus aureus* dermatitinde, mikrokoloniler yüzeydeki keratinositlere geniş olarak bağlanır. Daha sonra koruyucu glikokaliks üretimi ile birlikte bakteriyi eradike edilememektedir (59).

Enflamatuar bağırsak hastalığında mukozal yüzeyde ortaya konulan biofilm, non-mikrobiyal antijenlere farklı immün cevaba karşı sekonder biofilm oluşumuna örnektir (60).



**Şekil 12.** Endokarditte biofilmin TEM görüntülenmesi. Fibröz matrix materyal izlenmektedir (61)

Mukozal biofilmi tetikleyen enfeksiyonlar, aynı zamanda benzersiz tedavi değişiklikleri oluşturur. Örneğin, klinik olarak oroözofageal pamukçuk daha çok antifungallere dirençli olarak tanımlanır (62). Yeni yapılan bir çalışmada, kontakt lens kullanımına bağlı gelişen enfeksiyonlarda biofilmin önemi ortaya konmuştur (63).

### **2.6.8. Mukozal Biofilmin Günümüzdeki Önemi**

Mukozal lokalizasyonda enflamasyon ile biofilm görünümü ilişkilidir (64). Birçok epitelyal doku enfeksiyonları, mukozal biofilm enfeksiyonları olarak bilinir. İnsan hastalıklarındaki mukozal biofilmin rolü, konak inflamatuvar cevabın iki patogeneze modeli ile tanımlanabilir. İlk modelde, mukozal biofilmler dolaylı yoldan aşırı proinflamatuvar cevabı başlatırlar. *P.aeruginosa* ile oluşan biofilmin kistik fibrozisli hastalarda pnömoniyi başlatması bu patogeneze örnek olarak verilebilir (30). İkinci modelde ise biofilm spesifik bileşenleri (örneğin ekstraselüler matrix) enfeksiyonun mukozal inflamatuvar cevabını azaltarak, fagosit hücre fonksiyon bozukluğu geliştirebilirler. Bu durum biofilm organizmalarının erken gelişmesine avantaj sağlar.

Patojenik olma özelliği, mukozal alanın karakteristik özelliklerine bağlıdır. Örneğin, mukozal yüzeyin altındaki epitelyumun çeşidi (stratifiye, kolumnar, keratinize veya nonkeratinize gibi) patolojik olma özelliği üzerinde etkili olabilmektedir. Otitis medianın erken döneminde, ikinci patogeneze model oluşur ve mikrobiyal fosforilkolin bileşenleri erken enflamasyonu sınırlayarak, biofilmin stabil olmasını sağlar (65). Aksine, otitis medianın daha sonraki evrelerinde, biofilm mikroorganizmalarına karşı oluşan kronik eksudatif enflamatuvar cevap, ilk patogeneze gibi oluşur (66). Biofilm organizmalarının beslenme ortamına mukozal doku kadar, konak reseptör mikrobiyal adhesin sistemi de katkı sağlar (50). Kronik mukozal enflamasyonlarda, self antijenler veya alerjenler, cevap olarak biofilm gelişmesini sağlarlar. Lokal olarak ise inflamatuvar sitokinler veya aşırı mukus birikimi de, biofilm gelişmesine yardım edebilir (67). Mukozal biofilm patogenezinde rol oynayan diğer faktörler; mukusun bileşimi ve sıvı akışı, spesifik doğuştan olan epitelyal defans mekanizması ve antimikrobiyal moleküllerin epitelde sentezlenebilme yeteneğidir.

Biofilmin insan derisinde nadiren oluştuğu (68), nonkeratinize epitelyum dokularında ise konak cevabına karşı oluşumunun başladığı bilinmektedir. Ancak bu cevap, üriner sistemde ve alt gastrointestinal sistemde tam olarak ortaya konulamamıştır. Biofilmlerin oluşumu, ses protezi gibi medikal cihazlarda (69), timpanostomi tüplerinde (70), implant materyallerinde (71) yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Serum veya tükürüğe yapışan konak proteinleri, biofilm gelişiminin başlangıcını oluşturup, tıbbi aletlerin yüzeyine yapışır (72).

Bölgesel lezyon veya doku hasarının evresi, mukozal biofilmi tetikleyen farklı hastalıklara spesifik, virülans faktörlerinin katkısına bağlıdır. Mukozal biofilm patogenezinin tamamen anlamak için, virülansın dokudaki bölgesel analizinin yapılması ve biofilmin evresinin bilinmesi gerekir. Daha da önemlisi ECM'nin bileşenlerinin biyolojik aktivitesinin iyi anlaşılması olduğudur. Lektinler örneğin konkanavalin A (mannopyranosyl ve glukopyranosyl indirgenmiş) veya buğday germ aglutinini (sialik asit ve N-asetilglukozamine indirgenmiş) hedef karbonhidrata ilgi ile birlikte antijen – antikor etkileşimine benzerlik gösterir. Yaşam dışı yüzey biofilmlerinde ECM

bileşenlerinin belirlenmesinde lektinler kullanılmıştır (73). Mukozal biofilmin bileşeni olan ECM, doğal olarak yaşam dışı yüzey biofilmlerinden daha komplextir (74). ECM'nin komponentleri mikrobiyal kapsülde (75) veya hücre duvarında (76) bulunabilir.

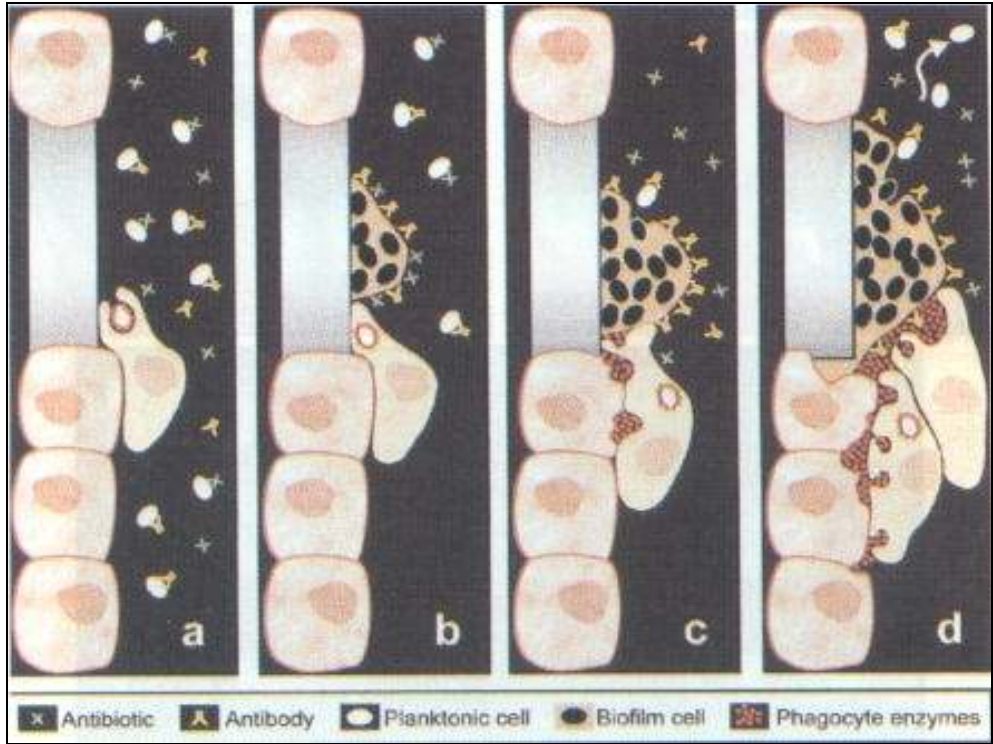
### **2.6.9. Doğada Biofilm**

Bakteriler, doğada sıklıkla bir yüzeye yapışmış mikrobiyal topluluk halinde bulunurlar. Bu kompleks yapı, daha çok biofilm olarak bilinir. Doğada bulunan biofilmlerde, birçok bakteri ve mantar bulunmaktadır. Biofilm içindeki bakteriler, biofilm oluşumu ile birlikte metabolizmalarında ve fenotiplerinde değişiklikler yaparak, çevre koşullarına daha dirençli forma dönüşürler. Bu dirençli forma ilerleme süresi, bakteriden bakteriye değişebilmektedir. Doğal ortamda mikroorganizmalar, çevresel uyarılara bağlı olarak planktonik veya bir yüzeye tutunmuş durağan fazda bulunur. Karışık mikrobiyal biofilmler, birçok çevresel yüzey boyunca bulunur (77). Biofilmler; kateterler, eklem ve kalp protezleri gibi kalıcı ya da kalıcı olmayan tıbbi araçları ve içme suyu sistemlerini kolonize ederler. Tıbbi araçlarla ilişkili enfeksiyonlarda, en sık görülen ajanlar koagülaz-negatif stafilokoklar, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida* türleridir. Kalıcı tıbbi araçlar veya hasarlı dokuya yapışan bakteriler, polisakkarid ve proteinden oluşan sulu bir matriks içinde çoğalır ve biofilm olarak adlandırılan kaygan bir tabaka oluşturur. Aynı zamanda, biofilm içindeki bakteriler, biofilme özgü bir fenotip oluşturacak şekilde fizyolojik, metabolik ve fenotipik değişikliklere uğrar. Antibiyotiğin biofilm içine düşük orandaki penetrasyonu, biofilmdeki besin maddelerinin sınırlı olması, bakterilerin yavaş üremesi ve adaptif stres yanıt oluşturması, bakterinin çok aşamalı savunmasını oluşturmaktadır.

### **2.6.10. Biofilmdeki Bakteri ve Planktonik Bakteri Arasındaki İlişki**

Planktonik bakterinin Antoni van Leeuwenhoek tarafından 1673'te mikroskopta gösterilmesi ile başlayan biofilme ait ilk çalışmalar, son 40 yıla kadar maalesef önemli bir ilerleme kaydetmemiştir. Planktonik bakteriler ile ilgili 1957'de Coolins'in, o zamanın son 20 yıl için yaptığı derlemede sadece 1940 yılında yapılan Taylor'un çalışması referans verilmişti (78). Zamanla, planktonik bakterilerin yüzeyde kalmaya eğilimli olduğu ve nispeten suyu daha çok sevdiği daha iyi anlaşılmıştır. Ayrıca

planktonik bakterilerin yüzeydeki bakterilerden gen ekspresyonunun da farklı olduğu söylenmiştir. 1970'lerden sonra bakterilerin biraraya gelerek oluşturdukları biofilmler tanımlanmış, 1980 ve 1990'lardan sonra biofilmler farklı yollarla incelenmiştir. Biofilmler, planktonik hücreler değildir. Biofilm formasyonu, genel olarak bir yüzeye planktonik veya serbest yaşayan formu ile tutunur. Daha sonra mikrokoloni, arkasından ise biofilm gelişir (36). Biofilmler, planktonik bakteriler tarafından kullanılan farklı mekanizmalarla tedaviye direnç gösterir (79).



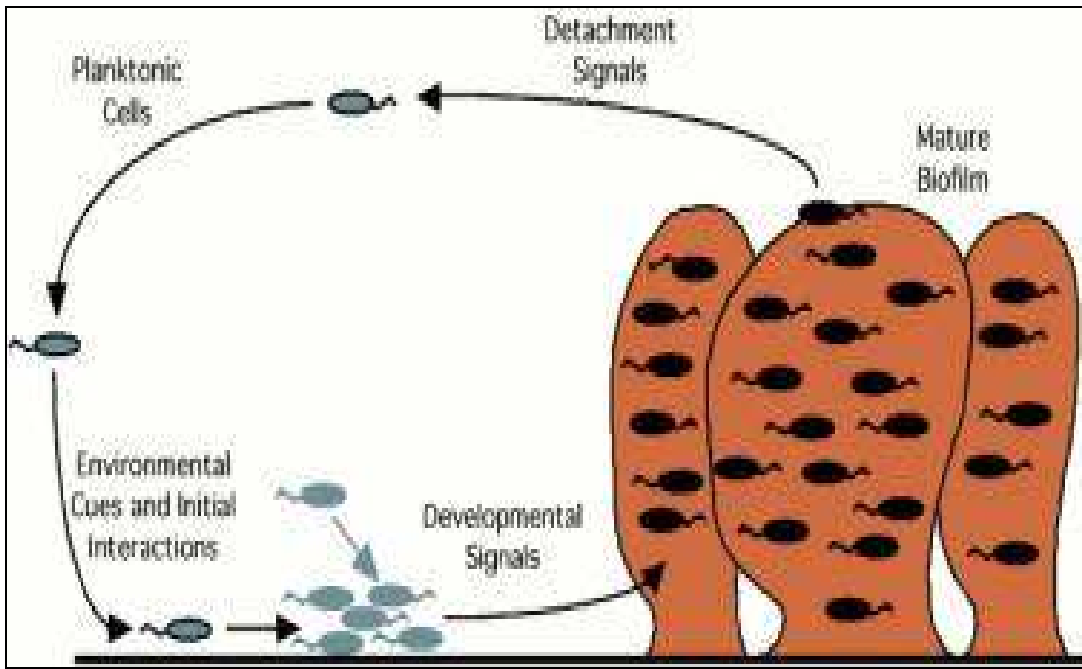
**a** da planktonik bakteriler, antikorlar ve fagositler tarafından temizlenebilen aynı zamanda antibiyotiklere duyarlı organizmalardır.

**b** de inert yüzeye yapışan bakteriyel biofilm hücreleri, geniş topluluklar oluşturarak antikorlara, fagositlere ve antibiyotiklere dirençli hale gelirler.

**c** de fagositler, biofilme doğru yönelerek fagositik enzimler salırlar. Ancak biofilm üzerinde istenilen etkiyi yapamazlar.

d de ise fagositik enzimler, biofilm etrafında dokuya zarar verirler, bu arada biofilmden kopan planktonik bakteriler ayrılır. Bu ayrılma, komşu dokudaki akut enfeksiyonun en önemli nedenidir.

Ayrıca, bilinmesi gereken diğer bir husus, antibiyotiklerin koruyucu dozlarının planktonik formdaki mikroorganizmaları kontrol ettiği halde biofilmi etkilememesidir. Planktonik bakteri, konağın defans mekanizmasına ve antibiyotik tedavisine hassastır. Ancak biofilm varlığında planktonik bakteri varlığını sürdürür ve direnç kazanır (21,33).



Şekil 14. Planktonik bakterinin biofilmden periyodik olarak ayrılması (80)

### 2.6.11. Kulak Burun Boğaz Enfeksiyonlarında Biofilm

Nozokomiyal enfeksiyonların, yaklaşık %65'inden bakteriyel biofilmler sorumlu olup, bu durum tedavi giderlerini çok yükseltmektedir (81). Bu nedenle son yıllarda özellikle deneysel çalışmalar da artış olmuştur. Deneysel oluşturulan otitis mediada, biofilm anatomik olarak gösterilmiştir (82). Başka bir çalışmada otitis mediası olan hayvan ve insan orta kulağının mukozal yüzeyinde, bağlı bulunan mikroorganizmaların ekstrasellüler matrix identifikasyonu sağlanmıştır (64). Biofilmin effüzyonlu otitis mediadaki rolü kanıtlanmıştır (83). Kronik rinosinüzitte mukozal

yüzeide ortaya konulan biofilm, nonmikrobiyal antijenlere farklı immün cevaba sekonder olarak oluşur (84). Kolesteatomada, klinik örneklerden izole edilen psödomonaslarda, biofilm özelliklerinin birçoğunun bulunduğu saptanmıştır. Bunlar; keratinositlere tutunma, “quorum sensing” genlerinin ekspresyonu ve invitro biofilm oluşumudur (85).

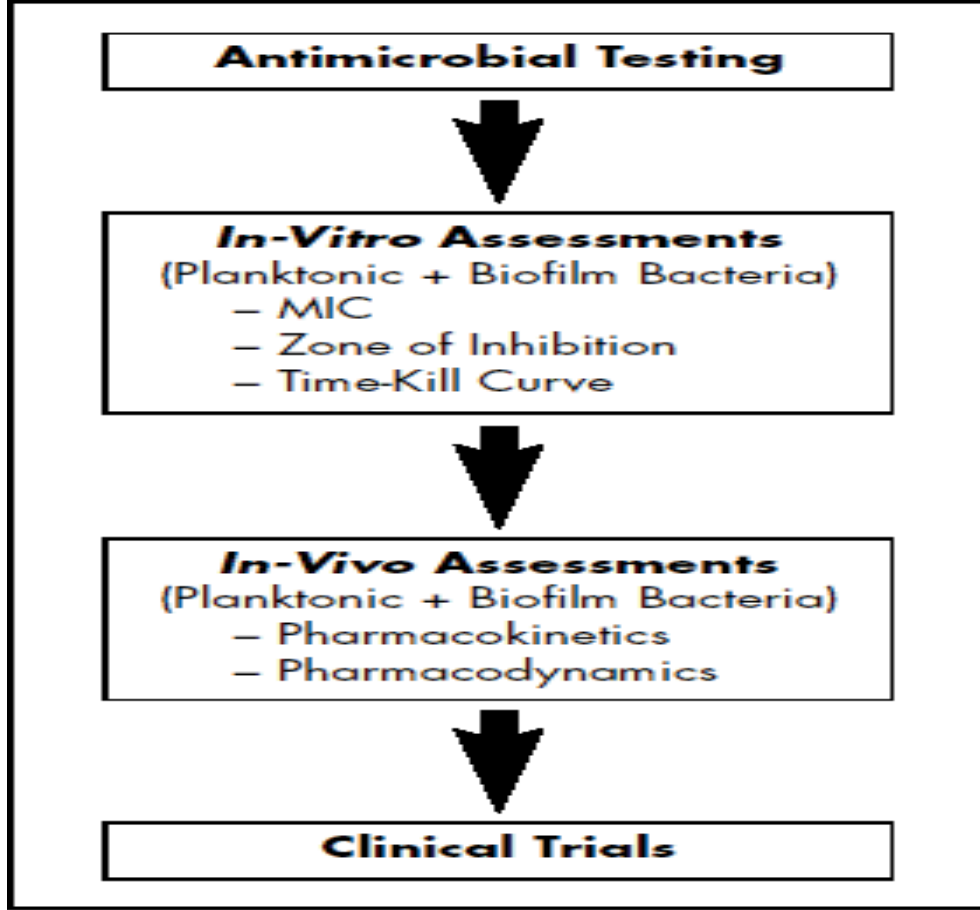
#### **2.6.11.1. Kronik Tonsillitte Mukozal Biofilm Oluşumu**

Tonsillitin bazı formlarında rekürrens ve kronisitenin nedeni, enfekte tonsilin içindeki kriptteki bakteriyel biofilmin olduğu söylenebilir. Kronik tonsillitte biofilm oluşumunda, kültür pozitif olgularda en sık Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus ve  $\alpha$  hemolitik streptokok saptanmıştır (86).

Mukozal biofilm formasyonunda ilk adım, bakterinin tonsil epiteline bağlanmasıdır (87). Kronik tonsillit ve biofilm oluşumu arasındaki ilişkiye dikkat çeken ilk çalışma, Chole ve arkadaşları tarafından transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Chole ve Faddis, ışık mikroskobu ve transmisyon elektron mikroskobu kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada, rekürren tonsillit veya tonsiller hipertrofi nedeniyle tonsillektomi yapılan hastaların tonsilleri üzerinde biofilm varlığını göstermişlerdir (88).

Tonsil epiteline yapışan bakteri, özellikle tonsiller kript içinde bulunarak, bakterinin mixt kolonisi olabilir. Bakteriler, tonsiller kript içinde antibiyotiklerden ve konak savunmasından kendini korurken aynı zamanda, endotoksinlerini de ortama verirler. Böylece, lokal endotoksin kronik enflamasyona yol açabilir.

Birçok enfeksiyonda olduğu gibi kronik tonsillitte de, bakteriler tarafından sekrete edilen mukoid ekstrasellüler polimerler olarak adlandırılan polisakkaridler, proteinler ve teikoik asit biofilm formasyonunu başlatır. Sonuçta mukozal biofilm ,tedaviyi güçleştirmekte ve komplikasyon olasılığını arttırmaktadır.



**Şekil 15.** Biofilm ve planktonik bakteriler ile invitro ve invivo yapılacak çalışmalar sayesinde daha fazla klinik çalışma, yapılabilir (89).

### 2.6.12. Faydalı Biofilmler

Hayvan modellerinde tretinoin ile oluşturulan oral mukoza kanserinde, biofilmin tümörü önleyici veya sınırlayıcı etkisinin olduğu gösterilmiştir (90). Biofilmler endüstrideki atıkların temizlenmesinde, nitrojen ve fosforun uzaklaştırılmasında çok etkilidir (91).

### 2.6.13. Biofilm ve Kültür

Biofilm bakterilerinin, özellikle de biofilmin çekirdek kısmında yerleşmiş olanların metabolik hızlarının belirgin ölçüde azalmış olması, bu bakterilerin invitro kültürünü çok zorlaştırmaktadır. Bunun yanı sıra, kültür yapılmadan önce biofilm parçalanmadığı takdirde, her hücre için bir koloni yerine, her küme için bir koloni elde edilebilir; bu da bakteri yükünün olduğundan az görünmesine neden olabilir. Biofilm



hücrelerinin kültürde üretilmesindeki güçlük, insanda görülen birden çok enfeksiyonda bakterilerin rolü hakkında yanlış inanışların doğmasına neden olmuştur; bunlar, kısmen de olsa biofilm bakterilerinin neden olduğu belirtilerden, enflamatuvar süreçlerin tek başına sorumlu olduğu şeklindedir. Kültürün biofilm bakterilerini saptamadaki sınırlılığı bir yana, kültür teknikleri biofilmlerin karmaşık, üç boyutlu yönünü de açıklığa kavuşturmakta başarısızdır.

#### **2.6.14. Biofilmin Görüntülenmesi**

Birçok kronik enfeksiyonda mikroskopik yöntemlerle biofilmler gösterilebilir. Özellikle, hücresel düzeydeki görüntüleme yöntemlerinin gelişimi ile birlikte, enfeksiyonların patogenezi aydınlatmaya yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Buna bağlı olarak da biofilmlerin enfeksiyon patogeneziindeki rolleri, daha fazla açığa çıkmaya başlamıştır. Mikrobiyal biofilmlerin yapısı, ışık mikroskopisi, transmisyon ve taramalı elektron mikroskopisi kullanılarak ortaya konulabilir.

Biofilmin görüntülenmesinde kullanılan en yeni teknik ise konfokal tarama elektron mikroskopisidir (KLTM). Bu görüntüleme yöntemi kompleks yapıların optik dilimlerini ortaya çıkararak, odak dışı kalma gibi etkileri ortadan kaldırır. Hücrelere floresans uygulanabilirse, canlı organizmaların izlenebildiği ve numune hazırlanmasını gerektirmeyen bir tekniktir (92). Elektron mikroskopisi için biofilm preparatı hazırlanması esnasında, dehidrasyon veya deformasyon gibi morfolojik değişiklikler ortaya çıkabilir ve fiksasyon esnasında %50'ye varan küçülmeler izlenebilir. Bu teknikte, transmisyon veya tarama elektron mikroskopisinde karşılaşılan dehidrasyon veya deformasyon gibi istenmeyen değişikliklerle karşılaşılmaz.

Biofilm görüntülemelerindeki temel farklılık, doku mikrobiyal topluluğunun tanınmasındaki ECM'nin gösterilmesi aşamasıdır. Bu aşama, standart histolojik süreç tarafından kolayca harap edilir. Bu nedenle ECM analizi için, taze doku kullanımına veya spesifik fiksasyon tekniklerine sıklıkla ihtiyaç vardır (93).

Nükleik asit amplifikasyonu stratejilerine dayanan moleküler tanı yöntemleri, bakterilerin saptanması ve tanımlanmasına olanak tanırken, KLTM gibi ileri

görüntüleme teknolojileri, araştırmacıların insanlarda görülen hastalıklarda biofilmlerin rolü hakkında fikir sahibi olmasını sağlamaktadır. KLTM, örneğin fiziksel kesitlerinin alınmasına gerek olmadan örnek içinden görüntü elde edilmesini sağlar ve görüntülenen bakterilerin tanımlanması için floresan in situ hibridizasyon (FİSH) yöntemi ile birlikte kullanılabilir.

Tarama elektron mikroskopisi (SEM) ve transmisyon elektron mikroskopisi gibi görüntüleme teknolojilerinin kullanımı bazı nedenlerle sınırlıdır; bunlar arasında fiksasyon işleminin sırasında ortaya çıkan artefaktlar ve bakterilerin, morfolojik özelliklerine bakılarak özgül tanımlanmasının yapılamaması sayılabilir.

#### **2.6.15. Biofilm Direnci**

Coolins, 1957 yılında yaptığı derleminde yüzeydeki bakterilerin etrafının çeşitli şeker yapıdaki (glikokaliks olarak adlandırılan) maddeler ile çevrildiğini bunun planktonik yapıda olan farklı özellikler gösteren hücreler olduğunu, antibiyotiklerin bu glikokaliks tabakasına etkili olduğunu ancak paradoksik olarak bu hücrelerde bunun böyle olmadığını belirtmiştir. Coolins, bu direnci de planktonik bakterilere bağlamıştır (94). O zamandan beri biofilm direnci ile ilgili çok önemli mesafeler alınmıştır.

Biofilm hücrelerinin kendi aralarındaki etkileşimleri sonucunda genetik yapılarında birtakım değişiklikler olduğu ve biofilmlerin ekstrakromozomal DNA değişimleri için ideal ortamlar oluşturduğu anlaşılmıştır. Biofilmde, plazmidlerin aktarılması sayesinde genetik yapısı değişen hücreler, antimikrobiyal ajanlara karşı daha fazla direnç geliştirmiş olur. Çok yakın tarihte yapılmış çalışmalar, *in vivo* ortamda, tiplendirilemeyen *H. influenzae* suşları tarafından oluşturulan biofilmlerde hem tip IV pilin proteinlerinin hem de çift sarmallı DNA'nın bulunduğunu göstermiştir. Bu DNA iplikçikleri, biofilme yapısal stabilite sağlayan yoğun bir aę örüntüsü kazandırır (95). Diğer yandan biofilm fenotipinin özellikle antibiyotik direnci açısından planktonik fenotipten çok farklı olması, hem mikrobiyologlar hem de tedaviyi uygulayan klinisyenler açısından ciddi bir problem oluşturmaktadır.

Biofilmin oluşturduğu direnç, biofilm popülasyonu içindeki fenotipik varyantların ortaya çıkması, genel stres cevabının uyarılması, atım pompalarının ve “Quorum- sensing” sistemlerinin etkin hale gelmesini kapsamaktadır. Biofilm direnci gerçekte multifaktöriyel bir olaydır. Direnç gelişiminde antimikrobiyal ajanların biofilm içine düşük penetrasyonları, ortam koşullarının farklılığı ve biofilm popülasyonunda özgü dirençli bir fenotip oluşumudur (96).

Biofilm ortamı, sadece antibiyotiklere karşı değil, dezenfektanlara karşı da direnç gelişmesinde rol oynamaktadır. Biofilm tabakası içindeki bakteriler, sıvı ortamda serbest üreyen bakterilere göre dezenfektanlara 10-100 kat daha dirençlidir. Bu yolla oluşan direncin mekanizması, glikokaliks bileşimi, hücre dışı enzimler, besin sınırlaması, dezenfektanın hücrelere ulaşmasındaki zorluk gibi çeşitli faktörlerle ilişkili olduğu varsayılmaktadır. Başlangıç tedavisinde, yüksek doz antibiyotik planktonik hücreleri ve biofilm hücrelerinin çoğunu öldürür. Ancak, hayatta kalan mikroorganizmalar biofilmin ortaya çıkmasına neden olur ve bunlar relapsların en önemli nedenidir.

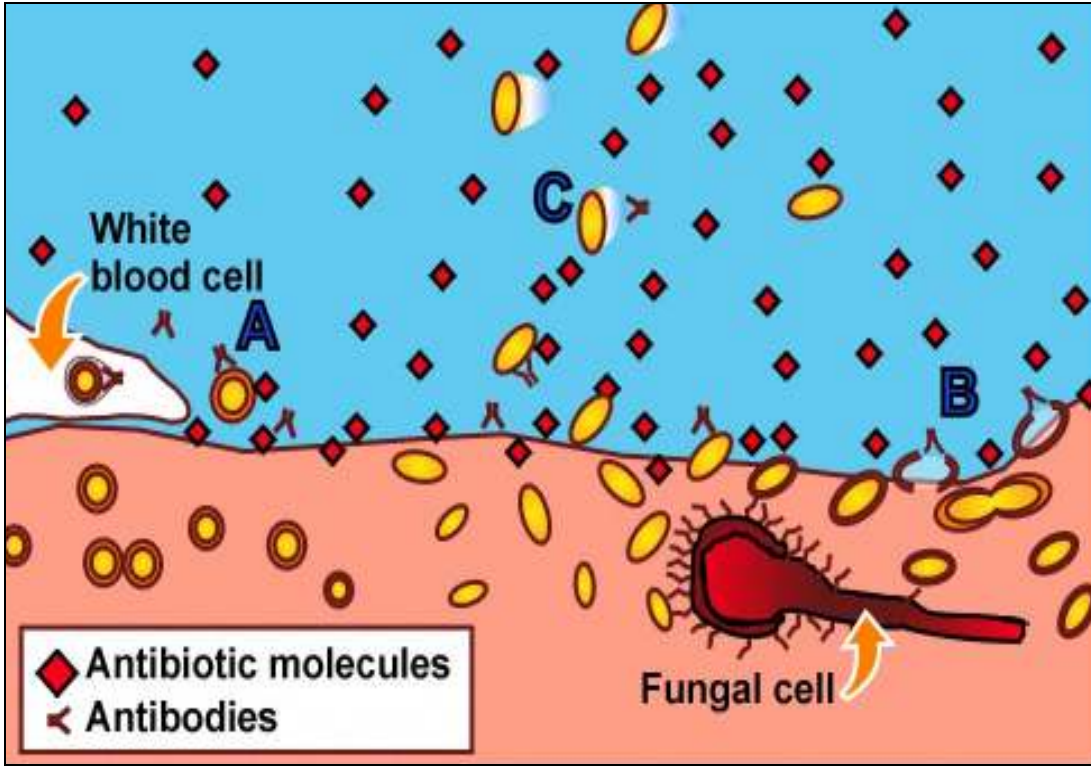
Biofilimde yer alan mikroorganizmalar antimikrobiyal ajanlara, planktonik şekillerine göre 200-500 kat daha dirençlidir. Herhangi bir şekilde antimikrobiyal ajanlara dirençli olmayan bir mikroorganizma, biofilm oluşturunca dirençli hale dönüşürken biofilmden ayrıldığında tekrar duyarlı hale gelmektedir (21).

Biofilmlerle birlikte bakterilerin antibiyotik direnç nedenleri, biofilm tarafından meydana getirilen koruyucu birkaç faktör ile açıklanabilir. Bunlar lokal çevresel değişiklikler ile bakteri fenotipindeki değişikliklerdir.

Biofilm üreten bakteriler antiseptik solüsyonlar içinde uzun süre canlı kalabilmektedir. Ayrıca, endoskop ve bronkoskoplarda psödobiofilm oluşumuyla ortaya çıkan *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium tuberculosis* ve hepatit C virüsü salgınları rapor edilmiştir (97).

### 2.6.15.1. Biofilm İçine Düşük Penetrasyon

Biofilm, fiziksel bir bariyer olarak, antibiyotiklerin ve dezenfektanların mikroorganizma hücrelerine, ulaşmasını engelleyebilir. Bu engelleme sıklıkla antibiyotiğin biofilm komponentlerine bağlanması sonucunda, ortaya çıkmaktadır.



Şekil 16. Antibiyotikler ve antikorlar dirençli biofilm tabakası tarafından engellenir (98)

Örneğin; *P. aeruginosa* biofilmlerinde özellikle aminoglikozidlerin penetrasyonu, pozitif yüklü antibiyotiğin negatif yüklü biofilm polimerlerine bağlanması sonucunda bozulmaktadır (99). Biofilm içindeki ozmotik çevre değişiklikleri, ozmotik bir strese yol açıp bakterideki porin yapısında veya miktarında değişikliklere neden olabilir. Bu durum da, özellikle beta-laktam antibiyotiklerin hücre içine girişini kısıtlayabilir.

Genel stres yanıtı bakteride “Q faktör” olarak bilinen RpoS geninin ekspresyonuna yol açıp, bir ozmotik koruyucu olarak fonksiyon gören trehalozun aşırı sentezlenmesine ve biofilmin kalınlaşmasına neden olur. *P. aeruginosa* ile kronik kolonize olan kistik fibrozis olgularının balgamlarında *rpoSmRNA*’sının gösterilmesi

bu bulguyu desteklemektedir (100). Biofilmi oluşturan bakterilerde ompF yerine daha küçük bir porin olan omp C gen ekspresyonunun arttığı, bunun da ozmotik stresin artmasına yol açarak intrensek antibiyotik direncini körüklediği ileri sürülmüştür (21). Düşük penetrasyon olayı antibiyotiğin enzimatik inaktivasyonu ile birlikte olduğunda, ortaya çıkan direnç daha belirgin hale gelmektedir. Biofilmin en dış kısımlarında lokalize olan bakteriler, besin maddelerine ve oksijene derinlerde olanlara göre daha rahat ulaşabilmektedir. Bu durum da, bakteri popülasyonu içinde bir heterojenliğe yol açmaktadır.

Antimikrobiyal ajanların metabolik olarak aktif hücreleri primer olarak hedefledikleri düşünülürse, biofilm içindeki bu heterojenliğin antibiyotik duyarlılığında farklılıklara yol açabileceği ortadadır. Düşük üreme hızı, özellikle olgun biofilmlerde izlenmektedir. Sınırlı besin miktarları nedeniyle biofilmlerin yavaş üreme hızına sahip olmaları, direncin bir diğer nedeni olarak ileri sürülmektedir. Biofilm içinde yavaş üreyen veya üremenin durağan fazında bulunan *P. aeruginosa* suşlarının beta-laktamlara ve tetrasikline duyarlılığının önemli ölçüde etkilendiği, florokinolon aktivitesinin ise üreme hızıyla etkileşmediği saptanmıştır (101). Benzer bir sonuç *Stenotrophomonas maltophilia* biofilmleriyle yapılan bir çalışmada da elde edilmiş ve seftazidimin hem biofilm içine düşük difüzyonu hem de yavaş üremekte olan hücrelere karşı düşük etkinliği nedeniyle *S. maltophilia* biofilmlerini ortadan kaldıramadığı belirtilmiştir (102). Biofilm içindeki oksijen yoğunluğu direnci etkileyen bir diğer faktördür. Oksijenin biofilmin yüzey katmanlarında tüketildiği ve dip kısımlarda anaerobik ortamın oluştuğu bilinmektedir. Bu nedenle bazı antibiyotiklerin, örneğin; aminoglikozidlerin etkinliği azalmakta ve direnç gelişebilmektedir. *P. aeruginosa* biofilmlerinde siprofloksasin ve tobramisin aktivitesinin yüzeye yakın bölgedeki suşlarda daha yüksek olmasının saptanması da oksijen yoğunluğuna bağlanmaktadır (99). Direnci etkileyen diğer bir faktör asidik atık maddelerden dolayı pH'nın değişmesi ve bu değişimin bazı antibiyotikler üzerine antagonistik etki yapmasıdır.

#### **2.6.15.2. Biofilm Fenotipi Varyantlarının Oluşumu**

Bakteriler, bir yüzeye tutunmayı takiben çeşitli fizyolojik, metabolik ve fenotipik değişikliklere uğrar. *P. aeruginosa* suşlarının yüzeye tutunmasından sonra, yaklaşık 15

dakika içinde aljinat sentezini sağlayan alg C geninin regülasyonunun arttığı, pili ve flajel sentezini sağlayan genlerin ise represe olduğu gösterilmiştir. Bunların yanı sıra antibiyotik duyarlılığını etkileyen genlerin aktive veya represe olduğu da izlenmiştir. Örneğin; aminoglikozidlerin bakteri dış membranına olan afinitesini azaltan tol A geni *P. aeruginosa* biofilmlerinde aktive durumdadır (103).

Biofilmi oluşturan hücrelerin önemli bir kısmının, antibiyotik etkisi ile ortadan kalktığı, küçük bir kısmının ise canlılığını sürdürdüğü bilinmektedir. Antibiyotik dirençli fenotip tipler biofilm oluşturma yetenekleri ile dirençli biofilmlerin oluşumunu sağlamaktadır (104). Bu konu ile ilgili öne sürülen bir hipotez, antibiyotik etkisiyle zarar gören hücrelerden bir kısmının “apoptoz” yoluyla kendilerini ortadan kaldırdıkları, ancak bir grup varyant hücrenin apoptoz yeteneğinden yoksun oldukları için canlılıklarını koruyarak biofilmi devam ettirdikleri şeklindedir. Biofilm içindeki bakteri popülasyonun, uzun süreli antibiyotiklerin subinhibitör konsantrasyonlarıyla karşı karşıya kalması ise daha dirençli bir popülasyonun seleksiyonunu kolaylaştırmakta ve bu infeksiyonların tedavisini uzun sürede güçleştirmektedir.

Biofilm oluşumunun bakteriyel genetik özelliklerinin ve inflamasyonda konak ile bakteri arasındaki etkileşimin belirlenmesi, biofilmlerin ilaçla tedavisi için iyi hedefler oluşturabilir.

## **2.7. Antibiofilm Etkili Ajanlar**

### **2.7.1. N-Asetilsistein (NAC)**

NAC, antibiyotik olmamasına rağmen antibakteriyel özellikleri bulunan ve yaklaşık 40 yıldır çeşitli klinik durumlarda, hem profilaksi hem de tedavide kullanılan bir ajan olup, gerek yüksek dozlarda gerekse uzun süreli tedavi rejimlerinde güvenliği ispat edilmiştir (105). Bakteriyel cevabın daha iyi anlaşılması için NAC’ın biofilm inhibisyonuna kolaylık sağlayan etkileri olduğu düşünülür.

Mukolitik bir ajan olup mukustaki disülfid bağlarını ayırarak etkili olur. Plazmada serbest halde ve disülfür bağları ile proteinlere reversibl olarak bağlanmış şekilde bulunur (106). NAC, hücre içinde indirgenmiş aktif glutatyon (GSH) sentezi için, önemli bir prekürsör olan sisteine kolayca deasetile olup, hücrel indirgenmiş aktif glutatyon (GSH) sistemini stimüle etmektedir (107). NAC, antioksidan olarak etkisini GSH'nın koruyucu düzeydeki seviyelerini idame ettirerek ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek göstermektedir (108).GSH, intra ve ekstrasellüler çok önemli bir antioksidandır. Oksidatif hasarla etkilenmiş akciğer epitel hücre fonksiyonlarının sürdürülmesinde ve akciğerde proenflamatuar olayların kontrolünde anahtar bir rol oynar (109). Birçok patolojik durumda, GSH seviyelerinin düşük olduğu bildirilmiştir. Bundan dolayı GSH seviyelerinin yüksek tutulmasının önemli olduğu, hatta hayat kurtarıcı olarak kabul edilmiştir (110).

NAC; antioksidan, sitoprotektif, anti-enflamatuar, anti-anjiogenetik ve immunolojik etkileri olan önemli bir ajandır. Ayrıca DNA hasarı tamirinde, spontan mutasyon inhibisyonunda (anti-mutajenik), genotoksisite inhibisyonunda, apoptozis inhibisyonunda, neoplastik lezyonların inhibisyonunda(anti-karsinojen) ve metastaz inhibisyonunda da etkilidir. Kemoterapötik ilaçların yan etkilerine karşı da koruyucu etkiye sahiptir (105). NAC, kronik bronşit tedavisinde ve parasetamol zehirlenmesinin tedavisinde kullanılır (111). Çalışmalar, oksidatif stres altındaki dokularda spesifik antioksidanların erişilebilirliğini arttırmanın, genel bir yaklaşım içerisinde faydalı olduğunu göstermektedir. Çünkü, hücreler değişik stresler karşısında çeşitli mekanizmalarla intrasellüler GSH seviyelerini arttırmaktadır (7).

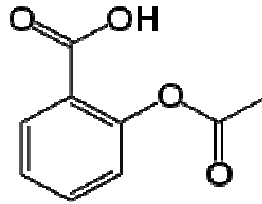
#### **2.7.1.1. N-Asetilsistein'in Mukozal Biofilm Üzerine Etkisi**

NAC, farengal epitelyum hücrelerine Moraxella catarrhalis'in yapışmasını azaltır (112). NAC, Staphylococcus epidermidis ve diğer koagülaz negatif stafilokok enfeksiyonlarındaki biofilm formasyonunda azalma yaptığı tranmisyon elektron mikroskopu ile gösterilmiştir. NAC'ın 0.25 mg/mL ve üstündeki konsantrasyonlarının Staphylococcus epidermidisin oluşturduğu biofilmde anlamlı azalma yaptığı gösterilmiştir. NAC'ın polystyrene yüzeyde Staphylococcus epidermidisin neden olduğu

biofilmin formasyonunda azalma yaptığı gösterilmiştir. NAC yüksek (0.25-8 mg/mL) konsantrasyonunda invitro olarak biofilmin optik dansitesini anlamlı ölçüde azaltmıştır (113).

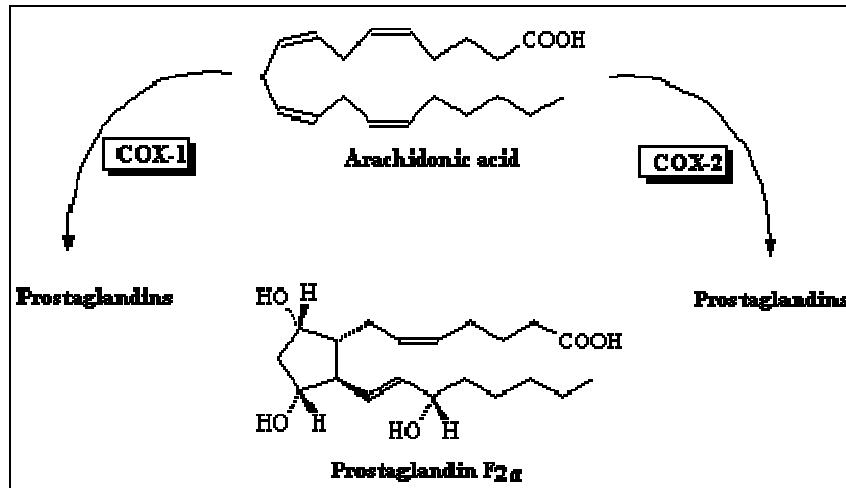
### 2.7.2. Asetilsalisilik Asit (ASA)

Maddenin adı ile kökeni arasında bir bağ vardır. Salix kelimesi latince söğüt anlamına gelir. Kaynağı söğüt ağacı olan asetilsalisilik asitin (ASA) tedavi edici özelliğinin farkında olan ilk hekimlerden biri Hipokratır. Saf ASA ise Felix Hoffmann tarafından 1897’de üretilmiştir.



Şekil 17. Asetilsalisilik asit’in kimyasal yapısı (114)

ASA’ nın yarı ömrü kısa olup 20 dakikadır. Hızlı bir şekilde invivo olarak salisilik asit formu deasetile olur (115). Non steroidal ilaçlardan örneğin aspirin siklooksijenaz 1 (COX 1) ve siklooksijenaz 2 (COX 2) izoenzimlerin her ikisini de inhibe eder. Aspirin serin rezidüsüne kovalent bağlanır. COX1 üzerinde COX2’ye göre daha çok inhibisyon gösterir (116).



Şekil 18. COX enzimi ile araşidonik asit’ten prostaglandin oluşumu (117)



Analjezik, antipiretik, antienflamatuar ve antiagregan özellikleri vardır. Migrenin semptomatik tedavisinde de kullanılır. Günlük kullanılan doz, yetişkinlerde 3 kez 1-2 (500-1000 mg) tablet, 9-15 yaş grubuna günde 2 veya 3 kez 1 tablet, 7-9 yaş grubuna günde 3 kez ½ tablet verilebilir. 100 mg'lık tablet formundan olmak üzere 1-2 yaş ½ tablet, 2-3 yaş 1 tablet, 4-6 yaş 2 tablet verilir.

Kontrendikasyonları: Salisilatlarla ve diğer non-steroidal antienflamatuar ilaçlara karşı aşırı duyarlılığı olanlarda, kanama eğiliminin arttığı durumlarda, gebeliğin son üç ayında ve süt veren annelerde, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliğinde, gastrointestinal kanalda kronik ve aktif ülseri olanlarda kullanılması sakıncalıdır. Astma, nazal polip veya nazal allerjisi olanlarda dikkatle kullanılmalıdır. Salisilatlar, tiroid fonksiyon testlerini değiştirebilir. Asetil salisilik asid'in en sık görülen yan etkisi, sindirim sistemi üzerinedir. Doza bağımlı olarak tinnitus, vertigo, geçici işitme kaybı görülebilir. Nadir olgularda aşırı duyarlılık reaksiyonları görülebilir. Asetil salisilikasit plazma protrombin konsantrasyonunu azaltması nedeniyle antikoagülanların etkisini potansiyelize eder. Oral hipoglisemik ilaçların etkisini potansiyelize eder. Salisilatlar küçük dozlarda probenesid ve sülfonpirazonun ürikozürik etkisini azaltır.

#### **2.7.2.1. Asetilsalisilik Asit'in Mukozal Biofilm Üzerine Etkisi,**

Prostaglandinler, küçük lipid moleküller olup farklı biyolojik aktiviteleri vardır (116). Bazı kronik enfeksiyonlarda, bu küçük lipid moleküllerin arttığı gözlenmiştir (118). Salisilatlar biofilm üretiminin % 95 ini inhibe ederler (119). COX inhibitörü olan ASA, *Candida albicans* tarafından oluşturulan biofilmdeki hif formasyonunu inhibe eder (120). Salisilik asit ve diğer nonsteroid antienflamatuar ilaçlar bakteri tabakasının üretimini azaltırlar ve böylece medikal polimerlere *Stafilokokus epidermisin* yapışmasını azaltıp, biofilm oluşumunu önlemiş olurlar (8).

### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Hasta Seçimi

Çalışmamız için, D.Ü.T.F. Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul'undan 25.12.2008 tarih ve 615 numaralı kararı ile onay alınmıştır. Bu araştırma Mayıs 2008-Mayıs 2009 tarihleri arasında, D.Ü.T.F. K.B.B. polikliniği'ne başvuran, yaşları 4-39 yaş arasında değişen, poliklinikte kronik tonsillit ve kronik adenotonsillit tanısı alan ve tedavi olarak tonsillektomi ve adenotonsillektomi uygulanan 10 hastanın palatin tonsil doku örneklerinde yapıldı.

**Tablo 5.** Araştırmaya alınan hastalar

	Protokol no	Adı/soyadı	Yaş	Tanı	Operasyon
1	2006008103	Y.U.	5	Kronik tonsillit	Tonsillektomi
2	2007080561	B.F.	5	Kronik tonsillit	Tonsillektomi
3	2009029425	A.D.	4	Kronik tonsillit	Tonsillektomi
4	2000049091	Y.B.	39	Kronik tonsillit	Tonsillektomi
5	2007064169	G.K.	11	Kronik adenotonsillit	Adenotonsillektomi
6	2009019415	M.A.Ç.	9	Kronik adenotonsillit	Adenotonsillektomi
7	2009017918	S.N.	7	Kronik adenotonsillit	Adenotonsillektomi
8	2004007918	M.Ç.	6	Kronik tonsillit	Tonsillektomi
9	1996044765	Z.D.	25	Kronik tonsillit	Tonsillektomi
10	2009022234	S.K.	8	Kronik adenotonsillit	Adenotonsillektomi

#### 3.2. Dokuların Temini ve Hazırlanması

Dokulara uygulanan NAC ve ASA'nın piyasada kullanılan formları seçildi. Dokunun maruz bırakıldığı ilaç miktarı tedavi dozu şeklinde (örneğin 3x1 olarak reçete edilen bir ilaç için seçilecek miktar 1 ölçek dozu yani 5 cc ) oldu. Hastalardan alınan

tonsiller, çıkarılır çıkarılmaz 10 ml'lik salin solüsyonlardan geçirildi. Parçalanmadan, steril şartlar altında, 15 numara bistüri kullanılarak 5 örnek alındı. Araştırma kapsamında 3 grup oluşturuldu.

Birinci gruptaki tonsil doku örneğine herhangi bir kimyasal ya da mekanik etki uygulanmadan ameliyathanede yaklaşık 1x1 cm'lik doku örneği alınarak, %10'luk nötral formalin içine konuldu. Daha sonra ışık ve TEM protokolüne alındı.

İkinci gruptaki tonsil doku örneğine ameliyathanede NAC içeren ilaç solüsyonu 5 dk. ve 10 dk. uygulandıktan sonra %10'luk nötral formalin içine konularak ışık ve TEM protokolüne alındı.

Üçüncü gruptaki tonsil doku örneğine ASA içeren ilaç solüsyonu ameliyathanede 5 dakika ve 10 dakika uygulandıktan sonra %10'luk nötral formalin içine konularak D.Ü.T.F. Histoloji ve Embriyoloji A.D.'nda ışık ve TEM protokolüne alındı. Böylece antibiofilm etkili NAC ve ASA'nın tonsildeki biofilm tabakası üzerinde, meydana getirdiği değişiklikler amaçlandı.

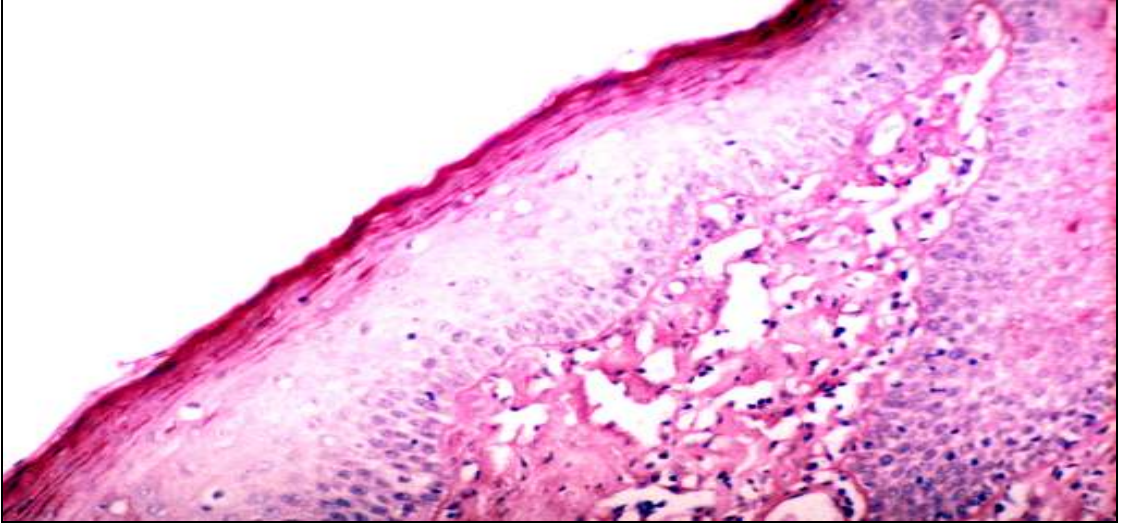
Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken görsel analizler için kesitler Periodic Acid Schiff (PAS) ile boyanarak (121) Olympus BH-2 ışık mikroskopunda (122) değerlendirildi. Kontrast boyanan ince dokular Zeiss transmisyon elektron mikroskopunda incelendi ve mikrografları alındı.

## 4. BULGULAR

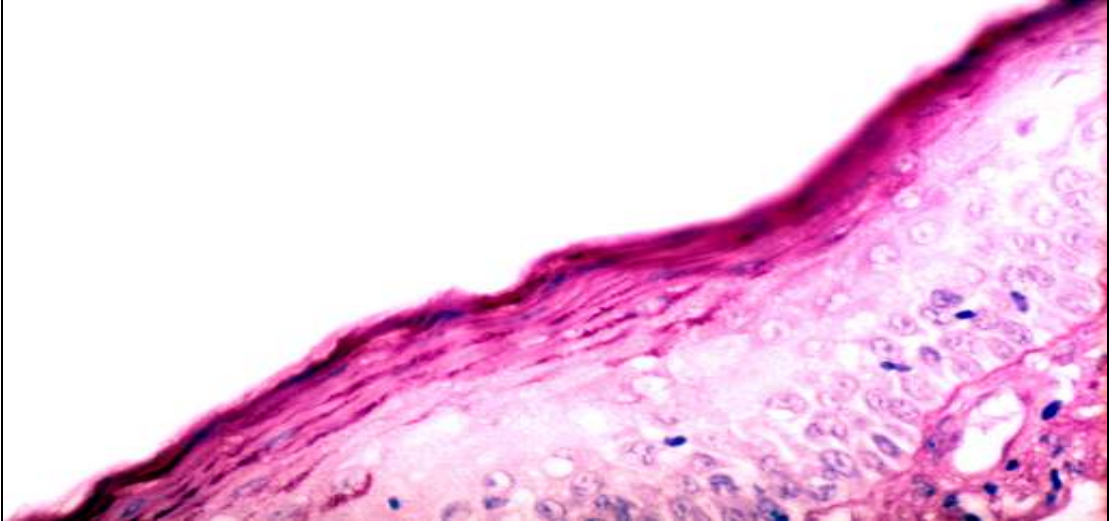
### 4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

#### 4.1.1. Kontrol Grubu

Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastaların tonsil dokusunun PAS boyaması ile elde edilen preparatlarda; mukozal biofilm tabakası ve yüzey epiteli normal görünüm izlendi (şekil 19-20).



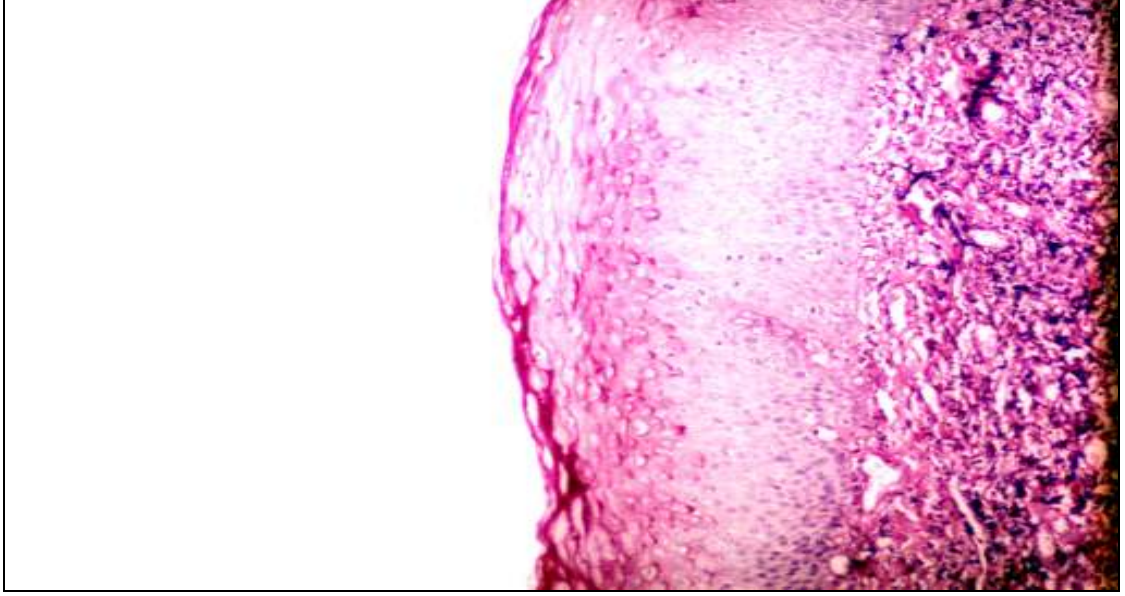
**Şekil 19.** Kontrol grubu: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunda yüzey epiteli ve mukozal biofilm tabakasının normal görünümü (PAS, orijinal büyütme X80).



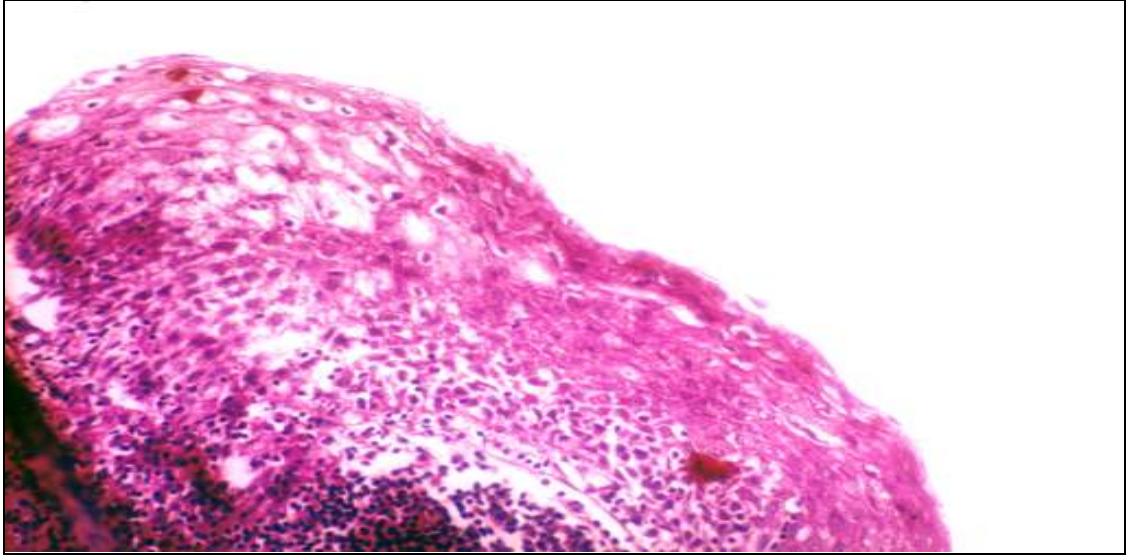
**Şekil 20.** Kontrol grubu: Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunda yüzey epiteli ve biofilm tabakasının büyük büyütmedeki görünümü (PAS, orijinal büyütme X160)

#### 4.1.2. NAC Grubu

Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunun NAC'a 5 dk maruz bırakılan grupta mukozal biofilm tabakasının kısmen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlendi (şekil.21-22)

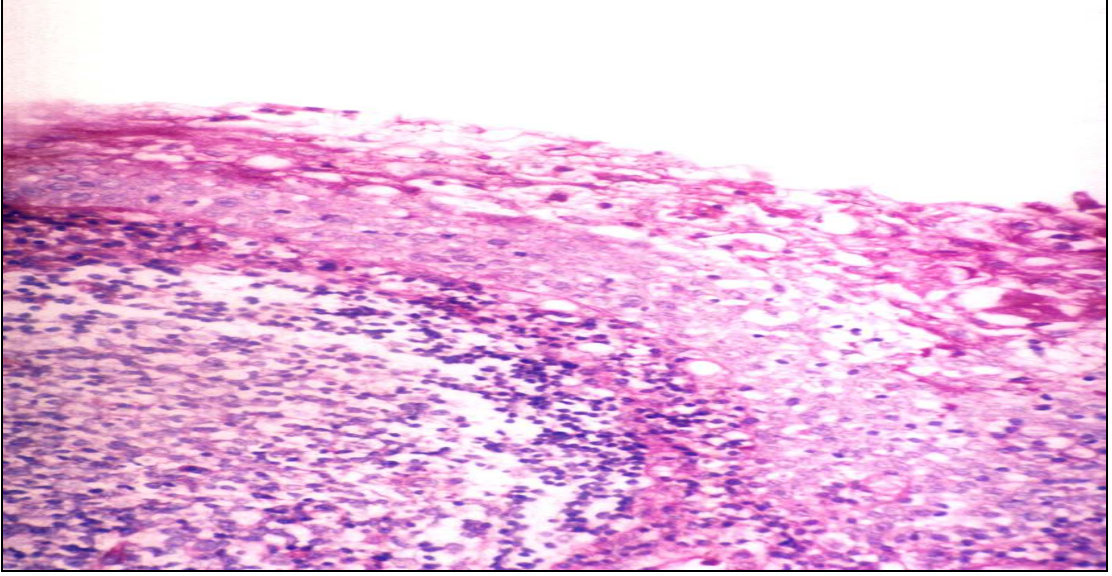


**Şekil 21.** NAC 5 dk Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının kısmen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X40).

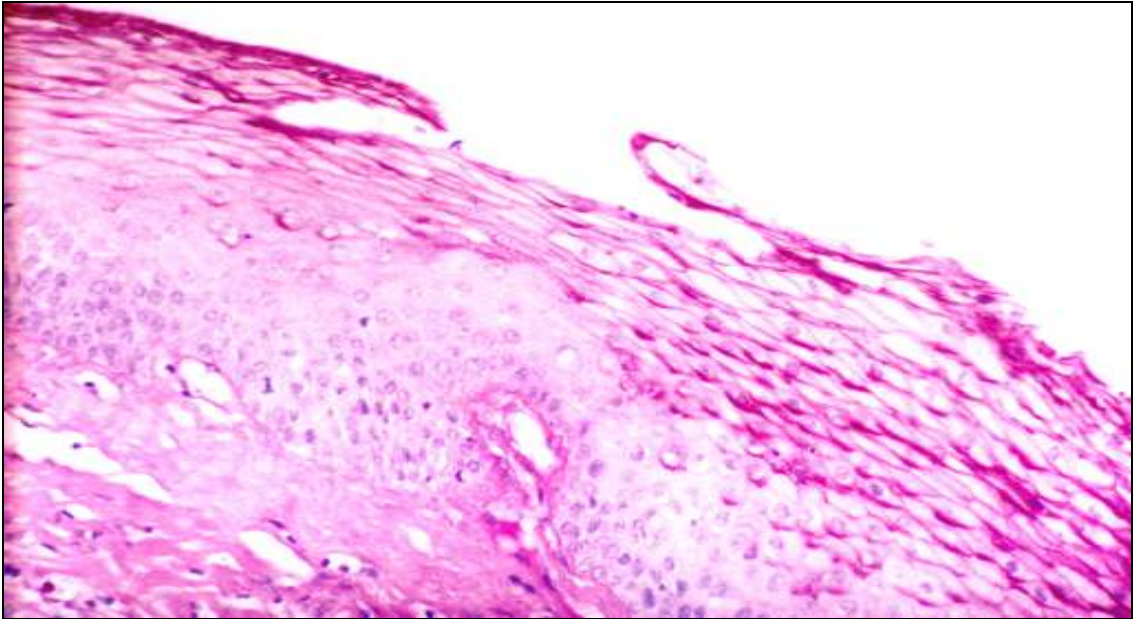


**Şekil 22.** NAC 5 dk Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının kısmen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80).

Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunun NAC'a 10 dk maruz bırakılan grupta mukozal biofilm tabakasının incelmesi, epitelde yer yer dejenerasyon ve nekrotik hücreler izlendi (şekil.23-24)



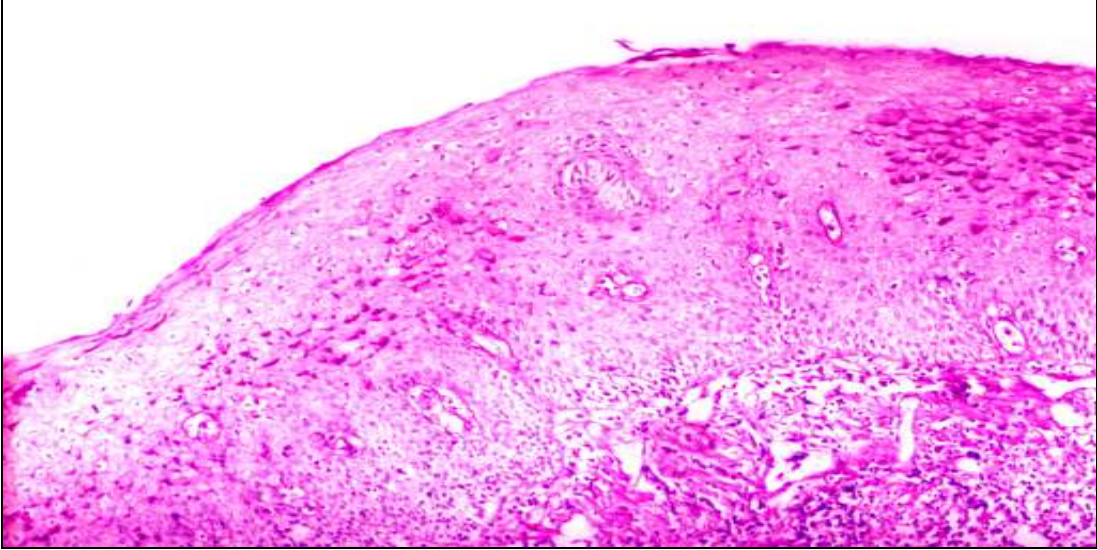
**Şekil 23.** NAC 10 dk Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının incelmesi, epitelde yer yer dejenerasyon ve nekrotik hücreler izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80).



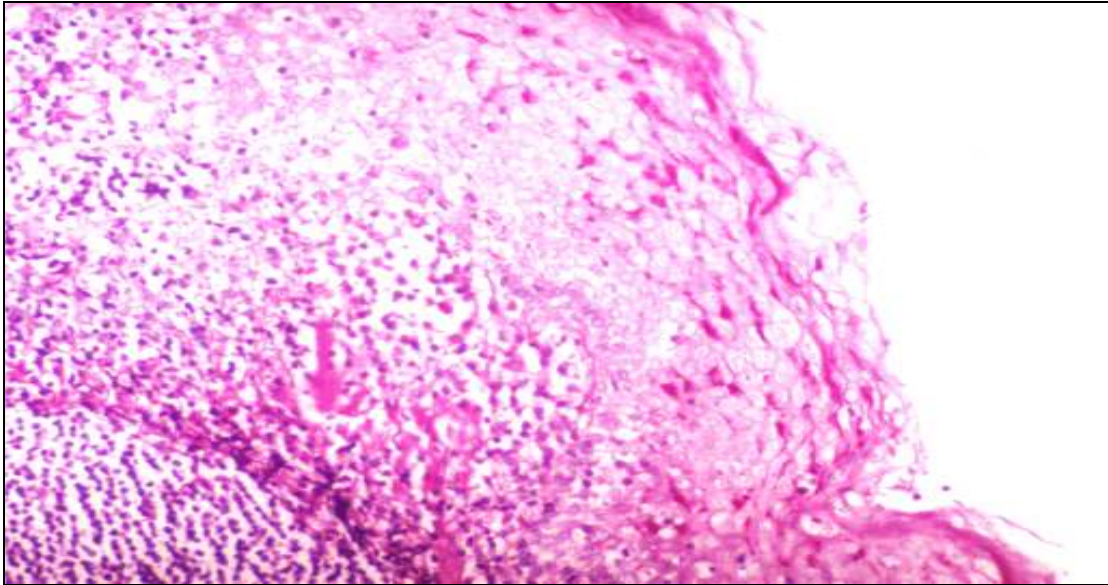
**Şekil 24.** NAC 10 dk Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının yer yer kaybolduğu ve yüzey epitelin ayrıştığı izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80)

#### 4.1.3. ASA Grubu

Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunun ASA'ya 5 dk maruz bırakılan grupta: Mukozal biofilm tabakasının kalınlığındaki azalmanın yanısıra yüzey epitelinde normal görünüm izlendi (şekil:25-26).

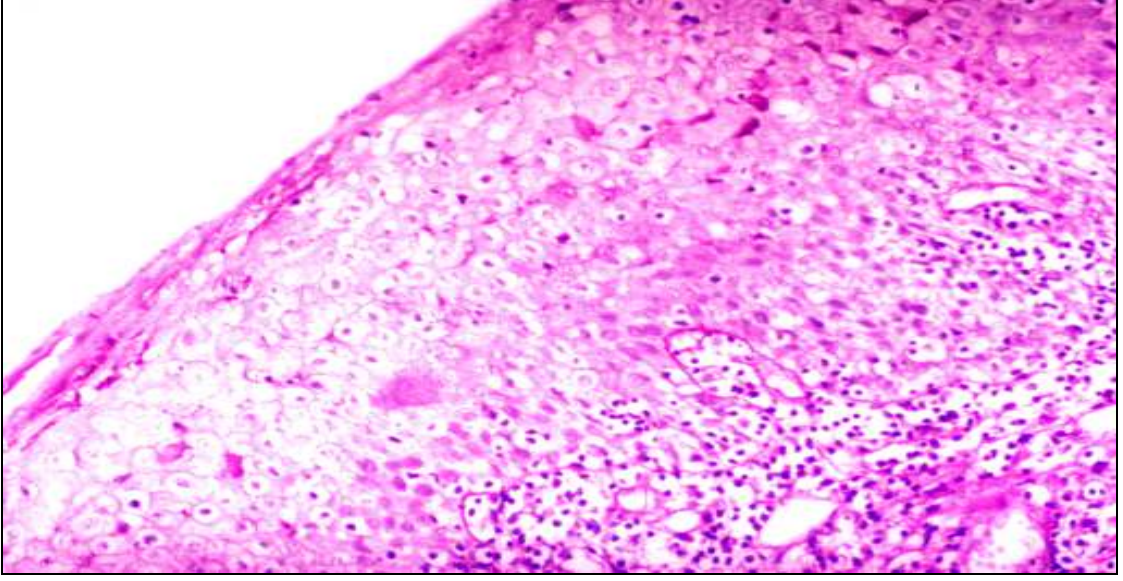


**Şekil 25.** Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunun ASA'ya 5 dk maruz bırakılması ile oluşan değişiklikler: Mukozal biofilm tabakasının kalınlığındaki azalmanın yanısıra yüzey epitelinin küçük büyütme ile normal görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X40)

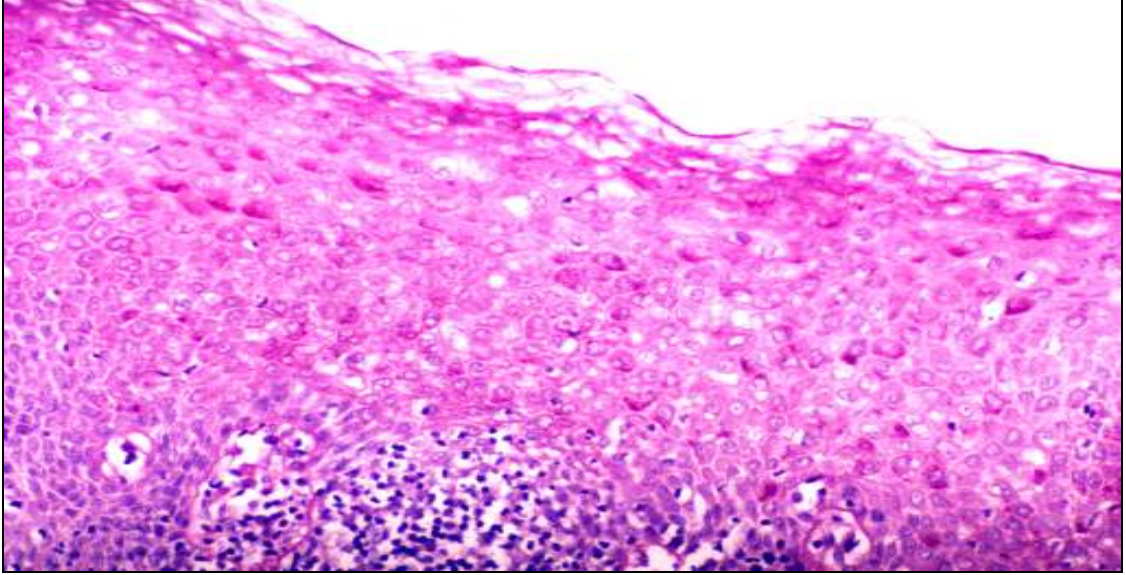


**Şekil 26.** ASA 5 dk Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının kalınlığındaki azalmanın yanısıra yüzey epitelinin büyük büyütme ile normal görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80).

Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusunun ASA'ya 10 dk maruz bırakılan grupta ise mukozal biofilm tabakasının tamamen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlendi (şekil 27-28).



**Şekil 27.** ASA 10 dk Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının tamamen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X40).

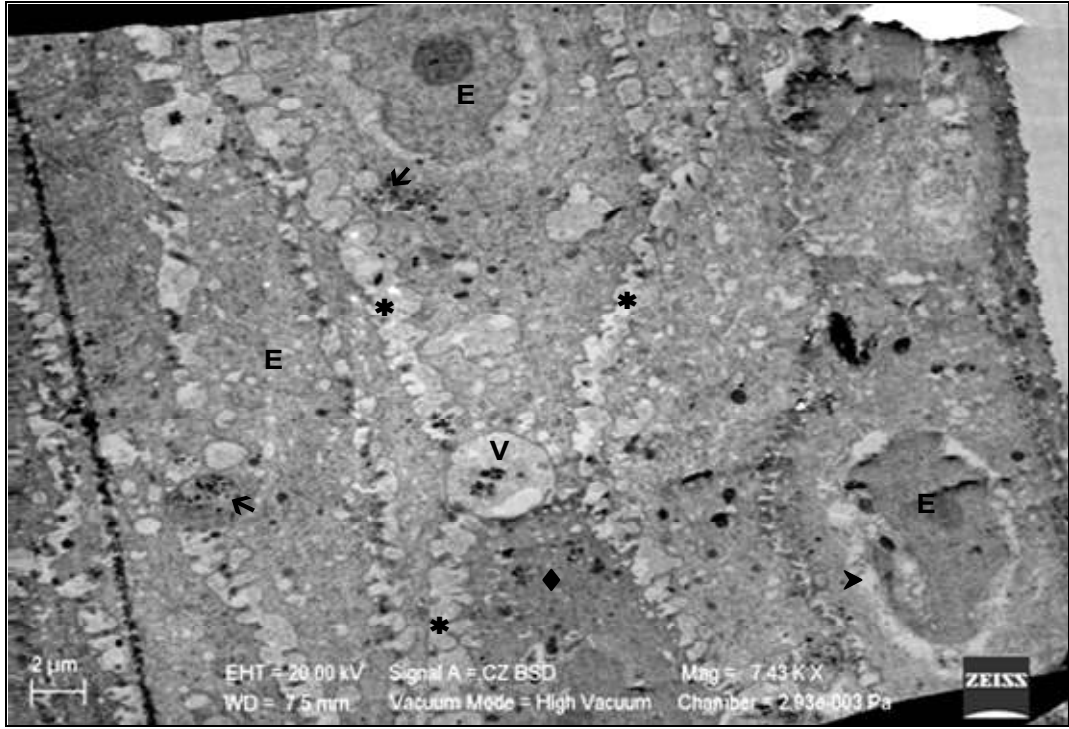


**Şekil 28.** ASA 10 dk Kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yapılan hastanın tonsil dokusundaki mukozal biofilm tabakasının tamamen kaybolduğu ve yüzey epitelinin normale yakın görünümü izlenmektedir (PAS, orijinal büyütme X80).



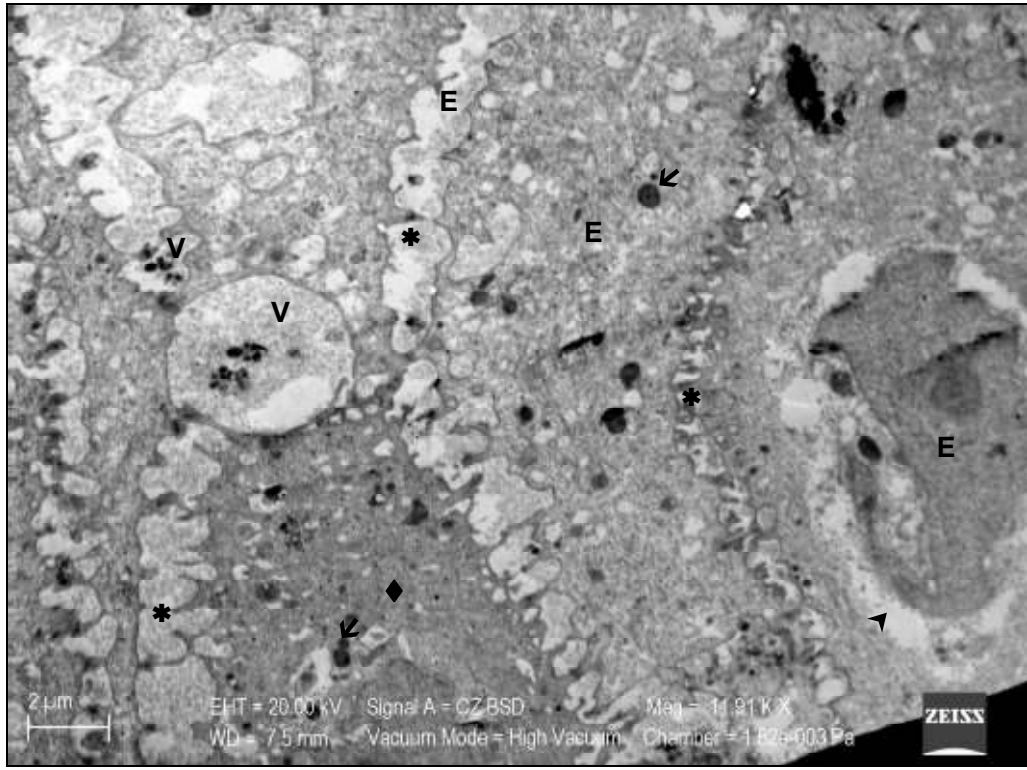
## 4.2. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) Bulgular

### 4.2.1. Kontrol Grubu TEM bulguları



**Şekil 29:** Kontrol grubu elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri, ♦: elektron yoğun sitoplazmalı epitel hücresi, ▶: perinükleer ödem, \*: açılmış yanyüz bağlantı bölgeleri, V: bağlantı birimlerinde biofilm içeren vakuoler yapılar, ↑: intraepiteliyal biofilm ( Uranil nitrat -kurşun asetat).

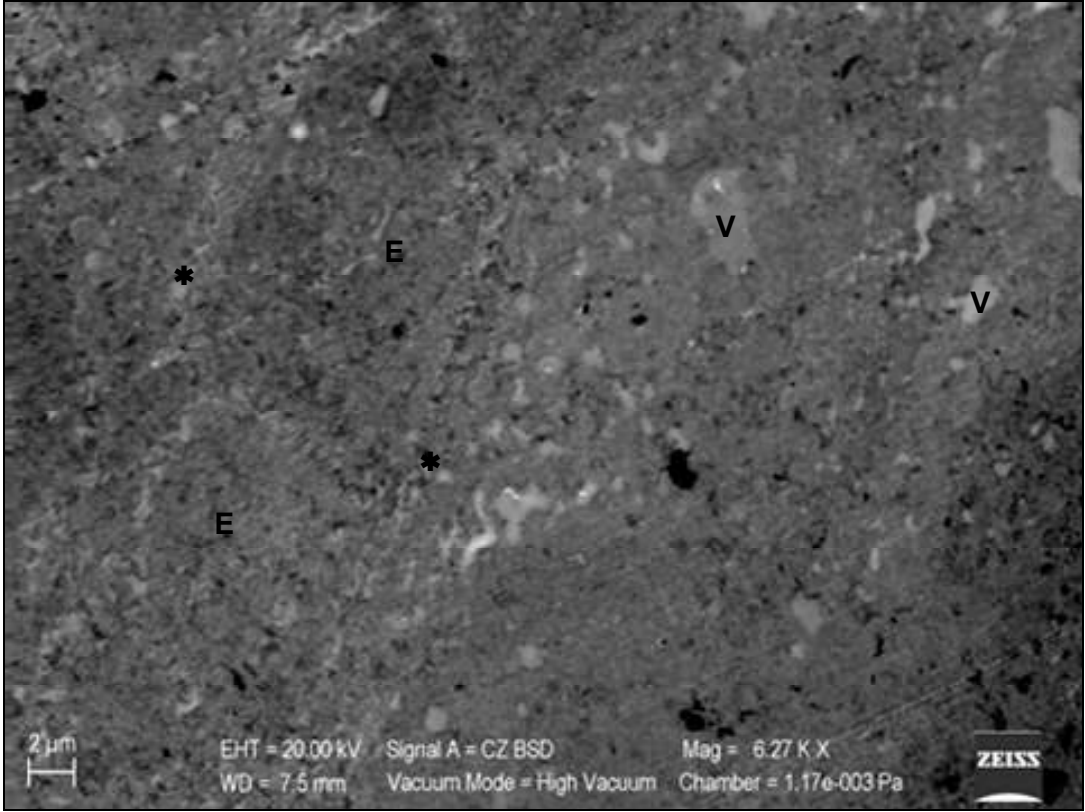
Kontrol grubu elektron mikroskopik incelemelerinde en belirgin değişiklik epitel yanyüz bağlantı birimlerindeki açılmalarıdır. Bu bölgeler biofilm içermekteydi ve yapının biofilm etkisi ile bozulmuş olabileceği düşünüldü. Bozulmanın bağlantı birimlerine paralel olarak hücre geçişini de etkilediği, intraepiteliyal biofilm birikimlerinin izlenmesi ile anlaşıldı. Epitel hücrelerinin bir grubunda elektron yoğun sitoplazma ilgiyi çekti. Bu hücrelerin işlevsel evresinin farklı olduğunun göstergesi olarak kabul edildi. Dejenerasyonun bir göstergesi olarak, bir grup epitel hücresinde perinükleer ödem dikkati çekti (Şekil 29,30).



**Şekil 30:** Kontrol grubu büyük büyütmede elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri,◆: elektron yoğun sitoplazmalı epitel hücresi, ➤: perinükleer ödem, \*: açılmış yanyüz bağlantı bölgeleri, V: bağlantı birimlerinde biofilm içeren vakuoler yapılar, ⬆: intraepiteliyal biofilm ( Uranil nitrat -kurşun asetat).

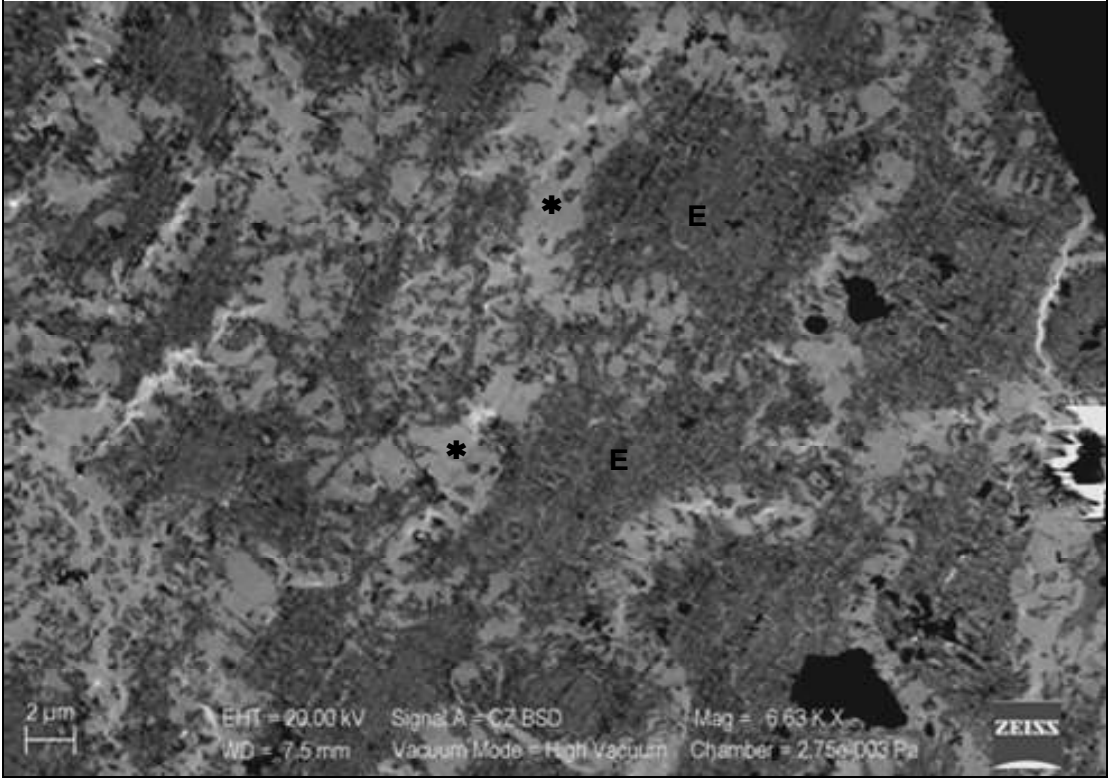
#### 4.2.2. NAC Grubu TEM Bulguları

NAC 5 dk uygulamasından sonra tonsil epitelinde mukozal biofilm yapısı izlenmezken, yapının korunduğu dikkati çekti. Yer yer vakuolar formasyonlar belirgindi. Bu bulgular ile görünüm ASA'nın 10 dakikalık uygulamasına eşdeşti (şekil 31).



**Şekil 31:** NAC 5 dk grubu elektron mikroskobik inceleme. E: Epitel hücreleri, \*: normal yapıda yanyüz bağlantı bölgeleri, V: Vakuoler oluşumlar ( Uranil nitrat -kurşun asetat).

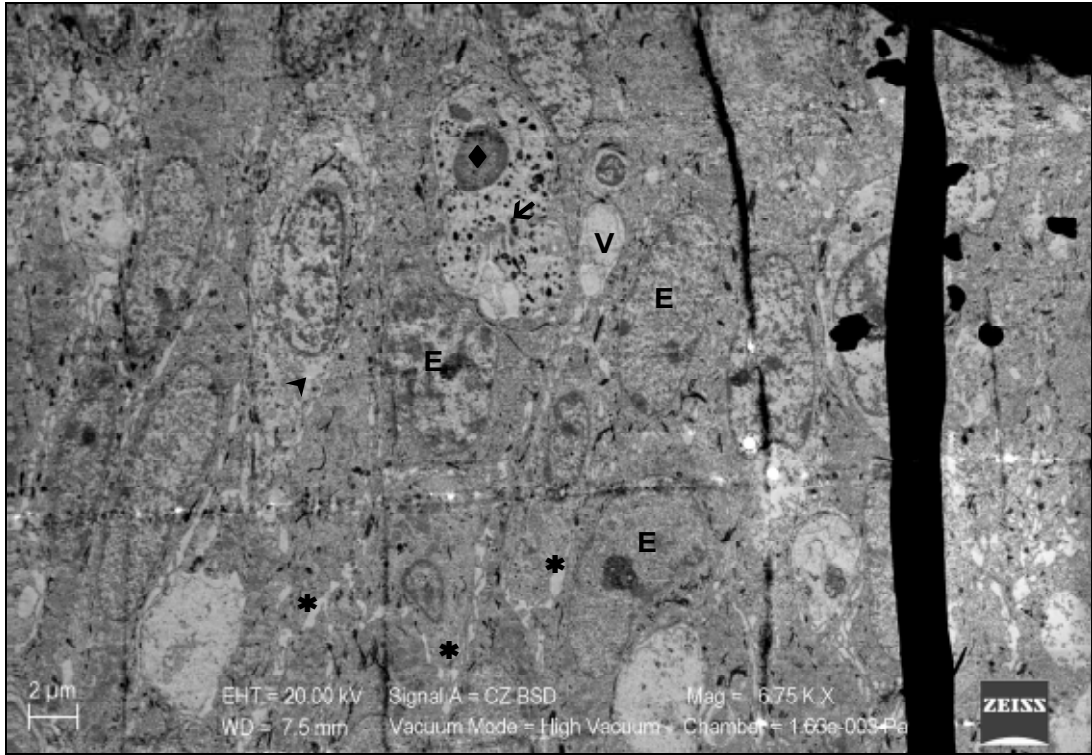
Epitelin tamamen dejenere olduğu, yan yüzlerin tamamen ayrıldığı ve hücrelerin nekrotik görünümüne sahip oldukları belirlendi (şekil 32)



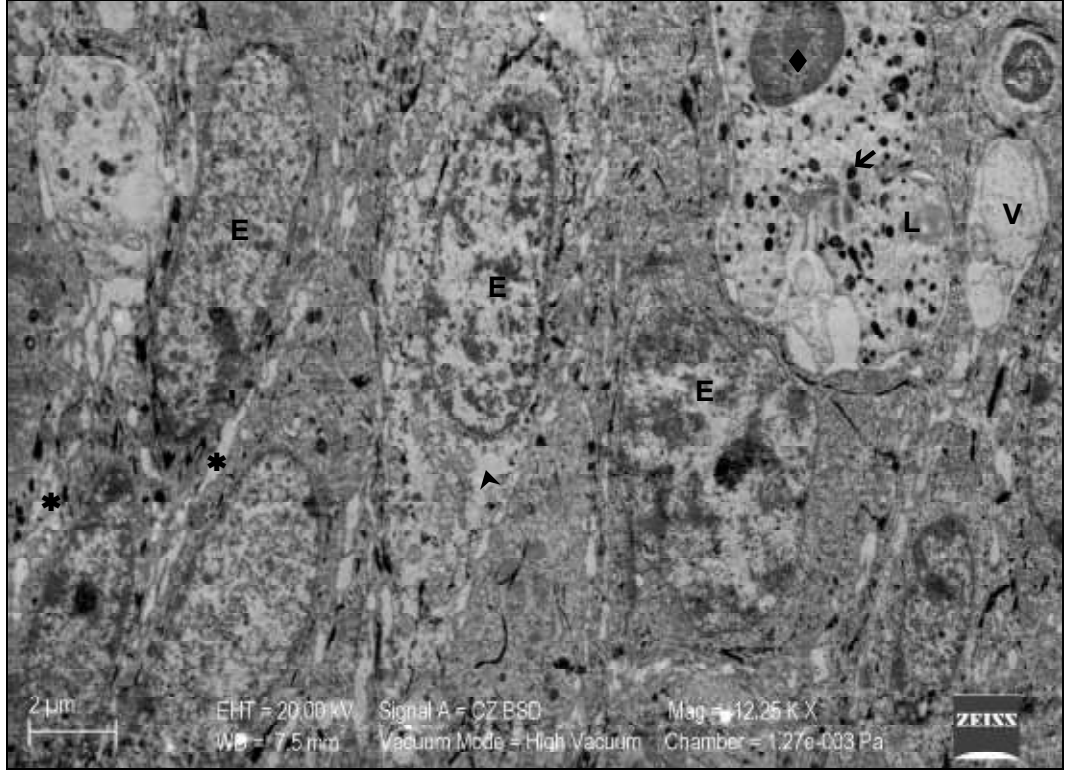
**Şekil 32:** NAC 10 dk grubu elektron mikroskopik inceleme E: Epitel hücreleri, \*: Tamamen ayrılmış yan yüz bağlantı birimleri ( Uranil nitrat -kurşun asetat).

#### 4.2.3. ASA Grubu TEM Bulguları:

ASA'nın 5 dakika uygulandığı grupta, en belirgin değişiklik biofilmin azalmasıydı. Epitel hücrelerinin yanyüz bağlantılarındaki açılmanın azaldığı dikkati çekti. Ancak, bir grup epitel hücresinde intrasitoplazmik ödem gözlemlendi. Epitel katmanını içerisinde antijen sunan hücre olduğu düşünülen hücreler izlendi. Biofilm yapısının da bu hücrelerde bulunduğu gözlemlendi. Adı geçen hücrelerde ayrıca lipid damlacıkları izlenirken, bu yapıların bozulan fizyolojinin sonucu olduğu kanısına varıldı (şekil 33-34).

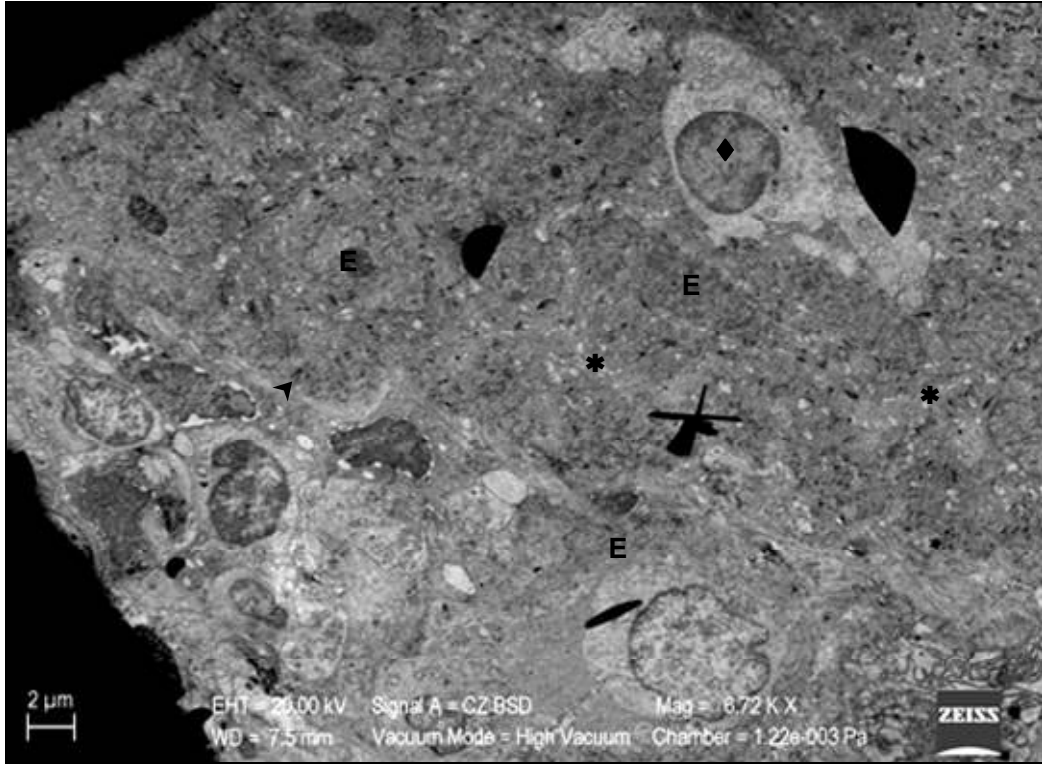


**Şekil 33:** ASA 5 dk grubu elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri,◆: antijen sunan hücre olduğu düşünülen bir hücre, ▶: intrasitoplazmik ödem, \*: yer yer açılma gösteren yanyüz bağlantı bölgeleri, V: vakuoler yapılar, ↑: intrasellüler biofilm( Uranil nitrat -kurşun asetat).

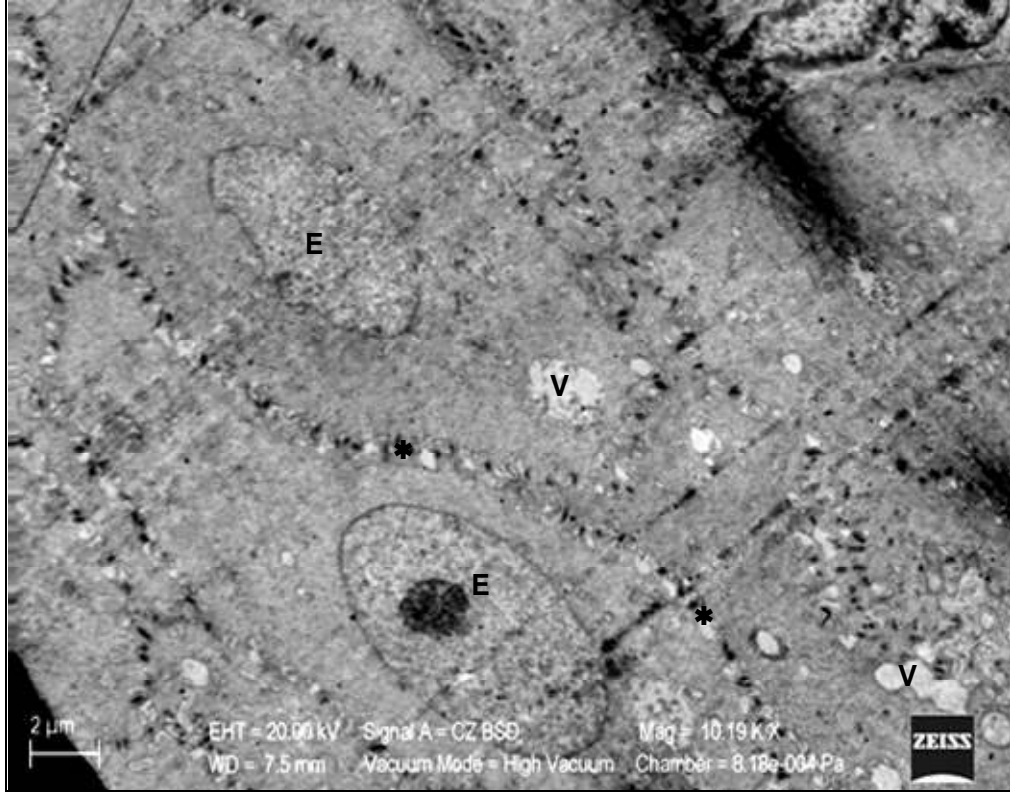


**Şekil 34:** ASA 5 dk grubu büyük büyütmede elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri,◆: antijen sunan hücre olduğu düşünülen bir hücre, ▶: intrasitoplazmik ödem, \*: yer yer açılma gösteren yanyüz bağlantı bölgeleri, V: vakuoler yapılar, ↑: intrasellüler biofilm, L: lipit damlacıkları ( Uranil nitrat -kurşun asetat).

ASA'nın 10 dakika uygulandığı grupta, genel yapının oldukça korunduğu dikkati çekti. Yer yer intrasitoplazmik vakuollerin varlığı izlenmekle birlikte, epitel hücrelerinin sitoplazmik yapıları, yanyüz bağlantı birimleri normaldi. Ayrıca antijen sunan hücre olduğu düşünölen hücrelerde de biofilm yapısı izlenmezken yapı normal olarak değeriendirildi (şekil 35-36).



**Şekil 35:** ASA 10 dk grubu elektron mikroskopik inceleme. E: Epitel hücreleri,◆: antijen sunan hücre olduğu düşünölen bir hücre, \*: normal yapıda yan yüz bağlantı bölgeleri ( Uranil nitrat- kurşun asetat).



**Şekil 36:** ASA 10 grubu büyük büyütmede elektron mikroskobik inceleme. E: Epitel hücreleri,◆: antijen sunan hücre olduğu düşünülen bir hücre, \*: normal yapıda yan yüz bağlantı bölgeleri, V: Vakuoler oluşumlar ( Uranil nitrat -kurşun asetat).



## 5. TARTIŞMA

Güncel bir teori olan biofilm oluşumu, bakterilerin bir araya gelerek oluşturdukları bir yaşam modelidir. Costerton ve ark.'nın, dirençli enfeksiyonlardaki bakteriyel biofilm üzerindeki çalışması, biofilmlere olan ilginin daha da artmasına neden olmuştur (27). Tüm insan bakteriyel enfeksiyonlarının % 65'den daha fazlasını içerdiği tahmin edilen biofilmler (81), özellikle kronik tonsillitte medikal tedaviye karşı oluşan dirençte de önemli rol oynarlar (5). Mukozal biofilmin varlığı ile birlikte planktonik organizmaların ve kronik enfeksiyonun uzak lokalizasyonda ortaya çıkışı, kronik enfeksiyonlardaki akut alevlenmelere katkı sağlamaktadır (44)

Biofilmlerle yapılan invitro çalışmalarda, salin solüsyonunda durulama veya çalkalama ile uzaklaştırılmadığı gösterilmiştir (123, 124). Başka bir çalışmada Çiftçi ve ark.'nın kronik tonsillitte oluşan mukozal biofilm ile ilgili yaptıkları invitro bir çalışmada, 30 sn boyunca steril salin solüsyonda tonsil dokularının durulandıktan sonra incelendiklerinde biofilm tabakasının herhangi bir özelliğini kaybetmeden bütünlüğünü koruduğunu ve sadece yüzeyde bulunan eritrositlerin ve fibrinin uzaklaştırıldığını gözlemişlerdir (125).

NAC ve ASA'nın gerek invitro gerekse invivo ortamda bakteriyel mukozal biofilmler üzerindeki etkileri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Ancak, bu ajanların kronik tonsillitte oluşan mukozal biofilm üzerindeki etkileri ile ilgili çalışma yapılmamıştır. Araştırmalar, NAC'ın bakteriyel yapışma, ayrılma ve ekstrasellüler polisakkaritin üretimi, bakteriyel büyümeye etkilerini araştırmak üzerinde yoğunlaşmıştır. Son yapılan çalışmalarda, invitro ortamda NAC'ın, orofarengeal epitelyum hücrelerine *Streptokokus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae*'nin yapışmasını azalttığı gösterilmiştir (111). ASA'nın tedavi dozunda antibiofilm etkili olduğu invitro çalışmalarla gösterilmiştir (115).

Haberleşme ağı çok geniş olan, oluşumunda oksidatif stresin ve fibrin parçalarının da rol aldığı, çevre şartlarına adapte olarak varlığını devam ettiren, konağın immün direnci düştüğünde bu fırsatı kendisi için çok iyi kullanan bakteriyel biofilmler, kronik enfeksiyon hastalıklarında önemli rol oynamakta ve hidrolitik enzimler aracılığı ile dokuya zarar vermektedirler. Bu enfeksiyonlar önemli olmakla birlikte kronik veya rekürren tonsillit (5), rinit (84), üretrit, sistit (126), otit (66) ve dermatit (68) klinik tablosu ile ortaya çıkmakta ve bu enfeksiyonlar bakteriyel veya fungal kaynaklı olabilmektedir.

Bu çalışma ile kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi uygulanan hastaların tümünde tonsil yüzeyinde biofilm tabakasının oluştuğu ve bu tabakanın, belli sürelerde (5 dk ve 10 dk) NAC ve ASA'ya maruz bırakılmasıyla yapısının bozulduğu gözlemlendi. Yakın zamanda Gordon ve ark., biofilm üzerine dezenfektanları 30.dk, 60.dk, 90. dk. uygulayarak sürenin önemini ortaya koymuşlardır (127).

Çalışmalar, biofilm oluşumu gibi oksidatif stres altındaki dokularda spesifik antioksidanların erişilebilirliğini arttırmanın, genel bir yaklaşım içerisinde faydalı olduğunu göstermektedir. Zira hücreler değişik stresler karşısında çeşitli mekanizmalarla intrasellüler GSH seviyelerini arttırmaktadır (7). NAC'ın biofilm üzerindeki inhibitör etkisi hemodiyaliz hastaların kateterlerinde oluşan biofilmde (128) ve ses protezi kullanan hastalarda oluşan biofilm üzerinde gösterilmiştir (129).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise biofilm matrikslerinin içerisinde hücresel yapıda olmayan mineral kristalleri, korozyon partikülleri ve kan bileşenlerinin bulunduğu gösterilmiştir (21). Sodyum salisilatın, bakteriyel adezyonu doza bağlı olarak azalttığı gösterilmiştir (130). Salisilik asitin, Staphylococcus epidermidis ile oluşan biofilm üzerindeki slime faktör üretimini azaltıcı etkisi, elektron mikroskobu ile doğrulanmıştır (131)

Çalışmanın sonucunda, biofilm karşı hücre ultrastrüktürünü koruyarak tedavide en iyi uygulamanın ASA ile 10 dakika olduğu, ancak gerektiğinde NAC'ın 5 dakikalık uygulamasının da ultrastrüktürel yapı açısından önerilebileceği kanısına varıldı. NAC

ve ASA'nın kronik tonsillitte oluşan mukozal biofilmi azaltıcı veya önleyici rolü olduğu söyleyenebilir. Bulunan sonuçlar NAC'ın invitro ortamda biofilm formasyonunda azalma yaptığını gösteren (113) salisilatların biofilm üretimini inhibe ettiğini gösteren çalışmaları (8) destekler özellikteydi.

Çalışmamızda kronik tonsillit nedeni ile tonsillektomi yaptığımız hastaların tonsil dokusundaki mukozal biofilm üzerindeki değişiklikler, histopatolojik veriler ışığında gözlemlendi. Sonuçlarımız; biofilm oluşumunun inhibisyonuna kolaylık sağladığı düşünülen NAC (106) ve biofilmi inhibe ettiği gösterilen ASA (119)'nın etkilerini destekler yönündeydi.

Biofilmler, olgun biofilm halini aldığı anda özellikle düşük üreme hızı ile birlikte olup, tedavi güçleşmektedir. Dolayısı ile tonsillit ataklarında veya kronik tonsillitte bu ilaç veya ilaçlar antibiyotiklerle kombine edildiğinde atak sayısını azaltarak biofilm üzerinde etkili olabilirler. İnvivo klinik çalışmalar yapılması gerektiği ve buna yönelik daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varıldı. Bu deliller ışığında, NAC ve ASA'nın kronik tonsillitte oluşan mukozal biofilm üzerinde etkili olduğunu düşündüreren kanıtlar elde edildi.

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak NAC ve ASA, invitro olarak kronik tonsillitte oluşan mukozal biofilm üzerine etkili bulundu. Işık mikroskobu ve TEM ile biofilm üzerinde oluşan değişiklikler gösterildi.

Biofilme bağlı gelişen enfeksiyonlarda önce deneysel modeller ve ardından uygun klinik çalışmalar sayesinde, biofilm üzerinde etkili olabilecek tedavi stratejileri geliştirilebilir. Böylece, birçok kronik enfeksiyonda olduğu gibi, kronik tonsillite bağlı erken dönemde oluşabilecek komplikasyonlar engellenebilir veya daha geç ortaya çıkabilir. Tonsil enfeksiyonlarındaki yeni tedavi yöntemlerindeki amaçlardan antibiyotik doz sayısının azaltılması, tedavi süresinin kısaltılması, tedavi maliyetinin düşürülmesi de bu sayede sağlanabilir. Sonuçta, ortaya çıkabilecek iş gücü kayıpları, en aza indirgenebilir.

## ÖZET

### KRONİK TONSİLLİT TEDAVİSİNDE MUKOZAL BİOFİLMİN ÖNEMİ

Kronik tonsillit, çocukluk döneminin ve yetişkinlerin yaygın enfeksiyon hastalıklarından biridir. Bu hastalığın antibiyotik tedavisi başarısız olduğunda sıklıkla tonsillektomi yapılmaktadır. Biofilmin, kronik tonsilite Kulak Burun Boğazın enfeksiyonla ilişkili mukoza kaynaklı dirençli enfeksiyonlarındaki rolü ortaya konmuştur. Biofilmler; otitis mediada, sinüzitte, kolesteatomada, adenoiditte ve cerrahi aletlerin enfeksiyonlarında rol oynarlar. Biofilm hücreleri konak defansına dirençlidirler. Biofilmdeki bakteriler fagositozu önlerler ve ekzopolisakkarid üretimi ile fiziksel bariyer sağlar. Bakterilerin bir araya gelerek oluşturdukları biofilmler polisakkarid matrix yapı ile örtülüdür. Bakteriler, bu yapıyı sentezleyerek yüzeye yapışmaları sağlar. Biofilmler organize olmuş heterojen bakteriyel topluluklarıdır. Biofilm bakterisi ekstrasellüler polimerik madde olarak da bilinen polisakkarid, nükleik asit ve proteinde gömülüdür. Bu çalışmada kronik tonsillitli hastalarda tonsillektomiden sonra tonsil dokularını değerlendirmeyi amaçladık. Tonsil yüzey dokusuna NAC ve ASA invitro uygulandıktan sonra tonsil dokusunun yüzeyindeki bakteriyel mukozal biofilmin histolojik ve ultrastrüktürel yapısı ortaya kondu. Bu çalışmanın amacı genel olarak NAC ve ASA'nın biofilmi nasıl etkilediğini daha iyi anlamaya katkı sağlamaktır ve bununla birlikte ışık mikroskobu ve TEM ile birlikte biofilm morfolojisindeki değişiklikleri gözlemlemektir.

**Anahtar Kelimeler:** Asetilsalisilik Asit (ASA), İnvitro, Kronik Tonsillit, Mukozal Biofilm, N-Asetilsistein (NAC)

## **ABSTRACT**

### **THE IMPORTANCE OF MUCOSAL BIOFILM ON THE TREATMENT OF CHRONIC TONSILLITIS**

Chronic tonsillitis is one of common infectious diseases of childhood and adults. Tonsillectomy is often performed when antibiotic therapy fails to ameliorate this disease. The role of biofilms in the persistence of chronic mucosal-based ear nose and throat(ENT) related infections was recognized in chronic tonsillitis. Biofilms have been shown to play a role in otitis media, sinusitis, cholesteatoma, adenoiditis and surgery device infections. Biofilm cells are resistant to host defenses, since the increased biomass prevents phagocytosis and the exopolysaccharide(EPS) provides a physical barrier to complement, antibody and immune cells. Biofilms are aggregates of bacteria encased in a structured polysaccharide matrix that they synthesize and that attaches the community to a surface. Biofilms are organized, heterogeneous bacterial communities. Biofilm bacteria are embedded in a rich matrix of polysaccharides, nucleic acids, and proteins known as the extracellular polymeric substance (EPS). In this study, we want to evaluate the tonsil tissues removed during tonsillectomy operation with chronic tonsillitis patients, for histological and ultrastructural evidence of bacterial mucosal biofilm on the surface of tonsil tissues after invitro local applied n-acetyl-cysteine (NAC) and acetylsalicylic acid(ASA) on tonsils surface areas. The objective of this study was, in general, to provide to a better understanding of how NAC ve ASA influences biofilm processes and however we observed variable biofilm morphological features with light microscopic (LM) and transmission electron microscope(TEM) .

**Keywords:** Acetylsalicylic Acid (ASA), Chronic Tonsillitis, Invitro, Mucosal Biofilm, N-Acetyl-Cysteine (NAC)

## **7. KAYNAKLAR**

1. Quiding M, Granström G, Nordström I, Ferrua B, Holmgren J, Czerkinsky C. High frequency of spontaneous interferon – gamma - producing cell in human tonsils: Role of local accessory cells and soluble factors. *Clin Exp Immunol* 1993; 91: 157- 63.
2. Birnbaum HG, Morley M, Greenberg PE, Colice GL. Economic burden of respiratory infections in an employed population. *Chest*. 2002 Augst; 122(2): 603-11.
3. Brook I. Failure of penicillin to eradicate group A beta-hemolytic streptococci tonsillitis: causes and management. *J Otolaryngol*. 2001; 30: 324-329.
4. Wiatrak BJ, Woolley AL. Pharyngitis and adenotonsillar disease. In: Cummings CW, Fredrickson JM, Schuller DE, eds. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, ed. 3. Mosby, 1998. p. 188-215.
5. Conley J, Olson ME, Cook LS, Ceri H, Phan V, Davies HD. Biofilm formation by group a streptococci: is there a relationship with treatment failure? *J Clin Microbiol*. 2003 Sep; 41 (9): 4043-8.
6. Macfarlane S, Dillon JF. Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract. *J. Appl. Microbiol*. 102 (5), 1187-1196, 2007.
7. Deneke SM. Thiol-based antioxidants. *Curr Top Cell Regul*. 2000; 36: 151-80.
8. Farber, B. F. and A. G. Wolff. The use of nonsteroidal antiinflammatory drugs to prevent adherence of *Staphylococcus epidermidis* to medical polymers. *J. Infect. Dis*. 166:861-865, 1992.
9. Kaya S. Tonsil. Ankara: Bilimsel Tıp Yayinevi 2005, sayfa no 13-187.
10. Goeringer GC, Vidic B. The embryogenesis and anatomy of Waldeyer's ring. *Otolaryngol Clin North Am* 1987; 20(2): 207-217.
11. Alan D, Kornblut A: Non neoplastic diseases of the tonsils and adenoids. In, Paparella M, Shumrick D. A, Gluckman J. L, Meyerhof WL. *Otorhinolaryngology*. W. B. Saunders Company, 1991; 3: 2129– 2147.
12. Bicknell PG. Role of adenotonsillectomy in the management of pediatric ear, nose and throat infections. *Pediatr Infect Dis J* 1994; 13: 75- 78.
13. Ying MD. Immunological basis of indications for tonsillectomy and adenoidectomy. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1988; 454: 279-285.
14. Ogra PL. Effect of tonsillectomy and adenoidectomy on nasopharyngeal antibody response to polio virus *New England J: Med*, 1971; 284–59.
15. Gray LP The T's and A's problem assesment and reassesment. *J. Laryngol. OtoI*, 1977 ; 91: 11.

16. Cowan DL, Hibbert J. Acute and chronic infection of the pharynx and tonsils, Scott Brown's Otolaryngology, Volume 5, Chapter 4, 6th edition, 1997.
17. Jason B. Surow, Steven D. Handler, Steven A. Telian, Gary R. Fleisher, Christine C. Baranak. Bakterology of Tonsil Surface and Core in Children. Laryngoscope 1989; 99: 261-266.
18. Gorney A J et al. indication for tonsilectomy New Engl. Med 1978; 298– 1318.
19. Beriat G. K, Ezerarslan H, Doğan C, Kocatürk S Nadir Bir Tonsillektomi Endikasyonu: IgA Nefropatisi KBB-Forum 2008; 7 (1) olgu sunumu, Ankara.
20. Beule AG, Hosemann W. Bacterial biofilms Laryngorhinootologie 2007; 86: 886-95.
21. Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms. Trends Microbiol. 2005; 13: 34-40.
22. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis. 2002, 8(9): 881-900.
23. Costerton, J.W. and Stewart, P.S. Biofilms and device-related infections. In Persistent bacterial infections. J.P. Nataro, M.J. Blaser, and S. Cunningham-Rundels, editors. American Society for Microbiology. Washington, 2000, 423–437.
24. <http://www.erc.montana.edu/Res-Lib99-SW/glossary/Graphics/433396.jpg> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi 15.10.2009
25. Walker T S, Tomlin K L, Worthen G S et al. Enhanced Pseudomonas aeruginosa biofilm development mediated by human neutrophils. Infect. Immun. 73 (6), 3693-3701, 2005.
26. D. Davis, Looking for Chinks in the Armor of Bacterial Biofilms Monroe D PLoS Biology Vol. 5, No.11, 2007.
27. Costerton J. W., Stewart P. S., Greenberg E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 1999; 284: 1318–1322.
28. John G.T., Donale C. L. Biofilms: architects of disease. In: Connie R. M., Donald C. L., George M., editors. Textbook of diagnostic microbiology. 3<sup>rd</sup> ed. Saunders 2007; p. 884-95.
29. Marsh PD. Dental plaque. In: Lappin-Scott HM, Costerton J W, eds. Microbial biofilms. Cambridge: Cambridge University Press, 1995; 282-300.
30. Lyczak J B, Cannon C L, Pier G B, Lung infections associated with cystic fibrosis. Clin. Microbiol. 15 (2), 194- 222, 2002.
31. Jones HC, Roth IL, Saunders WM III. Electron microscopic study of a slime layer. J Bacteriol 1969; 99: 316-25.
32. Donabedian H. Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. J Infection 2003; 46: 207-14.
33. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet. 2001; 358: 135-138.



34. F. C. Petersen, L. Tao & A. A. Schele, *Journal of Bacteriology* 187, 4392- 4400, 2005.
35. Shih PC, Huang CT. Effect of quorum-sensing deficiency on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 309-14.
36. <http://bacterially.com/wordpress/wp-content/uploads/2008/05/3.jpg> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi 11.10.2009.
37. Riedel K, Hentzer M, Geisenberger O. N-acylhomoserine lactone mediated communication between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* in mixed biofilms. *Microbiology* 2001; 147: 3249- 62.
38. McDowell P, Affas Z, Reynolds C. Structure, activity and evolution of the group I thiolactone peptides from *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 1997; 24: 895- 904.
39. Redfield R. Is quorum sensing a side effect of diffusion sensing? *Trends Microbiol* 2002; 10: 365- 70.
40. Doğan Y, Bayrakal V, Bahar H, Baskın H. Relation of quorum sensing and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* strains in presence of gentamicin. *Türk Mikrobiyol Cem. Derg* 2007; 37: 134- 7.
41. <http://img.medscape.com/fullsize/migrated/407/570/w1301.05.serrfig.1.jpg&imgrefurl> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi: 23.10.2009.
42. Smith RS, Iglewski BH. *Pseudomonas aeruginosa* quorumsensing systems and virulence. *Curr Opin Microbiol* 2003; 6:56-60.
43. Whitehead N, Barnard A, Slater H, Simpson N. Quorumsensing in gram-negative bacteria. *Fems Microbiol* 2001; 25: 365- 404.
44. Post JC, Hiller NL, Nistico L, Stoodley P, Ehrlich GD. The role of biofilms in otolaryngologic infections: *Curr. Opin. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 15(5), 347- 351, 2007.
45. Davey ME, O'toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol.* 2000 ; 64(4): 847- 67.
46. M. R. Parsek & P. K. Singh, *Annual Reviews in Microbiology* 57, 677- 701, 2003.
47. Stoodley P, Wilson S, Hall Stoodley L, Boyle JD, Lappin-Scott HM, Costerton JW. Growth and detachment of cell clusters from mature mixed-species biofilms. *Appl Environ Microbiol.* 2001; 67: 5608- 5613.
48. Prudhomme M, Attaiech L, Sanchez G, et al. Antibiotic stress induces genetic transformability in the human pathogen *Streptococcus pneumoniae*. *Science* 2006; 313: 89– 92.
49. Cho KH, Caparon MG. Patterns of virulence gene expression differ between biofilm and tissue communities of *Streptococcus pyogenes*. *Mol. Microbiol.* 57(6) , 1545- 1556, 2005.
50. Lynch SA, Robertson TG. Bacterial and fungal biofilm infections. 2008; 59: 415-28.

51. Monzon M, Oteiza C, Leiva J, Amorena B. Synergy of different antibiotic combinations in biofilms of *Staphylococcus epidermidis*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 151.
52. Vogel L, Sloos JH, Spaargaren J, Suiker I, Dijkshoorn. Biofilm production by *Staphylococcus epidermidis* isolates associated with catheter related bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 36: 139.
53. Wilson M. Bacterial biofilms and human disease. *Sci Prog.* 2001; 84: 235- 254.
54. <http://grants.nih.gov/grants/guide/> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi:11.09.2009
55. Chole RA, Faddis BT. Evidence for microbial biofilms in cholesteatomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002; 128: 1129-1133.
56. Perloff JR, Palmer JN. Evidence of bacterial biofilms in a rabbit model of sinusitis. *Am J Rhinol.* 2005; 19:1-6.
57. [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus aureus biofilm 01.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_biofilm_01.jpg) adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi: 11.09.2009
58. Rather PN. Swarmer cell differentiation in *Proteus mirabilis*. *Environ Microbiol* 2005; 7: 1065- 73.
59. Akiyama H, Oono T, Huh WK et al. Actions of gluco–oligosaccharide against *Staphylococcus aureus*. *J. Dermatol.* 29(9), 580- 586, 2002.
60. Swidinski A, Weber J, Loening-Bauske V, Hale LP, Lochs H. Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J. Clin. Microbiol.* 43(7), 3380- 3389, 2005.
61. William Costerton, Richard Veeh, Mark Shirtliff, Mark Pasmore, Christopher Post and Garth Ehrlich The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infection. *J. Clin. Invest.* 112(10): 1466-1477, 2003.
62. Redding SW, Kirkpatrick WR, Coco BJ et al. *Candida glabrata* oropharyngeal candidiasis in patients receiving radiation treatment for head and neck cancer. *J. Clin. Microbiol.* 40(5), 1879-1881, 2002.
63. Selan, *American Journal of Ophthalmology* in which they explored the impact of phosphorylcholine on the ability of biofilm to form on poly lenses, 2009.
64. Ehrlich GD, Veeh R, Wang X et al. Mucosal biofilm formation on middle ear mucosa in the Chinchilla model of otitis media. *JAMA* 287 (13), 1710- 1715, 2007.
65. Hong W, Mason K, Jurcisek J, Novotny L, Bakaletz LO, Swords WE. Phosphorylcholine decreases early inflammation and promotes the establishment of stable biofilm communities of nontypeable *Haemophilus influenzae* strain 86-028 NP in a chinchilla model of otitis media . *Infect. Immun.* 75(2), 958- 965, 2007.

66. Hall –Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle –ear mucosa of children with chronic otitis media . *JAMA* 296(2), 202-211, 2006.
67. Mc Laughlin RA, Hoogewerf AJ. Interleukin-1 beta–induced growth enhancement of *Staphylococcus aureus* occurs in biofilm but not planktonic cultures. *Microb. Pathol.* 41 (2-3), 67-79, 2006.
68. Akiyama H, Morizane S, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K. Assessment of *Streptococcus pyogenes* microcolony formation in infected skin by confocal laser scanning microscopy. *J. Dermatol. Sci.* 32(3), 193- 199, 2003.
69. Free RH, Busscher HJ, Elving GJ, van der Mei HC, van Weissenbruch R, Albers FW. Biofilm formation on voice prostheses: in vitro influence of probiotics. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2001; 110: 946- 951.
70. Saidi IS, Biedlingmaier JF, Whelan P. In vivo resistance to bacterial biofilm formation on tympanostomy tubes as a function of tube material. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1999; 120: 621- 627.
71. Darouiche RO. Device-associated infections. *Healthcare Epidemiol.* 2001; 33: 1567-1572.
72. Nett J, Andes D. *Candida albicans* biofilm development , modeling a host-pathogen interaction. *Curr. Opin. Microbiol.* 9(4), 340- 345, 2006.
73. Strathmann M, Wingender J, Flemming HC, Application of fluorescently labelled lectins for the visualization and biochemical characterization of polysaccharides in biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Microbiol. Methods* 50(3), 237- 248, 2002.
74. Jesaitis AJ, Franklin M, Berglund D et al. Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: characterization of neutrophil and biofilm interactions. *J. Immunol.* 171(8), 4329- 4339, 2003.
75. Martinez LR, Casadevall A, Specific antibody can prevent fungal biofilm formation and this effect correlates with protective efficacy. *Infect . Immun.* 73(10), 6350- 6362, 2005.
76. Al-Fattani MA, Douglas LJ. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance . *J. Med. Microbiol.* 55(8), 999- 1008, 2006.
77. Geesey GG, Richardson WT, Yeomans HG, Irvin RT, Costerton JW. Microscopic examination of natural sessile bacterial populations from an alpine stream. *Can J Microbiol.* 1977; 23: 1733- 1736.
78. Taylor C. Bacteriology of fresh water. I. Distribution of bacteria in English lakes. *J. Hyg. Canab.* 40, 616, 1940.

79. La Fleur MD, Kumamoto CA, Lewis K. *Candida albicans* biofilms produce antifungal-tolerant persister cells. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50(11), 3839- 3846, 2006
80. [http://carambola.usc.edu/research/biophysics/Biofilms4Web\\_files/image002.jpg](http://carambola.usc.edu/research/biophysics/Biofilms4Web_files/image002.jpg) adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi: 23.10.2009
81. Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science.* 1999; 283: 1837- 1839.
82. Post JC. Direct evidence of bacterial biofilms in otitis media. *Laryngoscope.* 2001; 111: 2083- 2094.
83. Rayner MG, Zhang Y, Gorry MC, Chen Y, Post JC, Ehrlich GD. Evidence of bacterial metabolic activity in culture-negative otitis media with effusion. *JAMA.* 1998; 279: 296- 299.
84. Coticchia J, Zuliani G, Coleman C et al. Biofilm surface area in the pediatric nasopharynx: chronic rhinosinusitis vs obstructive sleep apnea. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 133(2), 110-114, 2007.
85. Wang EW, Jung JY, Pashia ME, et al. Otopathogenic *Pseudomonas aeruginosa* strains as competent biofilm formers. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 131: 983– 989.
86. Swidsinski A, Göktaş O, Bessler C, et al. Spatial organisation of microbiota in Quiescent adenoiditis and tonsillitis. *J Clin Pathol* 2007; 60: 253- 60.
87. Stenfors LE, Raisanen S. Attachment of bacteria to tonsillar epithelium during acute tonsillitis. *J Laryngol Otol.* 1991; 105: 29-32.
88. Chole RA, Faddis BT Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003; 129 (6): 634-6.
89. <http://woundsresearch.com/davisbouzarifig1.gif> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi: 18.10.2009
90. Zhi Wang, MD; Raju Polavaram, MD; Cesar F. Fuentes, MD; Stanley M. Shapshay, MD Topical Chemoprevention of Oral Cancer With Tretinoin “Biofilm”*Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003; 129: 869-873.
91. Altınbaş U, Öztürk I. Comparison of intermittenly aerated continuous and batch biofilm reactor in nutrient removal. *Water Sci Tevhnl.* 2003; 48(11-12): 371-6.
92. Lawrence JR, Korber DR, Hoyle BD, Costerton JW, Caldwell DE. Optical sectioning of microbial biofilms. *J Bacteriol.* 1991 Oct; 173(20): 6558-67.
93. Hall –Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A et al .Direct detection of bacterial biofilms on the middle –ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA* 296(2), 202-211 ,2006.
94. Collins, VG. Planktonic Bacteria *J . gen. Microbiol.* 16, 268-272, 1957.
95. Jurcisek JA, Bakaletz LO. Biofilms formed by nontypeable *Haemophilus influenzae* in vivo contain both double-stranded DNA and type IV pilin protein. *J Bacteriol* 2007; 189: 3868– 3875.

- 96.** Mah TFC, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol* 2001; 9:34- 9.
- 97.** Russel AD. Bacterial adaption and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *J Hosp Infect* 2004; 57: 97-104.
- 98.** <http://www.cityallergy.com/images/Biofilm.jpg&imgrefurl> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi: 23.10.2009
- 99.** Drenkard E. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes Infect* 2003; 5: 1213-9
- 100.** Foley I, Marsh P, Wellington EM, Smth AW, Brown MR. General stres response master regulator *rpoS* is expressed in human infection: a possible rolein chronicity. *Antimicrob Chemother* 1999; 43: 164-5.
- 101.** Drenkard E. Ausubel FM. *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature* 2002; 740-3.
- 102.** Di Bonaventura G, Spedicato I, D'Antonio D, Robuffo I, Piccolomini R. Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: modulation by quinolones, trimethoprim-sulfamethoxazole and ceftazidime. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 151- 60.
- 103.** Davies DG, Geesey GG. Regulation of the alginate biosynthesis gene *algC* in *Pseudomonas aeruginosa* during biofilmdevelopment in continuous culture. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 860-7.
- 104.** Yassien M, Khardori N. Interaction between biofilms formed by *Staphylococcus epidermidis* and quinolones. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001; 40: 79.
- 105.** De Flora S, Izzotti A, D'Agostini F, Balansky RM. Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking-related end-points. *Carcinogen*. 2001 Jul; 22 (7): 999- 1013.
- 106.** Stey, C. J. Steurer, S. Bachmann, T.C. Medici, and M.R. Tramer. The effect of oral N-acetylcysteine in chronic bronchitis: a quantitative systematic . *Eur.Respir. J.* 16:253- 262, 2000.
- 107.** Gillissen A, NNowak D. Characterization of N-acetylcysteine and ambroxol in anti-oxidant therapy. *Respir Med.* 1998 Apr; 92 (4): 609-23.
- 108.** Sciuto AM, Hurt HH. Therapeutic treatments of phosgene-induced lung injury. *Inhal Toxicol.* 2004 Jul; 16 (8): 565-80.
- 109.** Rahman I, Mac Nee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J.* 2000; 16 (3): 534- 54.
- 110.** Anderson ME, Luo JL Glutathione therapy: from prodrugs to genes. *Semin Liver Dis.* 1998; 18 (4): 415-24.

- 111.** G.C.L Qvarfordt, S. Larsson V.Eliasson and B. A.Andersson. Inhibitory effect of N-acetylcysteine on adherence of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to human oropharyngeal epithelial cells invitro. *Respiration* 67:552- 558, 2000.
- 112.** Zheng, C. H, K.Ahmed, N. Rikitomi, G. Martinez, and T. Nagatake. The effects of S-carboxymethylcysteine and N-acetylcysteine on the adherence of *Moraxella catarrhalis* to human pharyngeal epithelial cells. *Microbiol. Immunol.* 43:107-111, 1999.
- 113.** Perez-Giraldo, C. A Rodriguez-Benito, F. J. Moran, C. Hurtado, M.T. Blanco and A.C. Gomez-Garcia. Influence of N-acetylcysteine on the formation of biofilm by *Staphylococcus epidermidis*, 1997.
- 114.** <http://tr.wikipedia.org/wiki/Dosya:Aspirin-skeletal.svg> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi: 01.10.2009
- 115.** Wu KK. Aspirin and salicylate: An old remedy with a new twist. *Circulation.* 2000; 102(17): 2022- 2023.
- 116.** Dannhardt, G., and W. Kiefer. Cyclooxygenase inhibitörs –current status and future prospects. *Eur. J. Med. Chem.* 36; 109- 126, 2001.
- 117.** <http://courses.chem.psu.edu> adlı siteden alınmıştır. Erişim tarihi: 02.10.2009
- 118.** Witken, S. S. J. Jeremias, and W. J. Ledger. A localized vaginal allergic response in women with recurrent vaginitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*81:412–416, 1988.
- 119.** Muller, E. J. Al-Attar, A. G. Wolff, and B. F. Farber. Mechanism of salicylate-mediated inhibition of biofilm in *Staphylococcus epidermidis*. *J. Infect. Dis.* 177:501-503, 1998.
- 120.** Mohammed A. S. Alem and L. Julia Douglas Effects of Aspirin and Other Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs on Biofilms and Planktonic Cells of *Candida albicans* antimicrobial agents and chemotherapy,2004, p. 41–47.
- 121.** J Mills, L Pulliam, L Dall, J Marzouk, W Wilson, and J W Costerton Exopolysaccharide production by viridans streptococci in experimental endocarditis. *Infect Immun.* 1984; 43(1): 359–367.
- 122.** Gridley M. F. *Manual of Histologic and Special Staining Technics*, New york,Toronto, second edition, mcraw-hill book company,inc 132-133, 1990.
- 23.** Bothwell MR, Smith AL, Phillips T.Recalcitrant otorrhea due to *Pseudomonas* biofilm. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003 Nov;129 (5): 599-60.
- 124.** Biedlingmaier J F, Samaranayake R, Whelan P. Resistance to biofilm formation on otologic implant materials. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998 Apr;118(4):444-51.
- 125.** Çiftçi Z. Kronik tonsillitte biofilmin rolü. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi KBB Kliniği Uzmanlık tezi, 69 sayfa, İstanbul ( Doç. Dr. Mehmet Külekçi), 2005.

- 126.** Jansen AM, Lockett V, Johnson DE, Mobley HL. Mannose-resistant *Proteus*-like fimbriae are produced by most *Proteus mirabilis* strains infecting the urinary tract, dictate the *in vivo* localization of bacteria, and contribute to biofilm formation. *Infect. Immun* 72(12),7294-7305, 2004.
- 127.** G. Ramage, K. Tomsett, B. Wickes, J. López-Ribot, S. Redding Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, Volume 98, Issue 1, Pages 53-59, 2007.
- 128.** Saima Aslam, Barbara W. Trautner, Venkat Ramanathan, and Rabih O. Darouiche. Combination of Tigecycline and N-Acetylcysteine Reduces Biofilm-Embedded Bacteria on Vascular Catheters. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Apr. 2007, p. 1556–1558.
- 129.** Schwandt, L. Q., R. Van Weissenbruch, I. Stokroos, H. C. Van der Mei, H. J. Busscher, and F. W. Albers. Prevention of biofilm formation by dairy products and N-acetylcysteine on voice prostheses in an artificial throat. *Acta Otolaryngol.* 124:726–731, 2004.
- 130.** Farber BF, Hsieh HC, Donnenfeld ED, Perry HD, Epstein A, Wolff A. A novel antibiofilm technology for contact lens solutions, *Ophthalmology*. 1995; 102(5): 831-836.
- 131.** Teichberg, S. Farber, B. F., Wolff, A. G. & Roberts, B. Salicylic acid decreases extracellular biofilm production by *Staphylococcus epidermidis*: electron microscopic analysis. *Journal of Infectious Diseases* 167, 1501–3, 1993.

## 8.EKLER

### Ek 1. Hasta Değerlendirme Formu rneği

<b>A. KİMLİK VE ADRES BİLGİLERİ:</b>				
a-Adı, Soyadı:		b-Doğum Yeri ve Yılı:		
c-İletişim Adresi ve/veya Telefonu:				
<b>B-HASTAYA AİT FİZİK MUAYENE VE LABORATUVAR BULGULARI:</b>				
1.Ateş:	2.Nabız:	3.TA:	4.Solunum Sayısı:	
5. Hb:	Htc:	BK:	KK:	Trombosit:
6.Boğaz Ağrısı:.....	Yutma Zorluğu:.....	Uyku Apnesi:.....		
<b>C-Tonsillektomi Endikasyonu:</b>				
<b>D-Postoperatif Öyküsü:</b>				
a-Kanama:				
b-Enfeksiyon:				
c-Diğer:				
E-Hastanın diğer bir KBB hastalığı varsa:.....				
F-Hastanın diğer bir sistemik hastalığı varsa:.....				
G-Daha önce geçirilmiş ameliyat öyküsü :.....				Yılı:.....

Formu Hazırlayan: Dr. Fuat BULUT, D.Ü.T.F. K.B.B. A.D.



## Ek 2. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu Örneği

### ***Değerli hastamız;***

*Gerek çocuklarda, gerekse erişkinlerde üst solunum yolu enfeksiyonları arasında ilk sırayı akut tonsillit (bademcik iltihabı) almaktadır.*

*Bademcik iltihabı, böbrek hastalıklarına ve kalp hastalıklarına yol açan, hastanın günlük aktivitesini kısıtlayan önemli bir sağlık problemidir.*

*Kronik tonsilitte medikal tedaviye yanıtızlıkta biofilm oluşumu teorisi de öne sürülmüştür. Son yıllarda yapılan klinik araştırmalar biofilmin uzun süreli, ilaç tedavisine dirençli bademcik enfeksiyonlarında önemli bir rolü olduğunu ortaya koymuştur.*

*Bu araştırmadaki amacımız kronik tonsilitli hastalarda oluşan biofilmi ve bu biofilm üzerine etkili olabilecek çeşitli ilaçların oluşturduğu etkileri ortaya koymaktır..*

*Bu çalışma sonucunda elde edilecek bulgular ve biofilme oluşan değişiklikler anlamlı olduğu takdirde, kronik tonsilitte oluşan biofilme karşı tedavi protokolünün yeniden gözden geçirilmesini sağlayacaktır.*

*Sizden veya hastanızdan cerrahi sırasında alınan bademcik dokusunun çalışmamızda bu amaçla kullanılması onayınızla yapılacaktır.*

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi KBB Kliniği'nde Tonsillektomi yapılan aşağıda adı, soyadı, adresi ve telefon no'su yazılı hasta, çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve bu çalışmada kullanılmak üzere tonsil doku örneğinin alınmasını kabul ederek bunu imzası ile tasdik etmiştir.

HASTANIN:

Adı soyadı:

Adresi:

Telefon no:

Tarih:

İmza:

ŞAHİTİN:

Adı Soyadı:

Adresi:

Telefon No:

Tarih:

İmza:

Formu Hazırlayan: Dr. Fuat BULUT, D.Ü.T.F. K.B.B. A.D.

