

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, PROTEUS MIRABILIS
VE CANDIDA ALBICANS SUŞLARININ TANIMLANMASI,
ANTİMİKROBİYAL AJANLARA KARŞI
DİRENÇLİLİKLERİNİN VE OLUŞTURDUKLARI
BİYOFİMLERİN ARAŞTIRILMASI

IDENTIFICATION OF *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS,*
***PROTEUS MIRABILIS* AND *CANDIDA ALBICANS* STRAINS,**
INVESTIGATION OF THEIR ANTIMICROBIAL AGENT
RESISTANCE AND BIOFILM FORMATION

GÜLCAN ÖZBAKIR

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmenliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....
Prof. Dr. Güven URAZ

Üye (Danışman) :.....
Öğr. Gör. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY

Üye :.....
Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ

Üye :.....
Prof. Dr. Reyhan ÖNER

Üye :.....
Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 21 / 06 /2011 tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Adil DENİZLİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

CANIM AİLEME...

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS, PROTEUS MIRABILIS VE CANDIDA ALBICANS SUŞLARININ TANIMLANMASI, ANTİMİKROBİYAL AJANLARA KARŞI DİRENÇLİLİKLERİNİN VE OLUŞTURDUKLARI BİYOFİMLERİN ARAŞTIRILMASI

Gülcan Özbakır

ÖZ

Mikroorganizmaların antimikrobiyal dirençliliklerinde rol oynayan en önemli mekanizmalardan biri biyofilm oluşumudur. Bu yapı antimikrobiyal ajanın mikroorganizmalara olan erişiminde azalmaya neden olmakta ve mikroorganizmaların genetik olarak antimikrobiyal direnç kazanmalarını sağlamaktadır. Bu bağlamda biyofilm ilişkili enfeksiyonlar, tekrarlayan ve tedavisi zor olan enfeksiyonlar olup, başlamadan önlenmeyi gerektirmektedir.

Bu çalışmada, Ankara'daki bir hastanenin farklı servis ve klinik materyallerinden izole edilen *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının; klinik verilere göre dağılımlarının araştırılması, antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlilikleri ile biyofilm oluşumlarının belirlenmesi, bu özelliklerin birbirleriyle karşılaştırılması ve söz konusu farklı türlerin bir arada bulunmaları sonucunda gelişen biyofilm miktarının incelenmesi amaçlandı. Bu amaçla fenotipik olarak tanımlanan tüm suşların servislere, klinik materyallere, yaşa ve cinsiyete göre dağılımları, antibiyotik duyarlılıkları, antibiyotik profilleri, biyofilm oluşumları ve karışık kültürlerin biyofilm oluşumuna olan etkileri belirlendi. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, *S. epidermidis* suşlarının 11 antibiyotiğe karşı 16 antibiyotip sergiledikleri gözlemlendi ve bu suşların en yüksek sıklıkta; hastanedeki servis üniteleri içerisinde Kalp Damar Cerrahisi ünitesinden, örnekleme yeri açısından Yara Yeri'nden, değişik yaş grupları bakımından 31-60 yaş arası hastalardan ve cinsiyet olarak ise; erkeklerden izole edildikleri belirlendi. Bu suşlar tarafından; 2 farklı antibiyotiğe karşı dirençli ANT3 ve ANT4 antibiyotipleri ile sırasıyla 3 ve 6 farklı antibiyotiğe karşı dirençli ANT5 ve ANT9 antibiyotipleri en yüksek sıklıktaki antibiyotip profilleriydi. İlave olarak, 7 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren *S. epidermidis* suşları oranı en yüksek değerdedi (%20) ve 9 farklı antibiyotiğe direnç gösteren *S. epidermidis* (Se9) suşunun; bütün *S. epidermidis* suşları

içerisinde en fazla biyofilm oluşturan suş olduğu gözlemlendi. Yüksek biyofilm oluşturan diğer *S. epidermidis* suşlarının da; çoklu antibiyotik direnci sergiledikleri ve en sık Kan kültüründen izole edilmiş oldukları gözlemlendi. *P. mirabilis* suşlarının 15 antibiyotiğe karşı 8 antibiyotip sergiledikleri gözlemlendi ve bu suşların en yüksek sıklıkta; hastanedeki servis üniteleri içerisinde Acil Pediatri ünitesinden, örnekleme yeri açısından İdrar'dan, değişik yaş grupları bakımından 0-15 yaş arası hastalardan ve cinsiyet olarak ise erkeklerden izole edildikleri belirlendi. 2 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren *P. mirabilis* suşları oranı en yüksek değerdeydi (%33) ve bu suşların; Klindamisin (CC) ile Nitrofurantoin (F) antibiyotiklerine karşı direnç gösteren ANT2 profilinde oldukları gözlemlendi. 7 farklı antibiyotiğe karşı direnç gösteren *P. mirabilis* (Pm15) suşunun; bütün *P. mirabilis* suşları arasında maksimum miktarda biyofilm oluşturan suş olduğu gözlemlendi ve yüksek biyofilm oluşturan diğer *P. mirabilis* suşlarının da, çoğunun çoklu antibiyotik direnci sergilediği saptandı. *C. albicans* suşlarının 6 antifungale karşı 7 antibiyotip sergiledikleri gözlemlendi ve bu suşların en yüksek sıklıkta; hastanedeki servis üniteleri içerisinde Kadın Hastalıkları ve Doğum ünitesinden, örnekleme yeri açısından Vajina'dan, değişik yaş grupları bakımından 31-45 yaş arası hastalardan ve cinsiyet olarak ise; kadınlardan izole edilmiş oldukları belirlendi. Antifungallerden 6'sına birden duyarlı *C. albicans* suşları oranı en yüksek değerdeydi (%83.3) ve bu suşların ANT1 profiline sahip oldukları gözlemlendi. 3 farklı antifungale karşı direnç gösteren *C. albicans* (Ca8) suşunun; bütün *C. albicans* suşları arasında maksimum miktarda biyofilm oluşturan suş olduğu gözlemlendi. İlave olarak bu suş, çalışmada kullanılan türler arasında da en yüksek biyofilm oluşturan suş olmakla beraber; enfekte ettiği Yoğun Bakım ünitesi hastasının mortalitesine sebebiyet vermiştir. *S. epidermidis* ile *P. mirabilis* türlerinin ortak kolonizasyonları biyofilm oluşumundaki artış ile sonuçlandı; ancak *C. albicans*'ın tek başına oluşturduğu biyofilm miktarının, diğer suşlarla beraberken oluşan miktardan daha fazla olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, Antibiyotik Dirençliliği, Biyofilm Oluşumu.

Danışman: Öğr. Gör. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı.

IDENTIFICATION OF *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, *PROTEUS MIRABILIS* AND *CANDIDA ALBICANS* STRAINS, INVESTIGATION OF THEIR ANTIMICROBIAL AGENT RESISTANCE AND BIOFILM FORMATION

Gülcan Özbakır

ABSTRACT

One of the most important mechanisms having a role in antimicrobial resistance of microorganisms is biofilm formation. This structure causes the reducing of antimicrobial agent penetration into microorganisms and the acquiring of antimicrobial resistance genetically. In this regard, biofilm-related infections are repetitive, refractory and should be prevented before start.

In this research, the aim was to investigate the incidences according to clinical data, determine the antimicrobial agent resistance and biofilm formation of *S. epidermidis*, *P. mirabilis* and *C. albicans* strains isolated from different services and clinical materials of a hospital located in Ankara; comparison of these features with each other and investigation of the amount of biofilm formed as a result of different species' combination. With this aim, distribution of phenotypically identified strains among services, clinical materials, age and gender; antibiotic sensitivity, antibiotic profiles, biofilm formations and the effect of mixed cultures on biofilm formation have been determined. When the results are analysed, *S. epidermidis* strains have been observed to display 16 antibiotypes against 11 antibiotics and these strains were determined to be isolated most frequently from Cardiovascular Surgery unit among different services in the hospital, Wound samples among various sampling regions, between ages of 31-60 among different age categories and males from gender point of view. Antibiotypes of ANT3 and ANT4, which are resistant to 2 different antibiotics and antibiotypes of ANT5 and ANT9, which are resistant to 3 and 6 different antibiotics respectively were the most frequent antibiotype profiles. In addition, the percentage of *S. epidermidis* strains displaying resistance to 7 different antibiotics was the highest (20%) and the *S. epidermidis* strain (Se9), which was resistant to 9 different antibiotics, has been observed as the maximum biofilm-forming strain among all the other *S. epidermidis* strains. The other high level biofilm-forming *S. epidermidis* strains have also been seen to be multi-resistant and isolated mostly from blood.

P. mirabilis strains have been observed to display 8 antibiotypes against 15 antibiotics and these strains were determined to be isolated most frequently from Pediatric Emergency unit among different services in the hospital, Urine among various samples, between ages of 0-15 among different age categories and males from gender point of view. The percentage of *P. mirabilis* strains displaying resistance to 2 different antibiotics was the highest (33%) and these strains have been observed to be in ANT2 profile, which displays resistance to antibiotics of Clindamycin (CC) and Nitrofurantoin (F). The *P. mirabilis* strain (Pm15) which was resistant to 7 different antibiotics has been observed as the maximum biofilm-forming strain among all the other *P. mirabilis* strains and the other high level biofilm-forming *P. mirabilis* strains were also determined to be multi-resistant. *C. albicans* strains have been observed to display 7 antibiotypes against 6 antifungals and these strains were determined to be isolated most frequently from Obstetrics and Gynecology unit among different services in the hospital, Vagina among various sampling regions, between ages of 31–45 among different age categories and females from gender point of view. The percentage of *C. albicans* strains displaying sensitivity to all 6 antifungals was the highest (83.3%) and these strains have been observed to be in ANT1 profile. The *C. albicans* strain (Ca8), which was resistant to 3 different antifungals, has been observed as the maximum biofilm-forming strain among all the other *C. albicans* strains. In addition, this strain is the most biofilm-forming one among all the other species studied in this study and caused the mortality of the Intensive Care unit patient whom it infected. Colonization of *S. epidermidis* and *P. mirabilis* strains together in the media, caused an increase in biofilm formation; however, the amount of biofilm that was formed by *C. albicans* has been observed to be more than the amount of biofilm formed by the mix culture.

Key Words: *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, Antibiotic Resistance, Biofilm Formation.

Advisor: Instructor Dr. Işıl SEYİS BİLKAY, Hacettepe University, Faculty of Science, Biology Department, Biotechnology Section.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca; ilgisini, desteğini, sevgisini ve sonsuz anlayışını benden hiç bir zaman esirgemedi her an yanımda olan, engin bilgisi ve deneyimleri ile bütün çalışmalarımı ışık tutan, çok değerli hocam ve tez danışmanım Öğr. Gör. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY'a;

Çalışmalarım boyunca desteğini benden esirgemedi bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan, çok değerli hocam Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ'e;

Çalışmalarımda incelenen suşların elde edilmesine olanak sağlayan ve desteğini benden hiç bir zaman esirgemeyen, çok değerli hocam Doç. Dr. Abbas TANER'e;

Tez çalışmalarım boyunca sonsuz sevgileri ve anlayışlarıyla her zaman yanımda olan, karşılaştığım her zorlukta beni yüreklendiren çok sevgili oda arkadaşlarım Araş. Gör. Sezen BİLEN ÖZYÜREK'e ve Araş. Gör. Sinem DİKEN GÜR'e;

Tez çalışmalarım boyunca özenle çektiği resimler ile tezimi renklendiren sevgili arkadaşım Araş. Gör. Doruk ARACAGÖK'e ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olduklarını hissettiren sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Neslihan İDİL'e, Araş. Gör. Demet ERDÖNMEZ'e ve Araş. Gör. Hande AVCIOĞLU'na;

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca sonsuz sevgilerini benden hiç bir zaman esirgemeyerek karşılaştığım her durumda yanımda olan, çok sevgili dostlarım Araş. Gör. Şeküre ÇULHA'ya ve Araş. Gör. G. Hanife DÖNMEZ'e;

Hayatımın her anında varlıklarıyla bana kendimi şanslı hissettiren, sonsuz sevgi ve anlayışlarını benden hiç bir zaman esirgemeyen ve tüm öğrenim hayatım boyunca sonsuz güvenleriyle beni yüreklendiren birtanecik annem Nermin ÖZBAKIR'a ve canım babam Metin ÖZBAKIR'a; hayatım boyunca aldığım bütün kararlarda içtenlikle yanımda olan, dünyalardan çok sevdiğim ağabeyim Mertcan ÖZBAKIR'a;

Varlığıyla hayatımı eşsiz yapan, sevgisi ve desteğiyle yüreğimi ısıtan, sonsuz güven ve anlayışını benden hiç bir zaman esirgemeyerek atacağım her adımda yolumu aydınlatan, çok sevgili ve değerli hayat arkadaşım Serkan ŞAHAL'a;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	5
2.1. Biyofilmler.....	5
2.2. Biyofilmlerin Yapısı ve Bileşenleri.....	6
2.2.1. Yüzey.....	6
2.2.2. Mikroorganizma.....	7
2.2.3. EPS (Ekstraselüler Polimerik Materyal).....	7
2.2.4. Diğer Elemanlar.....	8
2.3. Biyofilmlerin Oluşum Aşamaları.....	9
2.3.1. Yüzey Değişimi.....	9
2.3.2. Adhezyon.....	10
2.3.3. Ekstraselüler Polimerik Materyal (EPS) Sentezi.....	13
2.3.4. Kolonizasyon.....	15
2.3.5. Kopma.....	15
2.4. Biyofilm Oluşumlarında Quorum Sensing (Çoğunluğu Algılama) Mekanizması.....	17
2.4.1. Quorum Sensing (Çoğunluğu Algılama) Mekanizmasında Kullanılan Sinyal Molekülleri.....	18
2.4.2. Bakterilerde Quorum sensing.....	20

2.4.3. Mantarlarda Quorum sensing.....	20
2.5. Biyofilmlerin Önemi.....	21
2.6. Antibiyotik Dirençliliğinde Biyofilm Oluşumunun Yeri.....	22
2.7. Biyofilm Oluşturan ve Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar.....	25
2.7.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	25
2.7.1.1. <i>S. epidermidis</i> Suşlarının Morfolojileri ve Kültür Özellikleri.....	25
2.7.1.2. <i>S. epidermidis</i> Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri.....	26
2.7.1.3. <i>S. epidermidis</i> Suşlarının Virülans Faktörleri.....	27
2.7.1.4. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Enfeksiyonları.....	29
2.7.2. <i>Proteus mirabilis</i>	30
2.7.2.1. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Morfolojileri ve Kültür Özellikleri.....	30
2.7.2.2. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri.....	31
2.7.2.3. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Virülans Faktörleri.....	31
2.7.2.4. <i>Proteus mirabilis</i> Enfeksiyonları.....	34
2.7.3. <i>Candida albicans</i>	35
2.7.3.1. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Morfolojileri ve Kültürasyon Özellikleri.....	35
2.7.3.2. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri.....	36
2.7.3.3. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Virülans Faktörleri.....	36
2.7.3.4. <i>Candida albicans</i> Enfeksiyonları.....	41
3. LABORATUAR ÇALIŞMALARI VE YÖNTEMLERİ.....	43
3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar.....	43
3.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarının Tanımlanması.....	43
3.2.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarının Koloni Morfolojisinin İncelenmesi.....	43
3.2.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarının Gram Boyama Yöntemi ile Mikroskopik Olarak İncelenmesi.....	44
3.2.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarının Tanımlanmasında Uygulanan Diğer Biyokimyasal Testler.....	45

3.2.3.1. Deoksiribonükleaz Testi.....	45
3.2.3.2. Koagülaz Testi.....	46
3.2.3.3. Katalaz Testi.....	46
3.2.3.4. Mannitol Fermentasyonu Testi.....	47
3.2.4. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarında Novobiyosin Duyarlılığı.....	47
3.3. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Tanımlanması.....	48
3.3.1. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Koloni Morfolojisinin İncelenmesi.....	49
3.3.2. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Gram Boyama Yöntemi ile Mikroskopik Olarak İncelenmesi.....	49
3.3.3. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Tanımlanmasında Uygulanan Diğer Biyokimyasal Testler.....	50
3.3.3.1. İndol Testi.....	50
3.3.3.2. Metil Kırmızısı Testi.....	51
3.3.3.3. Sitrat Testi.....	51
3.3.3.4. TSI (Tripple Sugar Iron – Üç Demirli Şeker) Testi.....	52
3.3.3.5. Üre Hidrolizi Testi.....	53
3.3.3.6. Laktoz Testi.....	54
3.4. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Tanımlanması.....	55
3.4.1. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Koloni Morfolojisinin İncelenmesi.....	55
3.4.2. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Metilen Mavisini Boyama Yöntemi ile Mikroskopik Olarak İncelenmesi.....	55
3.4.3. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Chromogenic Agar Üzerinde Tanımlanması.....	56
3.4.4. <i>Candida albicans</i> Suşlarında Germ Tüp Testi.....	57
3.5. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	57
3.6. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının Farklı Servislere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	58
3.7. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	58

3.8. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	58
3.9. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında Antimikrobiyal Duyarlılık Deneşleri.....	59
3.9.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Hesaplanması.....	62
3.9.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında Antibiyotiplerin Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması.....	62
3.9.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Türlerinde, Çoklu Direnç Oranlarının Hesaplanması.....	62
3.10. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumu.....	63
3.10.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında “Plak Üzerinde Kristal Viyole Boyamalı Biyofilm Ölçüm Tekniğı” ile Biyofilm Tayini.....	63
3.11. <i>S. epidermidis</i> , <i>P. mirabilis</i> ve <i>C. albicans</i> Suşlarının, Bir Arada Bulunmaları Durumunda Biyofilm Oluşumu Tayini.....	66
4. SONUÇLAR.....	67
4.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar.....	67
4.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Türlerine Ait Suşların Teşhis Edilmesi.....	67
4.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	72
4.4. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının Farklı Servislere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	74
4.5. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının, İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	77
4.6. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi.....	79
4.7. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Belirlenmesi.....	81

4.8. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında Antibiyotiplerin Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması.....	83
4.9. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Türlerinde, Çoklu Antimikrobiyal Dirence Sahip Olan Suşların Belirlenmesi.....	88
4.10. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumu.....	89
4.10.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi.....	90
4.10.2. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi.....	91
4.10.3. <i>Candida albicans</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi.....	92
4.11. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının Biyofilm Oluşumlarıyla, Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Dirençliliklerinin Karşılaştırılması.....	94
4.12. <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Candida albicans</i> Suşlarının, Bir Arada Bulunmaları Durumunda Biyofilm Oluşumu Tayini.....	98
5. TARTIŞMA.....	101
6. KAYNAKLAR.....	132
ÖZGEÇMİŞ.....	169

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Biyofilmlerin oluşum aşamaları.....	9
Şekil 2.2. a; Biyofilm oluşturan mikroorganizmaların, yüzey alanda sabit kalmaları b; Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda hareket organellerinin yitirilmesi.....	11
Şekil 2.3. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda, yüzeye sabitleyici organellerin gelişimi ve EPS sentezi başlangıcı.....	12
Şekil 2.4. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda, EPS içerikli matriks oluşumu.....	14
Şekil 2.5. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda, mikrokoloniler arası kanal varlığı.....	15
Şekil 2.6. Mikroorganizmaların biyofilm tabakasını terk etmesi.....	16
Şekil 2.7. <i>C. albicans</i> türünde; hücre tipine bağlı koloni morfolojisi.....	36
Şekil 3.1. <i>S. epidermidis</i> türünün Kanlı Agar'daki koloni morfolojisi.....	44
Şekil 3.2. <i>S. epidermidis</i> türünün mikroskopik görüntüsü.....	45
Şekil 3.3. DNaz testi sonuçları.....	45
Şekil 3.4. Koagülaz testi sonuçları.....	46
Şekil 3.5. Katalaz testi sonuçları.....	46
Şekil 3.6. Mannitol fermentasyonu testi sonuçları.....	47
Şekil 3.7. <i>S. epidermidis</i> türünde Novobiyosin duyarlılığı.....	48
Şekil 3.8. <i>P. mirabilis</i> türünde koloni morfolojisi.....	49
Şekil 3.9. <i>P. mirabilis</i> türünün mikroskopik görüntüsü.....	49
Şekil 3.10. İndol testi sonuçları.....	50
Şekil 3.11. Metil Kırmızısı testi sonuçları.....	51
Şekil 3.12. Sitrat testi sonuçları.....	52
Şekil 3.13. TSI testi.....	53
Şekil 3.14. Üre hidrolizi testi.....	54
Şekil 3.15. Mac Concey Agar'da laktoz fermentasyonu testi.....	55
Şekil 3.16. <i>C. albicans</i> türünün mikroskopik görüntüsü.....	56

Şekil 3.17. <i>C. albicans</i> türünün ChromAgar üzerindeki görüntüsü.....	56
Şekil 3.18. <i>C. albicans</i> türünde Germ Tüp testi sonucu.....	57
Şekil 3.19. <i>C. albicans</i> suşlarının, antifungal duyarlılıklarının, MICRONAUT sistemiyle okunması.....	61
Şekil 3.20. Kuyucukların %1'lik Kristal Viyole çözeltisi ile boyanması.....	64
Şekil 3.21. İkinci yıkama işlemi tamamlanan ve ön incelemeye alınan biyofilm plağı.....	64
Şekil 3.22. <i>S. epidermidis</i> (Se8) ve <i>C. albicans</i> (Ca8) suşlarının, %1'lik kristal viyole çözeltisi ile boyaması sonrasında ışık mikroskobu altındaki görüntüleri (4X).....	65
Şekil 3.23. Etanol – Asetik Asit solüsyonu içerisinde çözünen Kristal Viyole miktarının, 540 nm'de spektrofometre cihazında saptanması.....	65
Şekil 4.1. <i>S. epidermidis</i> suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları.....	73
Şekil 4.2. <i>P. mirabilis</i> suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları.....	73
Şekil 4.3. <i>C. albicans</i> suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları.....	74
Şekil 4.4. <i>S. epidermidis</i> suşlarının servislere göre dağılım oranları.....	75
Şekil 4.5. <i>P. mirabilis</i> suşlarının servislere göre dağılım oranları.....	76
Şekil 4.6. <i>C. albicans</i> suşlarının servislere göre dağılım oranları.....	76
Şekil 4.7. <i>S. epidermidis</i> suşlarının, hasta cinsiyetine göre dağılım oranları.....	77
Şekil 4.8. <i>P. mirabilis</i> suşlarının, hasta cinsiyetine göre dağılım oranları.....	78
Şekil 4.9. <i>C. albicans</i> suşlarının, hasta cinsiyetine göre dağılım oranları.....	78
Şekil 4.10. <i>S. epidermidis</i> suşlarının, hasta yaşına göre dağılım oranları.....	79
Şekil 4.11. <i>P. mirabilis</i> suşlarının, hasta yaşına göre dağılım oranları.....	80
Şekil 4.12. <i>C. albicans</i> suşlarının, hasta yaşına göre dağılım oranları.....	80
Şekil 4.13. <i>S. epidermidis</i> suşlarında, antibiyotik direnç oranları.....	81
Şekil 4.14. <i>P. mirabilis</i> suşlarında, antibiyotik direnç oranları.....	82
Şekil 4.15. <i>C. albicans</i> suşlarında, antifungal direnç oranları.....	83
Şekil 4.16. <i>S. epidermidis</i> suşlarının antibiyotiklere göre dağılımı.....	87
Şekil 4.17. <i>P. mirabilis</i> suşlarının antibiyotiklere göre dağılımı.....	87

Şekil 4.18. <i>C. albicans</i> suşlarının antibiyotiplere göre dağılımı.....	88
Şekil 4.19. <i>S. epidermidis</i> suşlarında biyofilm oluşumu.....	90
Şekil 4.20. <i>P. mirabilis</i> suşlarında biyofilm oluşumu.....	92
Şekil 4.21. <i>C. albicans</i> suşlarında biyofilm oluşumu.....	93
Şekil 4.22. <i>Staphylococcus epidermidis</i> (Se9), <i>Proteus mirabilis</i> (Pm15) ve <i>Candida albicans</i> (Ca8) suşlarının bir arada bulunmaları sonucu biyofilm oluşumu.....	99

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. CLSI tarafından, <i>Staphylococcus epidermidis</i> İçin Önerilen Antibiyotik Zon Tablosu (CLSI, 2005).....	59
Çizelge 3.2. CLSI tarafından, <i>Proteus mirabilis</i> İçin Önerilen Antibiyotik Zon Tablosu (CLSI, 2005).....	60
Çizelge 4.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarının Bilgileri ve Test Sonuçları.....	67
Çizelge 4.2. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarının Bilgileri ve Test Sonuçları.....	69
Çizelge 4.3. <i>Candida albicans</i> Suşlarının Bilgileri ve Test Sonuçları.....	70
Çizelge 4.4. <i>S. epidermidis</i> Suşlarının Antibiyotik Paternleri ve Antibiyotipleri.....	83
Çizelge 4.5. <i>P.mirabilis</i> Suşlarının Antibiyotik Paternleri ve Antibiyotipleri.....	84
Çizelge 4.6. <i>C. albicans</i> Suşlarının Antifungal Paternleri ve Antibiyotipleri.....	85
Çizelge 4.7. <i>S. epidermidis</i> , <i>P. mirabilis</i> ve <i>C. albicans</i> Suşlarında Çoklu Antimikrobiyal Direnç.....	89
Çizelge 4.8. <i>Staphylococcus epidermidis</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumu.....	90
Çizelge 4.9. <i>Proteus mirabilis</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumu.....	91
Çizelge 4.10. <i>Candida albicans</i> Suşlarında Biyofilm Oluşumu.....	92
Çizelge 4.11. <i>S. epidermidis</i> Suşlarının, Biyofilm Oluşumlarıyla Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması.....	94
Çizelge 4.12. <i>P. mirabilis</i> Suşlarının, Biyofilm Oluşumlarıyla Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması.....	96
Çizelge 4.13. <i>C. albicans</i> Suşlarının, Biyofilm Oluşumlarıyla Antifungal Dirençliliklerinin Karşılaştırılması.....	97

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AHL	Acyl Homoserine Lactone
AK	Amikasin
ALS	Agglutinin Like Sequence
AM	Ampisilin
AMC	Amoksisilin – Klavulanik asit
ANT	Antibiyotip
APH	Amfoterisin B
BHI	Brain Heart Infusion
CAF	Kaspofungin
CAZ	Seftazidim
CC	Klindamisin
CFM	Sefiksim
CFU	Colony Forming Unit
CIP	Siprofloksasin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CN	Gentamisin
CRO	Seftriakson
CZ	Sefazolin
DNAz	Deoksiribonükleaz
E	Eritromisin
EFG	Enhanced Filamentous Growth Protein
EPS	Extracellular Polymeric Substance
F	Nitrofurantoin
FCA	Flukonazol
FCY	5 – Florositozin
Hwp	Hyphal Wall Protein
<i>ica</i>	Intercellular Adhesin Gene
IgA	Immunoglobulin A
Int	Integrin Geni
IPM	İmipenem
MR/P	Mannose Resistant Proteus Like Fimbria
NN	Tobramisin

OP	Opaque Phase
OX	Oksasilin
P	Penisilin
PDA	Potato Dextrose Agar
PIA	Polysaccharide Intercellular Adhesin
PL	Fosfolipaz
PLA	Fosfolipaz A
PLB	Fosfolipaz B
PLC	Fosfolipaz C
PLD	Fosfolipaz D
PMF	<i>Proteus mirabilis</i> Fimbria
POS	Posakonazol
PSA	Polisakkarit Adezin
QS	Quorum Sensing (Çoğunluğu Algılama)
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SAP	Salgısal Aspartik Proteinazlar
SEM	Scanning Electron Microscope
SXT	Trimetoprim – Sulfametoksazol
TE	Tetrasiklin
TSI	Triple Sugar Iron
TZP	Tazobaktam-piperasilin
VA	Vankomisin
VOR	Vorikonazol
WH	White Phase Specific Gene
YPS	Yeast Pepton Sucrose
µg	Mikrogram

1. GİRİŞ

Canlı veya cansız herhangi bir yüzey üzerinde tabaka halinde yer alan biyofilmler; yüzeye ve birbirlerine tutunmuş mikroorganizma toplulukları ile bu topluluklarının da içerisinde gömülü olarak yer aldıkları; ekstraselüler polimerik materyalden oluşmaktadır (O'Toole et al., 2000; Gümüşderelioğlu, 2004). Bu sayede biyofilm yapısı; antimikrobiyal ajanlara karşı bariyer görevi üstlenmekte olup bu ajanların enfektif hücrelere olan penetrasyonunda düşüşe neden olmaktadır (Stewart, 1996).

Çeşitli enfeksiyonlara karşı kullanılan antimikrobiyal ajanlar, hastalık belirtilerini ortadan kaldırmakta; ama ortamda oluşmuş olan biyofilmi yok edememektedir (Marrie et al., 1982). Dolayısıyla, biyofilm ilişkili enfeksiyonlar; antimikrobiyal terapilerden sonra bile tekrarlayıcı nitelikte bulunmakta ve bu tedavilere tam anlamıyla yanıt verememektedir (Costerton et al., 1995).

Biyofilm tabakası, mikroorganizmaların genetik olarak dayanıklılık elde etmelerinde de etkin rol oynamaktadır; çünkü biyofilm yapısı yüzünden belirli bir yüzey alan üzerinde sabit kalan mikroorganizmalar; diğer mikroorganizmalara kıyasla daha fazla gen alışverişı yapma fırsatı elde etmektedir (Parsek and Singh, 2003). Biyofilm oluşturan; ama bütün antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlı olduğu tespit edilen bir mikroorganizmanın, zamanla bir çok antimikrobiyal ajana karşı genetik olarak direnç kazanması da söz konusudur. Yüksek biyofilm oluşturan bir suşun, sonradan çoklu antimikrobiyal direnç özelliği kazanması; oldukça tehlikeli enfeksiyonların açığa çıkması ve mortalitedeki artış ile sonuçlanmaktadır. Bu durum ise; doğal flora elemanlarının bile zamanla son derece tehlikeli bir patojene dönüşebileceği gerçeğini göstermesi bakımından çok önemlidir. Bu bağlamda, 2010 yılında yapılan bir araştırmaya göre; ciddi ekonomik kayıplara ve mortaliteye neden olan enfeksiyonların; %65–80 kadarının biyofilm ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Coenye and Nelis, 2010).

Biyofilm tabakası; vücut direnci düşük bir hastanın herhangi bir vücut dokusu üzerinde oluşabileği gibi; kataterler, kalp pilleri, protez kalp kapakçıkları, ortopedik protezler ve kontakt lensler gibi çeşitli vücut içi kullanımı olan yabancı cisimlerin yüzey alanlarında da oluşabilmektedir (Altun ve Şener, 2008). Vücut direnci düşük hastalarda oluşan biyofilm tabakası, son derece tehlikelidir; çünkü bu yapı

içerisinde yer alan mikroorganizmalar en ağır antimikrobiyal ajanlardan bile etkilenmeyerek, hastanın mortalitesine neden olmaktadır.

Vücut içerisine yerleştirilmiş biyomateryaller üzerinde oluşan biyofilm tabakası ise; tekrarlanan enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bu bağlamda, söz konusu enfeksiyonun tamamen sona erebilmesi için, biyofilm tabakasının ve o tabaka içerisinde yer alan mikroorganizma popülasyonunun ameliyat ile, mevcut ortamından tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir (Costerton et al., 1995). Dolayısıyla, biyomateryal ilişkili biyofilm enfeksiyonları; biyomateryalin vücuttan tamamen uzaklaştırılmasıyla ve bir daha kullanılmamasıyla sonuçlanmaktadır. Bu durum ise; ekonomik kayıpları beraberinde getirmektedir.

Biyofilm oluşumu sürecinde, bu yapıya farklı türden mikroorganizmaların katılımı da söz konusudur. Bu bağlamda, belirli bir yüzey üzerinde birden fazla sayıda mikroorganizma türü kolonize olabilmektedir (Boe-Hansen et al., 2002). Biyofilmler içerisinde oluşan bu heterojen yapı ise; biyofilm miktarında değişikliklere neden olmaktadır.

Çalışmamızda, Ankara'daki bir hastanenin farklı servis ünitelerinde bulunan hastalara ait çeşitli klinik materyallerden izole edilen; *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının; klinik verilere göre dağılımlarının, antimikrobiyal ajanlara karşı dirençliliklerinin ve biyofilm oluşumlarının belirlenmesi, elde edilen bulguların karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve söz konusu türlerin, bir arada bulunmaları sonucunda gelişen biyofilm miktarının saptanması hedeflendi. Bu amaçla, fenotipik olarak tanımlanan bütün suşların, öncelikle klinik verilere göre dağılımları ve farklı antimikrobiyal ajanlara karşı olan dirençlilikleri belirlendi. Aynı duyarlılık profili sergileyen suşlar, aynı antibiyotip grubuna dahil edilerek tiplendirildi. Ardından çoklu antimikrobiyal dirence sahip olan suşlar tespit edildi. Çalışmamızın devamında; bütün suşların biyofilm oluşumları saptanarak, elde edilen bulgular, suşların klinik bilgileriyle ve antimikrobiyal dirençlilikleriyle karşılaştırıldı. Çalışmamızın son aşamasında ise; *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ile *C. albicans* türleri bir araya getirildi ve karışık kültürlerin, biyofilm oluşumuna olan etkileri incelendi.

Normal koşullar altında insan derisinde doğal flora elemanı olarak yer alan *S. epidermidis* suşlarının en sık izole edildikleri klinik materyal; Yara Yeri kültürü

olarak belirlenirken, yüksek biyofilm oluşturdıkları belirlenen *S. epidermidis* suşlarının, genellikle Kan kültüründen izole edilmiş oldukları gözlemlendi. En yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu saptanan *C. albicans* suşunun da, diğer *C. albicans* suşlarından farklı olarak, Yoğun Bakım ünitesinde yatan bir hastadan izole edilmiş olduğu görüldü. Yüksek biyofilm oluşturan suşların Kan kültüründen ve Yoğun Bakım ünitesinden izole edildikleri bulguları; biyofilm ilişkili mikroorganizmaların nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumlu oldukları gerçeğini ve Yoğun Bakım ünitesinde bulunan vücut direnci düşük hastalar ile cerrahi müdahalelere maruz kalan kişilerde, bu enfeksiyonlara karşı daha kapsamlı bir önlem alınması gerektiğini göstermektedir.

S. epidermidis, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşları içerisinde en yüksek biyofilm oluşturdıkları belirlenen üç farklı tür suşun, üçünün birden yüksek sayıda antibiyotiğe karşı dirençli oldukları gözlemlendi. Bu bağlamda söz konusu suşların yüksek biyofilm oluşturma özellikleriyle beraber, çoklu ilaç direnci özelliğine de sahip oldukları bulgusu; biyofilm oluşumunun, in vivo koşullar altında gen alışverişini tetiklediğine ve bu sayede mikroorganizmaların antimikrobiyal ajan direnci kazanımlarını artırdığına işaret etmektedir. Çalışmamız kapsamında elde edilen bu bulgu, doğal flora elemanlarının bile; zamanla son derece tehlikeli bir patojene dönüşebileceği gerçeğini göstermesi bakımından oldukça önemlidir. Örneğin; cerrahi operasyon sırasında vücut içerisine yerleştirilen biyomateryalin hasta derisiyle temas etmesi, normal koşullar altında insan derisinde doğal flora elemanı olarak yer alan *S. epidermidis* suşunun, söz konusu materyal üzerindeki kolonizasyonu ve biyofilm oluşumuyla sonuçlanabilmektedir (Otto, 2009). Mevcut materyalin vücut içerisindeki uzun süreli kullanımı ise; biyofilm yapısında sabit kalma fırsatı elde eden mikroorganizma topluluklarının; gen alışverişini tetikleyeceğinden, suşlarda yüksek antimikrobiyal direnç kazanımına yol açmaktadır. Bu durum da, yüksek dirençli hastane patojenlerinin açığa çıkmasıyla sonuçlanmaktadır. Dolayısıyla, çalışmamız sonuçlarına göre; hastanelerde biyofilm ilişkili enfeksiyonları önlemek için, sağlık personellerinin hijyen kurallarına dikkat etmesi yeterli olmamakta, bazı durumlarda hastanın; kendi doğal flora elemanlarına karşı bile korunması gerekmektedir.

Çalışmamızda, çoklu ilaç dirençliliği ile biyofilm oluşturma özelliklerinin ikisine birden sahip olan suşların; diğer suşlara göre daha patojen oldukları anlaşıldı. Bu

bağlamda, çalışmamız kapsamında kullanılan bütün suşlar içerisinde maksimum miktarda biyofilm oluşturduğu ve aynı zamanda çoklu antifungal dirence sahip olduğu tespit edilen *C. albicans* (Ca8) suşunun, enfekte ettiği hastada mortaliteye sebebiyet verdiği gözlemlendi. Elde edilen bu bulgu; biyofilm ilişkili enfeksiyonların mortaliteyle sonuçlanacak durumlara sebebiyet verdiği gerçeğini kanıtlayıcı nitelikte olması bakımından, oldukça önemlidir. Dolayısıyla, hastanelerde biyofilm oluşumu üzerine geliştirilen tedavi yöntemleri; söz konusu yapının oluşmasını baştan önleyici nitelikte olmalıdır. Aksi takdirde, vücut direnci düşük hastalarda gelişen bu yapı, hastanın kaybına sebebiyet vermektedir.

Kataterler gibi bazı tıbbi materyallerin hasta vücudunda birden fazla sefer kullanımları, biyofilm ilişkili enfeksiyonlara fırsat vermesi bakımından hastanın hayatını tehlikeye atmaktadır. Çalışmamızda *S. epidermidis* ile *P. mirabilis* türlerinin ortak kolonizasyonlarının; biyofilm oluşumundaki artış ile sonuçlandığı gözlemlendi. Bu bağlamda, bir kaç defa kullanılması gereken materyallerin ne olursa olsun; biyofilm oluşumu açısından da kontrol edilmeleri ve suşların biyofilm oluşturma özelliğine sahip olup olmadıklarına dair uygulanan testlerin, rutin laboratuvar testleri içerisinde dahil edilmeleri gerekmektedir. İlave olarak; sağlık politikalarında biyofilm ile mücadeleye önem verilmesinin gereği görülmektedir. Çalışmamız kapsamında elde edilen bütün bu bilgiler, biyofilmler ve hastane enfeksiyonları üzerine yapılan diğer çalışmalara katkı sağlayacaktır.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Biyofilmler

Biyofilmler; belirli bir yüzey alana tutunmuş mikroorganizma topluluklarından ve bu mikroorganizma topluluklarının oluşturdukları polimerik materyallerden meydana gelen yapılardır (O'Toole et al., 2000). Belirli bir yüzey alan üzerinde tabaka halinde bulunan bu yapılar, genel olarak; proteinlerden, çevreden absorblanan çeşitli organik veya inorganik maddelerden, mikroorganizmalardan ve mikroorganizmaların oluşturdukları hücre dışı polisakkaritlerden oluşmaktadır (Gümüşderelioğlu, 2004).

Günümüze kadar birçok değişik şekilde tanımlanmış olan biyofilm oluşumları hakkında kayda geçen ilk araştırma; 1976 yılında Marshall tarafından yapılmıştır. Marshall'a (1976) göre biyofilm tabakası; bakterilerin yüzey alan üzerine sabitlenmelerinde önem teşkil eden esas yapıdır.

Yapılan araştırmalar; belirli bir yüzey alana tutunmuş olan mikroorganizmalar ile, serbest mikroorganizmalar arasında farklılıklar söz konusu olduğunu göstermekte ve biyofilm tabakasının mikroorganizmalar için, koruyucu bir oluşum olduğu gerçeğini ortaya koymaktadır (Donlan and Costerton, 2002). Bu bağlamda mikroorganizmalar; çevresel strese karşı direnç geliştirebilmek, adezyon ve kolonizasyon oluşturarak belirli bir ortamda sabit kalabilmek, ekstraselüler polimerik materyal sentezleyerek yaşanabilir bir çevre geliştirebilmek ve topluluk oluşturarak ortama daha kolay adapte olabilmek gibi sebeplerden ötürü biyofilm oluşturmaktadır (Öztürk vd., 2008). Bunlara ek olarak, biyofilmler içerisinde yer alan mikroorganizmalar; kan akımı ve tükürüğün yıkama gücü gibi birtakım fiziksel güçler ile besin yetersizliği, toksinler, pH değişiklikleri, oksijen radikalleri, dezenfektanlar ve antibiyotikler gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal etmenlere karşı da, serbest yaşayan mikroorganizmalara kıyasla daha dirençli halde bulunmaktadır (Shiro et al., 1994; Costerton et al., 1995; Costerton et. al., 1999). Bütün bunlar ise; mikroorganizmaların "savunma" amacıyla biyofilm oluşturdıkları gerçeğini doğrulamaktadır (Öztürk vd., 2008).

2.2. Biyofilmlerin Yapısı ve Bileşenleri

Mikroorganizmaların büyüme hızı, gen transkripsiyonu, hücreler arası sinyalizasyon ve EPS sentezi gibi etmenler, biyofilmlerin yapısını biyolojik olarak belirlemede, biyofilmin oluşturulduğu çevre koşulları ise; biyofilmlerin yapısını fizyolojik olarak etkilemektedir (Donlan and Costerton, 2002; Stoodley et al., 2002).

Yapılan çalışmalar; biyofilm oluşumu için gerekli olan temel bileşenlerin; yüzey, mikroorganizma ve ekstraselüler polimerik materyal (EPS) olduğunu göstermektedir. Bu ana bileşenlerden biri bile eksik olduğu takdirde biyofilm oluşumu gerçekleşmemektedir (Donlan, 2002).

2.2.1. Yüzey

İnsan vücudunda biyofilmler; kataterler, kontakt lensler, protez kalp kapakçıkları, protez kalp pilleri, rahim içi araçları, böbrek taşı, akciğer dokusu gibi canlı veya cansız bir çok yüzey alanda oluşabilmektedir (Lindsay and Von Holy, 2006). Mikroorganizmaların, bu şekilde belirli bir yüzey alana tutunarak yaşamlarını sürdürmeleri ise; onlara birçok konuda avantaj sağlamaktadır. Bu sayede mikroorganizmalar, farklı türden mikroorganizmalarla aynı ortamda bulunma fırsatı elde ederler. Farklı türden mikroorganizmaların aynı alanda bulunmaları ise; mikroorganizmalar arası gen alışverişi ile sonuçlanmaktadır. Bu sayede genetik olarak çeşitli faktörlere karşı daha dirençli suşların gelişimi söz konusu olmaktadır. İlave olarak; mikroorganizmaların belirli bir yüzey alan üzerindeki tutunmaları, onların konak bağışıklığından korunmalarını sağlamaktadır (Donlan, 2001).

Mikroorganizmal tutunmada, yüzeyin sahip olduğu bir takım özellikler rol oynamaktadır. Bu bağlamda; yüzeydeki kütle taşınımı, yüzeyin gelişimi, elektriksel yükü, mikrotopoğrafyası, hidrofobisitesi ve pürüzlülük gibi çeşitli yüzey özellikler, mikroorganizmalardaki öncül tutunmayı tetikleyen faktörler arasında yer almaktadır (Palmer, 2007).

Bütün bunların yanı sıra, çeşitli proteinlerin yüzeye adsorpsyonlarının ve yüzeyin çeşitli proteinlerle kaplı bulunması durumlarının da; mikrobiyal tutunmada önem taşıdıkları belirlenmiştir. Bu bağlamda 1976 yılında yapılan bir çalışmada; polistren

bir yüzey üzerinde bulunan albumin, jelatin, fibrinojen ve pepsin gibi çeşitli proteinlerin, sucul Pseudomonad'larda yüzeye tutunmayı inhibe ettiği saptanmıştır (Fletcher, 1976). Yapılan bir diğer çalışmaya göre ise; albumin proteini tutunmayı inhibe etmekte, kasein ve jelatin proteinleri ise; aynı yüzeydeki mikroorganizmal tutunmayı artırmaktadır (Meadows, 1971).

2.2.2. Mikroorganizma

Mikroorganizmalar, biyofilm oluşumlarında çok önemli bir yere sahiptir ve biyofilm oluşumuyla ilişkili olan mikroorganizmalar, biyofilm oluşumuyla ilişkili olmayan serbest (Planktonik Hücreler) mikroorganizmalardan daha farklı bir yol izlemektedir (Donlan, 2001). Bu bağlamda, biyofilm oluşturma özelliğinde olan mikroorganizmalar; farklı büyüme oranlarına sahip olmakla beraber, çeşitli antimikrobiyal tedavilere karşı direniş göstermekte ve bu bağlamda ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadır.

Biyofilm oluşumu sürecinde, bu oluşuma farklı türden mikroorganizmaların katılımı söz konusu olmakta ve biyofilmler içerisinde heterojen bir yapı hüküm sürmektedir. Bu bağlamda, bakterilerin baskın olduğu biyofilm tabakalarında; mantar ve çok hücreli canlılara da rastlanıldığı gözlenmektedir (Boe-Hansen et al., 2002). Dolayısıyla biyofilm tabakası; çeşitli mantar hücreleri ile gram negatif ve gram pozitif bakteri gruplarının bir arada bulunması sonucu da meydana gelebilmektedir. idrar yolu kataterlerinin uzun süreli kullanımı; aynı yüzeye çok sayıda farklı mikroorganizma türünün yerleşmesiyle ve orada biyofilm oluşturmalarıyla sonuçlanmaktadır (Stickler, 1996).

2.2.3. EPS (Ekstraselüler Polimerik Materyal)

Mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilmler; mikroorganizmaların da içerisinde gömülü oldukları Ekstraselüler Polimerik Materyal (EPS) içerikli bir matriks halinde yer almaktadır (Costerton et al., 1995). Biyofilm matriksi olarak bilinen bu yapı; su, ekstraselüler polimerik materyal, globuler glikoproteinler, diğer proteinler ve nükleik asit, lipit ile fosfolipitlerden meydana gelmektedir. Ancak bu içeriklerin oranları, mikroorganizmaların çeşidine, fizyolojik özelliklerine, gelişme ortamına ve bu ortamın fiziksel özelliklerine göre değişkenlik göstermektedir (Allison, 2003; Altun ve Şener, 2008). İlave olarak EPS; uygun bir biyofilm

kütlesinin %75–90'ını oluşturmakta olup, biyofilmlere yapısal destek sağlamaktadır (Flemming et al., 2000; Padera, 2006).

Belirli bir yüzey üzerinde hücreleri çevreleyerek içine almış bir EPS varlığı, biyofilm oluşumunun ayırt edici bir göstergesidir. Biyofilmlerin yapısını ve bir ortama yapışma gücünü belirleyen EPS sayesinde hücreler, belirli bir yüzey alana geri dönüşümsüz olarak sabitlenmektedir (Flemming et al., 2000).

Günümüzde yapılan araştırmalara göre EPS, zarar verici çeşitli kimyasalların hücrelere nüfuz etmesini önlemekte ve mikroorganizmaların çevresel şartlara karşı savunmasında rol oynamaktadır (Braunwald, 1997). EPS sayesinde mikroorganizmalar, elektrik çekimi gibi güçlü etkilerden, fagositozdan ve antimikrobiyal ajanlardan kurtulabilmektedir (Donlan and Costerton, 2002). İlave olarak bu yapı; biyofilmlerin ilaç direnci gelişimlerinde de etkin rol oynayan bir yapı olduğundan, önemli bir hedeftir. Bu bağlamda, belirli bir alandaki EPS tahribatı, mevcut biyofilmin yapısal varlığının bozulmasına yol açmakta, bu durum ise; antimikrobiyal ajanlara karşı olan duyarlılığın büyük ölçülerde artmasına neden olmaktadır (Stoodley et al., 2002). Dolayısıyla biyofilm oluşturma özelliğine sahip mikroorganizmalara karşı kullanılan antimikrobiyal ajanların etkinliklerinin artırılması için, EPS üzerinden işleyen bir takım mekanizmalar üzerine çeşitli çalışmalar yürütülmektedir (Donlan, 2002).

Önceki yıllarda yapılan çalışmalar; serbest hücreler (Planktonik Hücreler) tarafından oluşturulan ekzopolisakkaritlerin, biyofilm hücreleri tarafından oluşturulan ekzopolisakkaritlerle aynı içeriğe sahip olduğunu ve biyofilm oluşumuna özgü üretilen spesifik polisakkaritlerin çok az miktarlarda bulunduğunu belirtmektedir (Sutherland, 1995). İlerleyen yıllarda ise, biyofilm hücrelerinin; moleküler ağırlık olarak daha fazla, içerik olarak ise daha farklı bir matriks polimeri sentezledikleri bildirilmektedir (Ruiz et al., 1999).

2.2.4. Diğer Elemanlar

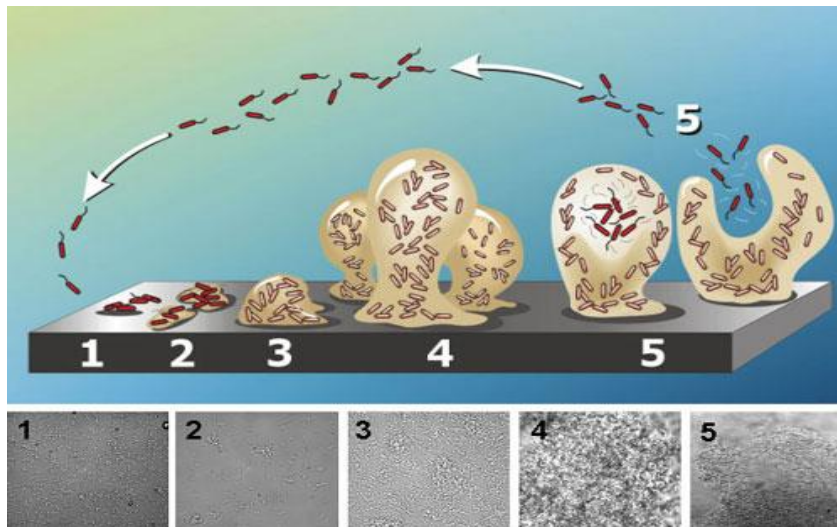
Biyofilmlerin yapısında; yüzey, mikroorganizma ve EPS ana bileşenleri dışında; çeşitli mikrobiyal enzimler, mikrobiyal metabolitler ile magnezyum, kalsiyum, demir gibi çeşitli İnorganik İyonlar da yer almaktadır (Flemming et al., 2000).

2.3. Biyofilmlerin Oluşum Aşamaları

Biyofilm oluşumunu çeşitli çevresel etkenlerin tetiklediği ve yönlendirdiği, bilinen bir gerçektir. Bu bağlamda biyofilm oluşumunun; besin yetersizliği, sıcaklık, ozmolarite, pH, demir, ve oksijen varlığı gibi çeşitli çevresel etkilere, tepki olarak başladığı öne sürülmektedir (Stanley et al., 1983; Fletcher and Pringle, 1986; Wang et al., 1996; Palmer and White, 1997; Wimpenny and Colasanti, 1997; O'Toole and Kolter, 1998 (a); O'Toole and Kolter, 1998 (b); Pratt and Kolter, 1998; Stoodley et al., 1999; Watnick and Kolter, 1999; O'Toole et al., 2000). Dolayısıyla, biyofilm oluşumunda bir dizi basamak söz konusudur. Literatürdeki bilgilere göre, bu biyolojik döngü; “Başlama”, “Olgunlaşma”, “Dengelenme” ve “Çözülme” olmak üzere dört aşama halinde gelişim göstermektedir. Biyofilm tabakasının bileşenleri göz önünde bulundurulduğu taktirde ise, bu tabakanın oluşumu; “Yüzey Değişimi”, “Adhezyon”, “EPS Sentezi”, “Kolonizasyon” ve “Kopma” olmak üzere beş farklı aşamada incelenmektedir (O'Toole et al., 2000) (Şekil 2.1.).

2.3.1. Yüzey Değişimi

Yüzey değişimi; serbest enerji, hidrofobisite ve elektrostatik yükler gibi yüzeyin çeşitli fiziksel ve kimyasal özelliklerinde bir takım değişiklikler olması durumudur. Bu değişiklikler sayesinde; protein gibi çeşitli organik moleküllerin, o yüzeyde adsorplanması söz konusu olmaktadır. Bu durum ise; mikroorganizmaların belirli bir yüzey alana tutunmasında rol oynayan en önemli faktörlerden bir tanesidir (Dickson and Koohmarare, 1989).



Şekil 2.1. Biyofilmlerin oluşum aşamaları (www.mathbio.colorado.edu)

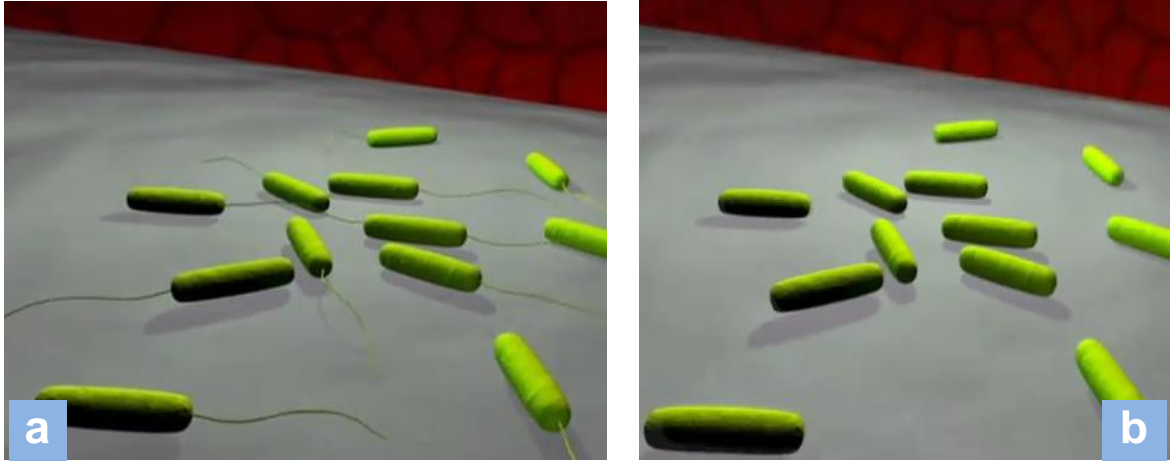
2.3.2. Adhezyon

Biyofilm oluşumunda “Adhezyon” büyük bir önem teşkil etmektedir; çünkü biyofilmlerin olgunlaşması, öncelikli olarak mikroorganizmaların belirli bir yüzey alana tutunabilmeleri ile mümkün olmaktadır. Bu bağlamda; günümüzde, biyofilmler üzerine yapılan çalışmalar, biyofilm oluşumu ve olgunlaşmasında, başlıca etken olarak bilinen; adhezyon üzerine odaklanmış bulunmaktadır. (Palmer et al., 2007).

Adhezyon için, öncelikle mikroorganizmaların belirli bir yüzey alanda sabit kalmaları gerekmektedir (Şekil 2.2.). Bu bağlamda mikroorganizmaların, canlı yüzeyler üzerinde sabit kalabilmek için bir takım stratejiler geliştirdikleri gözlenmektedir. Örneğin; mikroorganizmalar, sahip oldukları yüzey proteinleri ile canlılığın vücudundaki fibrinojen, fibronektin, elastin gibi çeşitli matriks proteinlerine yapışırlar. Bu adhezin ve matriks proteinleri ise; mikroorganizmaların adhezyonunda anahtar rol oynamaktadır (Patti et al., 1994).

Yapılan araştırmalara göre; cansız bir yüzey ile ilk reaksiyonun gerçekleşebilmesi için, mikroorganizmanın hareketlilik özelliğine sahip olması gerekmektedir. Bu bağlamda kemotaksis; bakteriyal tutunmada önemli bir rol üstlenmektedir. (Pratt and Kolter, 1998). Günümüzde; biyofilm oluşumu bakımından zayıf oldukları gözlenen mikroorganizmaların, flagella sentezinden sorumlu olan genlerinde bozukluk bulunmaktadır. Bu bağlamda mevcut durum, adhezyonu olumsuz yönde etkileyerek, biyofilm oluşumunu azaltmaktadır. (Montie et al., 1982; Smit et al., 1989; O’Toole et al., 1998; Pratt and Kolter, 1998).

Adhezyon sonrasında, belirli bir yüzey alana yerleşmiş olan mikroorganizmalar çoğalmaya başlarlar. Ardından, bütün hücrelerin motilite faktörlerinin ifade edilmesinde baskılanma gerçekleşir (Whiteley et al., 2001; Wolz et al., 2002) (Şekil 2.2.). Dolayısıyla, mikroorganizmalar kısa bir süre sonra, hareketlilik özelliklerini kaybederler. Yapılan çalışmalarda biyofilm oluşturan suşların, motilite faktörlerinin baskılanması Kronik Kistik Fibroz hastalarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında saptanmıştır (Deziel et al., 2001; Whiteley et al., 2001; Sauer et al., 2002).



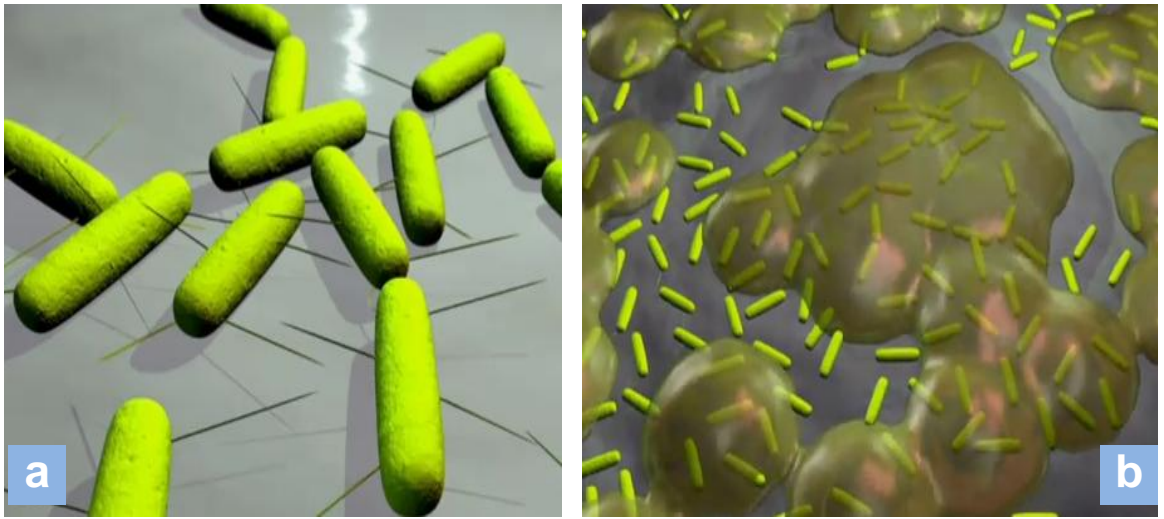
Şekil 2.2. a; Biyofilm oluşturan mikroorganizmaların, yüzey alanda sabit kalmaları (<http://hausfeldaboutlyme.wordpress.com/another-great-biofilm-video/>), b; Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda hareket organellerinin yitilmesi (<http://hausfeldaboutlyme.wordpress.com/another-great-biofilm-video/>)

Literatürdeki bilgiler incelendiği takdirde, mikroorganizmaların katı yüzeylere tutunma mekanizmaları üzerine kabul görmüş iki farklı teori söz konusudur. İlk teoriye göre, tutunma mekanizması iki aşamadan oluşmaktadır (Marshall et al., 1971; Kumar and Anand, 1998). Bu bağlamda birinci aşama, geri dönüşümlü bir aşama olan “Öncül Tutunma” aşamasıdır. Bu aşamada mikroorganizmalar; hidrofobik etkileşimler, Van der Waals kuvveti ve elektrostatik kuvvetlerle yüzey alana doğru taşınırlar (Loosdrecht et al., 1987; Gilbert et al. 1991; Carpentier and Cerf, 1993). Bu sırada, ortama salınan EPS yok denilecek kadar az miktarda olduğundan, hücreler; rahat ve özgür bir şekilde hareket edebilir yetenekte bulunmaktadır (O’Toole and Kolter, 1998). Bu hücreler, henüz biyofilm oluşturma sürecine girmemiş ve değişim geçirmemiş olduklarından, buldukları yüzeyi terk edebilme ve planktonik yaşayışlarını devam ettirebilme özelliklerine sahiptir (Stoodley et al., 2002). Dolayısıyla, geri dönüşümlü aşamada, bütün mikroorganizmalar, kendi türlerine özgü davranış biçimleri sergilerler (Korber et al., 1995).

Aynı teoriye göre, hücrelerin yüzey alana geri dönüşümsüz olarak bağlandığı aşama; İkinci Aşama’dır ve bu aşama, biyofilm oluşumu sürecinde diğer aşamaya göre daha önemlidir; çünkü biyofilmin olgunlaşması, mikroorganizmaların herhangi bir yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunması sonrasında gerçekleşmektedir. Geri

dönüşümlü tutunma evresinden, geri dönüşümsüz tutunma evresine kadar olan süreçte ise; mikroorganizmanın, yüzey ile temas halinde olması ve temas halindeyken çoğalması söz konusudur.

Geri dönüşümsüz aşamada, mikroorganizmalar tarafından çeşitli spesifik ligandlar (pili ve fimbria gibi) ve ardından, EPS sentezlenmektedir (Şekil 2.3.). Bu sentezlenen yapıların, yüzey alanla kompleks oluşturmaları sonucunda ise; mikroorganizmalar, o alan üzerinde kilitlemiş bir şekilde yerleşim gösterir (Dune, 2002). Bu aşamanın sonunda, mikroorganizmaların yüzeyden uzaklaştırılması için daha büyük kuvvetlere ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 2.3. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda, yüzeye sabitleyici organellerin gelişimi ve EPS sentezi başlangıcı (a; yüzeye sabitleyici organellerin gelişimi, b; EPS sentezi başlangıcı) (<http://hausfeldaboutlyme.wordpress.com/another-great-biofilm-video/>)

Busscher ve Weerkamp tarafından savunulan ikinci teoriye göre ise; mikroorganizmaların yüzey alana tutunmaları üç aşamada gerçekleşmektedir (Busscher and Weerkamp, 1987). İlk aşamada mikroorganizmalar ile yüzey alanı arasındaki mesafe yüzlerce nanometreyken, ikinci aşamada mesafe 20 nanometreye, üçüncü aşamada ise; 5 nanometreye inmiş durumdadır. Son aşamada, spesifik adhezyon reseptörleri kuvvetli bir bağlanma sağlamaktadır.

Bazı mikroorganizmalar, mevcut yüzeye tutunabilmek için, aynı bölgede bulunan başka mikroorganizmalara ihtiyaç duymaktadır. Bu durum; farklı türden mikroorganizmaların aynı yüzey alanda kolonize olmalarını sağlaması bakımından

“Ortak Toplanma” olarak adlandırılmaktadır (Whittaker et al., 1996). Ortak toplanma, canlı yüzeylerde olduğu gibi, cansız yüzeyler üzerinde de gerçekleşebilmektedir. Bu bağlamda; *Pseudomonas fragi* türü, cam yüzey üzerinde birincil yerleşicidir ve EPS sentezi yaparak, *Listeria monocytogenes* türünün aynı yüzeye tutunma yeteneğini artırmaktadır (Sasahara et al., 1993). İlave olarak; *Caulobacter* spp.’ler, *Pseudomonas* spp. varlığında cam yüzeylere, daha fazla oranda tutunabilmektedir (Corpe et al., 1974). Dolayısıyla, bir türün belirli bir yüzey alana olan adhezyonunu etkileyen faktörler arasında, aynı ortamda başka bir türün mevcudiyeti durumu da söz konusu olabilmektedir.

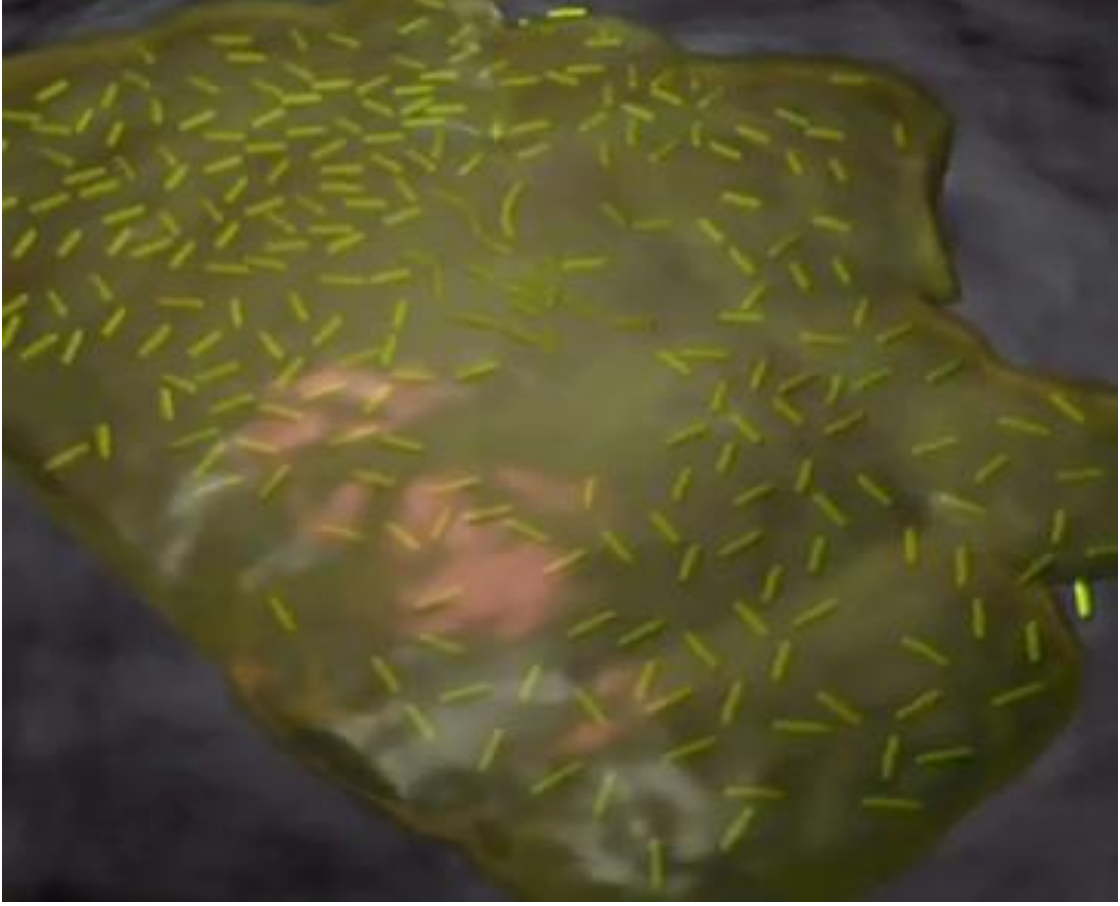
Literatür bilgilerine göre birincil tutunma, biyofilm oluşumunda engelleyici paya sahip olan önemli bir aşamadır. Bu bağlamda; insanlarda yabancı cisim enfeksiyonlarına yol açan biyofilm oluşumlarının önüne geçebilmek, öncül tutunmayı önlemek ile mümkündür. Dolayısıyla biyomateryaller üzerindeki öncül tutunmayı önleyebilmek için; yüzey alanın gümüş iyon, antibiyotik ve heparin gibi tutunmayı engelleyici maddeler ile muamele edilmesi gerekmektedir (Morris and Stickler, 1998; Donlan and Costerton, 2002; Chilukuri and Shah, 2005; Tenke et al., 2006).

2.3.3. Ekstraselüler Polimerik Materyal (EPS) Sentezi

Mikroorganizmalar; belirli bir yüzey alana tutunduktan sonra, biyofilm içerisindeki yaşama daha iyi adapte olabilmek adına EPS sentezi yaparlar (Şekil 2.4.).

EPS sentezi, yüzey alana tutunmuş mikroorganizmaların çoğunun sahip olduğu bir özelliktir ve mikroorganizmaların, uygun bir ortam oluşturarak konakta kalabilmelerini sağlaması bakımından son derece önemlidir (O’Toole et al., 2000; Jefferson et al., 2004). Bu bağlamda, adhezyondan hemen sonra EPS oluşturulur ve bu sayede biyofilm gelişimi başlar. EPS sentezi, mikroorganizma adhezyonunu kuvvetlendirmektedir.

Biyofilmler üç boyutlu incelendiği takdirde, bu yapıların mikroorganizma topluluklarından ve EPS içerikli bir matriksten ibaret oldukları gözlenmektedir. Matriks yoğunluğu ise; çeşitli mikroorganizma türlerine ve mikroorganizmaların tutundukları yüzey alanlara göre farklılıklar teşkil etmektedir (Allison et al., 1998; Donlan and Costerton, 2002).

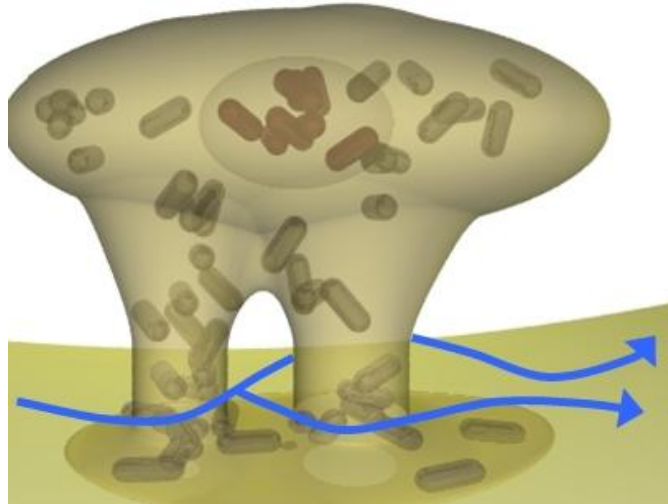


Şekil 2.4. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda, EPS içerikli matriks oluşumu
(<http://hausfeldaboutlyme.wordpress.com/another-great-biofilm-video/>)

Bütün EPS'ler içerisinde bugüne kadar en iyi aydınlatılmış olanı, bakteriler tarafından üretilen Aljinat'lardır. Çeşitli akciğer rahatsızlıklarından sorumlu oldukları bilinen *Pseudomonas aeruginosa* suşları; akciğerlerde ve endüstriyel su sistemlerinde aljinat üretimi yaparak biyofilm oluşturmaktadır. Bu bağlamda, *P. aeruginosa* suşlarında aljinat üretimi incelenmiş ve aljinat üretiminin, çeşitli çevresel faktörlere bağlı olarak geliştiği tespit edilmiştir. İlave olarak, aljinat üretimi promotörü olarak bilinen *alg D*; nitrojen azlığında, etanol varlığında (etanolün, hücre zar yapısını bozmasına bağlı olarak) ve hücrelerin bulunduğu ortamın yüksek ozmolariteye sahip olduğu durumlarda aktive edilmektedir (De Vault et al., 1987). Bu durum ise, EPS sentezinin, çevresel koşullara bağlı olarak çeşitli genetik mekanizmalarla kontrol edildiği gerçeğini göstermektedir.

2.3.4. Kolonizasyon

Herhangi bir yüzey alana tutunmuş olan mikroorganizmaların, çoğalması ve beraberinde EPS sentezlemesi sonucunda biyofilmin en küçük organizasyon birimi olan “Mikrokolonizasyonlar” oluşmaktadır. Diğer mikroorganizmaların, mikrokoloniler üzerine yapışmasıyla ise, esas kolonizasyon gerçekleşmektedir. Kolonizasyon ve biyofilm oluşumu tek bir mikroorganizma türü tarafından oluşturulabildiği gibi, birden fazla türün bir araya gelmesi sonucunda da oluşabilmektedir. Bu bağlamda, her tür kendi mikrokolonisini oluşturmakta ve bu mikrokoloniler, kanallar aracılığıyla birbirlerinden ayrılmaktadır. Besin maddesi, oksijen gibi mikroorganizmalarca hayati önem taşıyan maddelerin difüzyonu ise; bu kanallar aracılığıyla mümkün olmaktadır (Şekil 2.5.). Mikrokoloniler arası kanallar, aynı zamanda ortamdaki atık maddelerin uzaklaştırılması işlevini de görmektedir (Uludağ ve Şener, 2008).

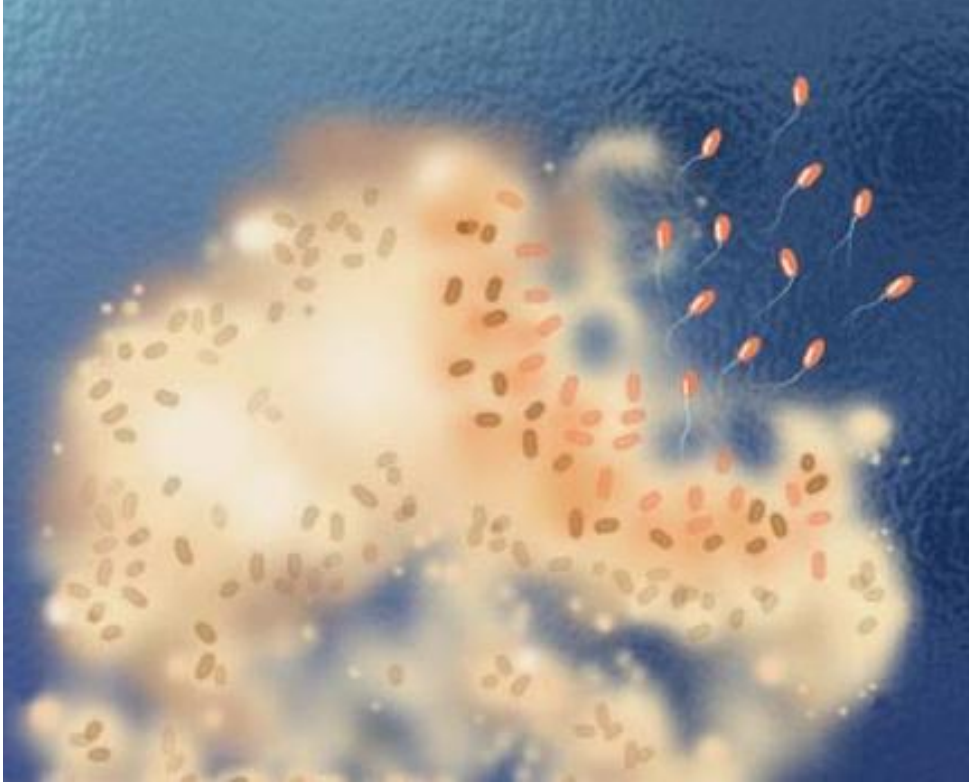


Şekil 2.5. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda, mikrokoloniler arası kanal varlığı (http://cronodon.com/BioTech/Bacterial_Society.html)

2.3.5. Kopma

Mikroorganizmalar, biyofilm oluşturduktan sonra, buldukları habitatta mevcut olmayan bazı maddelere gereksinim duymaktadır. Buyüzden, biyofilmden ayrılarak ihtiyaçlarını karşılayabilecekleri habitatlar arama yönünde bir davranış sergilerler. (O’Toole et al., 2000). Bu bağlamda, mikroorganizmaların, herhangi bir nedenden ötürü biyofilm oluşturdıkları ortamı terk etmeleri “Kopma” ya da “Ayrılma” olarak

ifade edilmektedir (Şekil 2.6.). Hücrelerin biyofilmden ayrılmaları; mikroorganizmalardaki yüzey bağımlı tutunmayı düzenleyen ve polisakkarit liyaz gibi, matriks polimerini eritici özellikte olan bazı enzimlerin ortaya salınması sonucu gerçekleşir. Stoodley ve arkadaşları, bu enzimlerin, çeşitli uyarıcı moleküllerdeki artış sonucunda salınmaya başladıklarını tahmin etmektedir (Stoodly et al., 2002). Bazı araştırmacılar ise, bu enzimlerin salınma nedeninin, mikrokolonilerdeki hücre yoğunluğu olduğunu öne sürmekte ve bu bağlamda çalışmalarını sürdürmektedir.



Şekil 2.6. Mikroorganizmaların biyofilm tabakasını terk etmesi
(<http://biofilmbook.hypertextbookshop.com>)

Bu evrede, çeşitli genetik düzenlemeler ile beraber mikroorganizmaların hareketinden sorumlu yapıların sentezlenmesi de söz konusudur. Hareket kazanan hücreler; makrokolonilerin üst kısımlarından ayrılarak enfeksiyonlara veya başka odaklarda yeniden biyofilm oluşumlarına neden olur. Daha sonra, bu süreç bir dengeye oturmak suretiyle süreklileşir (Stoodly et al., 2002). Laboratuvar koşullarında antimikrobiyal ajanlara karşı herhangi bir direnç geliştirmedeği tespit edilen mikroorganizmalar, vücut içerisinde biyofilm tabakası sayesinde dirençli

hale gelmekte, bu yapıyı terk ettikleri takdirde ise, tekrar duyarlı hale dönüşmektedir (Drenkard, 2003; Fux et al., 2005).

Mikrobiyal biyofilmlerde kopma evresi ve bu evrenin mikroorganizmalarca nasıl düzenlendiği, gelecek çalışmalar için büyük bir önem taşımaktadır. Gen ekspresyonuna dayanan yeni metodlar sayesinde bu konu üzerine, her geçen gün daha fazla bilgi sahibi olunmaktadır.

2.4. Biyofilm Oluşumlarında Quorum Sensing (Çoğunluğu Algılama) Mekanizması

Mikroorganizmaların davranışlarını çeşitli genlerin ifade edilmesini tetikleyerek, düzenleyen hücreler arası iletişim sistemleri Quorum Sensing veya Çoğunluğu Algılama olarak ifade edilmektedir. (Fuqua et al., 1994). Bu konuda insanların toplumsal yapısından yola çıkılarak ortaya atılan ilk görüş; çok sayıdaki bakterinin birkaç sayıda bakteriden daha güçlü olduğu; ancak bu birkaç sayıda bakterinin de birlik olarak, bir çok engeli aşabileceği yönündedir (Smith,1905). Yıllar sonra yapılan çalışmalar sonucunda ise; mikroorganizmaların birbirleriyle iletişim kurabildikleri ve değişen bir ortama yanıt verebildikleri anlaşılmıştır. Toplumsal davranışlar sergileyen bu mikroorganizmalar, birbirleriyle iletişim haline geçerek makroskobik boyutlarda görüntülere neden olacak koloniler oluşturmaktadır (Dworkin, 1991; Losick ve Kaiser, 1997; David et al., 1998). Bu bağlamda; bu sistemler, günümüzde bir çok bilim adamı tarafından büyük bir ilgiyle karşılanmakta ve araştırılmaktadır (Kong et al., 2006).

Quorum Sensing üzerine yapılan ilk bilimsel araştırmalar, 1960'lı yıllara dayanmaktadır. Bu yıllarda, ışımaya (Biyoluminesans) özelliği bulunan *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi* isimli iki farklı sucul mikroorganizmayla çalışılmıştır.

Bu mikroorganizmalarla yapılan çalışmalara göre ışımaya; kültürün dilüe edilmesi sonucunda kaybolmakta, kültür konsantrasyonunun artırılması durumunda ise; net bir şekilde tekrar ortaya çıkmaktadır. Bu bağlamda mevcut durumun; aktivatör bir molekülün ortamda birikmesi sonucunda gerçekleştiği bildirilmektedir (Nealson et al., 1970; Eberhard, 1972).

Quorum sensing mekanizması; biyofilm oluşumunda ve gelişiminde de oldukça önemli bir yere sahiptir (Davies et al., 1998; Lynch et al., 2002; Hammer and Bassler, 2003; Zhu and Mekalanos, 2003; Labbate et al., 2004). Quorum sensing molekülü olduğu bilinen AHL (Açıl – Homoserin Lakton) molekülünün, biyofilmlerdeki tespiti; İlk kez 1997 yılında, gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma ise; doğal olarak oluşan biyofilmlerde Oto – İndükleyici bir aktivitenin varlığını kanıtlayıcı niteliktedir (McLean et al., 1997).

Yapılan incelemeler, çok yüksek miktarlarda biyofilm oluşturduğu bilinen ve aynı zamanda quorum sensing aktivitesine sahip olduğu gözlenen *Pseudomonas aeruginosa* türü suşlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Yapılan çalışmalara göre; besiyeri içeriği ile üreme ortamının durgun veya hareketli oluşu gibi çeşitli çevresel faktörler, *P. aeruginosa* suşlarındaki quorum sensing aktivitesini ve dolayısıyla da biyofilm oluşumunu etkilemektedir. (De Kievit et al., 2001). İlave olarak, quorum sensing moleküllerinden birini içerdiği tespit edilen bakteriler, diğer bakterilere oranla daha fazla dayanıklılık sergilemektedir. (Davies et al., 1998).

2.4.1. Quorum Sensing (Çoğunluğu Algılama) Mekanizmasında Kullanılan Sinyal Molekülleri

Quorum Sensing sistemlerinde, mikroorganizmaların birbirleriyle haberleşerek iletişim kurabildiği küçük sinyal molekülleri; Oto İndükleyici Moleküller olarak adlandırılmaktadır. Bu moleküllerin, bu şekilde ifade edilmelerinin nedeni, hücre metabolizması üzerinde düzenleyici etki göstermeleridir (Novick and Muir 1999; Donabedian, 2003). Bu sinyal molekülleri mikroorganizmalar tarafından üretilmekte olup ortamda bulunan hücre yoğunluğuna bağlı olarak değişim göstermektedir (Bjarnsholt and Givskov, 2007). Ortamdaki hücre yoğunluğunun düşük olması, sinyal moleküllerinin ortama daha az miktarda salınması sonucunu doğururken, mikroorganizmal hücrelerin belirli bir hücresel yoğunluğa ulaşması, sinyal moleküllerinin de belirli bir eşik değerinin üzerine çıkmasıyla sonuçlanmaktadır. Oto İndükleyici Moleküller'in belirli bir değer üzerinde seyretmesi; çeşitli transkripsiyonel regülatörlerin aktive olmasına (Fuqua et al., 1994), aktive olan transkripsiyonel regülatörler ise, mikroorganizmaların virülans faktörlerinden (biyofilm oluşumu gibi) sorumlu bir çok genin ifade edilmesine neden olmaktadır (Kong et al., 2006). Dolayısıyla, Oto İndükleyici Moleküller'inin

ortamdaki birikimi, bir grup hedef genin düzenlenmesi ile sonuçlanmaktadır (Chen and Schauder, 2002).

Uzun yıllar, quorum sensing çalışmalarının *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi* gibi deniz bakterileriyle sınırlı olduğu düşünülmüştür; fakat 1990'lı yılların başlangıcında *Erwinia carotovora* bakterisinin, bir grup mutant bakteri topluluğuyla beraber bulunması durumunda, karbapenem antibiyotiği sentezleyebildiği gözlenmiş olup, bu duruma; diğer bakteriler tarafından salınan sinyal molekülünün neden olduğu saptanmıştır. Daha sonra bu sinyal molekülü üzerine yapılan çalışmalar sonucunda, bu molekülün; *Vibrio fischeri* bakterisinde ışımaya tetikleyen molekülle aynı yapıda olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç ise; yeni çalışma alanlarının doğmasına neden olmuştur (Bainton et al., 1992; Williams ve ark., 1992).

Hemen hemen aynı tarihlerde; Gambello ve Iglewski, önemli bir insan patojeni olan *P. aeruginosa*'nın da *V. Fischeri* benzeri quorum sensing sistemine sahip olduğunu saptamışlardır. Bu bağlamda; *V. fischeri* türünde biyolimünesans oluşumunu düzenleyen quorum sensing mekanizmasının, *P.aeruginosa* suşlarında elastaz üretimini düzenlemek için kullanıldığı anlaşılmıştır (Saraçlı, 2006). Yapılan çeşitli incelemelere göre; quorum sensing molekülleri mikroorganizmaların birbirleriyle iletişim kurmalarını sağlamaktadır ve aynı topluluktan insanların aynı konuşma dilini kullanıyor olmalarına benzer olarak, mikroorganizmalar da iletişim kurabilmek için genellikle, aynı quorum sensing moleküllerine ihtiyaç duymaktadır; fakat farklı türden mikroorganizmaların, aynı moleküller aracılığıyla anlaşabildikleri durumlar da söz olabilmektedir ve bu çapraz iletişim, biyofilm oluşumunda oldukça büyük bir öneme sahiptir (Saraçlı, 2006).

Son yıllarda, biyofilm oluşturma özelliklerini kaybetmiş mutant mikroorganizmaların izolasyonları mümkün olabildiği için, biyofilm oluşumuyla ilgili genetik çalışmalar eskiye göre daha çok hız kazanmıştır. Mikroorganizmaların genetik faktörler aracılığıyla iletişime geçerek biyofilm oluşturmaları ve bu sayede belirli bir ortama kolayca adapte olmaları, onları tıbbi ve endüstriyel alanlarda son derece önemli kılmaktadır (Zhang, 2003). Bu bağlamda; mikroorganizmalarda biyofilm oluşturma davranışını kontrol eden bir çok genetik yolun varlığı söz konusudur (O'Tootle, 2000).

2.4.2. Bakterilerde Quorum sensing

Quorum sensing mekanizmasında kullanılan sinyal molekülleri türden türe değişiklik göstermektedir. Bu moleküller genel olarak incelendiği takdirde, bakterilerin gram negatif veya gram pozitif olmalarına bağlı olarak;

- Açıl – Homoserin Lakton (AHL veya HSL Türevleri)
- Oligopeptitler
- Furanosil Borat Diester Türevleri

olmak üzere 3 ayrı grupta toplanmaktadır. Gram negatif mikroorganizmalarda genellikle AHL tipi sinyal moleküllerine rastlanırken, Oligopeptit sinyal moleküllerinin, çoğunlukla Gram pozitif mikroorganizmalarda görev aldığı tespit edilmiştir (Miller and Bassler, 2001). Furan türevlerinin ise, bazı Gram negatif veya Gram pozitif mikroorganizmalarda, ikinci sinyal molekülü olarak görev aldıkları bilinmektedir.

Gram pozitif bakterilerde görev alan sinyal molekülleri genellikle 9–10 aminoasitten oluşmaktadır ve bu aminoasitlerin sayısı, sırası ve kompozisyonları türden türe değişiklikler göstermektedir. 1998 yılında, *S. epidermidis*'e ait quorum sensing molekülüne yönelik yapılan bir çalışmada, molekülün; 8 aminoasitten oluştuğu ve merkezi sistein residüsü ile C terminali arasında bir tiyoester bağının yer aldığı tespit edilmiştir (Otto et al., 1998).

Gram negatif mikroorganizmalarda genellikle, AHL tipi quorum sensing iletişimi gözlenmekte olup, bu sistemin; 2 operonda organize olmuş 7 gen (*luxR*, *luxI*, *luxC*, *luxD*, *luxA*, *luxB* ve *luxE*) tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir.

2.4.3. Mantarlarda Quorum sensing

Mantarlar üzerinde uygulanan quorum sensing çalışmaları yeni yeni hız kazanmaktadır. Bu bağlamda, çalışmaların çoğunda, farnesol molekülünün önemi üzerinde durulmaktadır. 2001 yılında yapılan bir araştırmaya göre, insan patojeni olan *C. albicans* türü fungusların hücre morfolojileri farnesol molekülü tarafından belirlenmektedir. İlave olarak, bu ekstraselüler molekülün, termostabil olduğu ve 23–43°C aralığında maya hücrelerinin miktarıyla doğru orantılı olacak şekilde

üretildiği bildirilmiştir (Hornby et al., 2001). Kırktan fazla sayıda farnesol molekülü analogunun tespit edildiği bir diğer çalışmada ise; farnesol molekülünün yapısının, quorum sensing aktivitesiyle oldukça yakından ilişkili olduğu açıklanmaktadır (Shchepin et al., 2003).

2.5. Biyofilmlerin Önemi

Derin yer altı suları ve okyanusların derinlikleri hariç, tüm doğal ekosistemde oluşabildiği tespit edilen biyofilmler en başta kataterler; kalp pilleri, protez kalp kapakçıkları, ortopedik protez ve kontakt lensler gibi çeşitli vücut içi kullanımı olan biyomateryallerin yol açtığı enfeksiyonlardan ve bir çok kronik hastalıktan sorumlu tutulmaktadır (Costerton, et al. 1995; Costerton, et. al. 1999). Bu hastalıklar arasında ise; kistik fibroz gibi kronik akciğer rahatsızlıklarının yanı sıra, doğal kapak endokarditi, osteomyelit, kronik bakteriyal prostatit, ortakulak enfeksiyonları yer almaktadır (Donlan et al., 2002).

Nozokomiyal enfeksiyonlara sebebiyet vermekte olduğu gözlenen cihazların yüzeyleri, elektron mikroskopuyla incelendiği taktirde; bu alanlarda, jelsi tabakayla kaplanmış bakteri topluluklarına rastlanmıştır (Khoury et al., 1992). Cihaz ilişkili olmayan kronik enfeksiyonların gözlendiği bölgelerden alınan doku örneklerinde de yine benzer şekilde, EPS ile kaplı halde bulunan bakterilerin yer aldığı biyofilm tabakası ile karşılaşmıştır (Costerton et al., 1999). Bu bağlamda yapılan araştırmalar; nozokomiyal enfeksiyonların %60'ının biyofilm ilişkili olarak geliştiğini, biyofilm kaynaklı enfeksiyonların büyük bir çoğunluğuna ise, Koagülaz–Negatif Stafilokoklar'ın neden olduğunu göstermektedir (Huebner et al., 1994; Archibald et al., 1997; Fridkin et al., 1997; Goldmann et al., 1997).

Çeşitli enfeksiyonlara karşı kullanılan antibiyotik tedavileri, hastalık belirtilerini ortadan kaldırılabile bile, ortamda oluşmuş olan biyofilmi yok edememektedir (Marrie et al., 1982). Bu sebepten ötürü, biyofilm kaynaklı enfeksiyonlar, antibiyotik terapilerinden sonra bile tekrarlayıcı niteliktedir. Dolayısıyla, mevcut enfeksiyonun tamamen sona ermesi için, biyofilm tabakasının ve o tabaka içerisinde yer alan mikroorganizma topluluğunun ameliyat ile, vücut ortamından tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir (Costerton et al., 1995).

Günümüzde, biyofilm oluştuktan sonra izlenen tedavi yöntemlerinden verimli sonuçlar alınamamaktadır. Dolayısıyla, mikroorganizmaların belirli bir yüzeye tutunmalarını ve kolonize olmalarını önleyecek çalışmalar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu bağlamda, biyofilm oluşumunu başlamadan sonlandırabilmek amacıyla, çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Bu stratejiler arasından en kabul görmüş olanı ise; hasta vücuduna yerleştirilen biyomateryallerin, yerleştirilmeden önce antibiyotik veya gümüş iyonları gibi antimikrobiyal ajanlarla kaplanmasıdır.

Biyofilm oluşumu, bir çok klinik enfeksiyondan sorumlu olduğu gibi, başta gıda endüstrisi olmak üzere çeşitli endüstriyel alanlarda da ciddi sorunlara ve zararlara yol açabilmektedir. Su ve petrol borularında meydana gelen korozyonlar, söz konusu zararlara örnek teşkil etmektedir.

Su dağıtım sistemlerinde oluşan biyofilmlerin suda; koku ve tat değişimine neden oldukları tespit edilmiştir (Martins et al., 2007). İlave olarak, yapılan çalışmalardan elde edilen gözlemler; süt, et ve benzeri bir çok besin maddesinin üretimi sırasında, bu besinlerin içerdikleri kazein, jelatin gibi çeşitli cihaz üzerine yapışma özelliğinde olan proteinlerin, cihaz yüzeyindeki mikroorganizmal kontaminasyonu ve biyofilm oluşumunu artıracığı yönündedir (Martins et al., 2007). Bu bağlamda; alfa amilaz, glukonaz gibi çeşitli enzimler yardımıyla biyofilm oluşumunun engellenmesi ya da manyetik veya elektriksel alanlar oluşturarak bu tabakaların yok edilmesi hedeflenmektedir (Martins et al., 2007).

Biyofilm oluşumu; tıp alanında olduğu gibi, gıda endüstrisinde ve diğer endüstriyel alanlarda da büyük bir öneme sahiptir. Bu bağlamda bakteriyel hücreler; metalik yüzeylere bağlanarak biyokorozyonlara sebebiyet vermekte ve çeşitli boru hatları ile metal yüzeylerin bu yüzden aşırı derecede zarar görmelerine neden olmaktadır. Bu zararların giderilebilmesi için ise; milyon dolarlar harcanmaktadır (Beech et al., 2004). Dolayısıyla, bu alandaki çalışmalarda da; biyofilm oluşumunu başlamadan engellemek hedeflenmektedir (Fidan et al., 2005).

2.6. Antibiyotik Dirençliliğinde Biyofilm Oluşumunun Yeri

Uzun yıllar boyunca yapılan çalışmalara göre; biyofilm oluşturan hücreler, biyofilm oluşturmayan planktonik hücrelere kıyasla bir çok dış etkene karşı daha

dayanıklıdır (Mah and O'Toole, 2001). Günümüzde, biyofilm ilişkili nozokomiyal enfeksiyonların ve bu enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmaların antimikrobiyal dirençliliklerinin, günden güne artışı söz konusudur. Bu bağlamda, biyofilm oluşturan hücrelerin antibiyotik dirençliliklerinde rol oynayan faktörler üzerine bir çok araştırma yapılmaktadır.

Biyofilm oluşturan mikroorganizmaların antimikrobiyal dirençlilikleri incelendiği taktirde, bir çok mekanizmanın varlığından söz edilmektedir (Mah and O'Toole, 2001). Tek başlarına biyofilm oluşturan mikroorganizma türlerinin antibiyotik dirençliliklerinde rol oynayan mekanizmalar çeşitli başlıklar altında sıralanmıştır. Bu bağlamda; antimikrobiyal ajanların biyofilmin içerisine tam anlamıyla nüfuz edememesi ve biyofilm yapısının antimikrobiyal ajanlara karşı bariyer görevi üstlenmesi (Stewart, 1996); biyofilm oluşturmuş olan mikroorganizmaların, bu ortam içerisinde bulunurken, olası besin azlığı ve açlığa karşı önlem almak amacıyla büyüme oranlarını düşürmeleri (logaritmik fazdan, denge fazına geçmeleri) ve bu durumun onları daha dayanıklı kılması; biyofilm oluşturan mikroorganizmaların çevresel faktörler tarafından yönlendirilmiş bir genotipe sahip olmaları; biyofilmlerin nükleik asitler, atık ürünler ve sinyal molekülleri gibi çeşitli maddeleri içerisinde barındırmasına bağlı olarak heterojen bir yapıda bulunmaları; quorum sensing mekanizmasının varlığı ve biyofilm oluşturmak üzere uyarılmış olduğu bilinen mikroorganizmaların, fenotipik olarak antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlilik özelliği sergilemeleri biyofilm oluşturan mikroorganizmaların, antimikrobiyal ajanlara karşı olan dirençliliklerinde rol oynadığı düşünülen mekanizmalar olarak bildirilmektedir (Tuomanen et al., 1986; Wentland et al., 1996; Gilbert et al., 1997; Brooun et al., 2000; Cochran et al., 2000; Maira-Litran et al., 2000; Türetgen, 2006).

2003 yılında yapılan bir diğer araştırmaya göre ise, nozokomiyal hastalıklara neden olan mikroorganizmalardaki antimikrobiyal dirençliliğin yayılmasındaki en önemli etken; horizontal gen alış – verisi olarak bildirilmiştir (Parsek and Singh, 2003).

Bilindiği gibi, biyofilmlerin ekstraselüler matriksinde çok fazla miktarda nükleik asit bulunmaktadır (Sutherland, 2001; Whitchurch et al., 2002); çünkü biyofilm oluşan ortamdaki yüksek bakteri konsantrasyonu ve bu bakterilerin lizize uğraması; o

bölgedeki nükleik asit artışına neden olmaktadır. Nükleik asit artışı ise; hücreler arası horizontal gen transferini tetiklemekte ve mikroorganizmaların genetik anlamda yeni özellikler kazanmalarına yol açmaktadır (Parsek and Singh, 2003). Bu bağlamda mikroorganizmalar, önceden duyarlı oldukları antibiyotiklere karşı, zamanla dirençli hale gelirler. Mikroorganizmanın, biyofilm oluşumu ile antibiyotik dirençliliği özelliklerinin ikisine birden sahip olması ise; onu kendi türüne ait diğer suşlardan, çok daha patojen hale getirmektedir.

Yapılan bir çok çalışmaya göre; biyofilmler içerisindeki en fazla horizontal gen transferi; transformasyon ile gerçekleşmektedir. Konjugasyon ve Transdüksyon mekanizmaları ise; bu bağlamda ikinci sırada yer almaktadır (Beaudoin et al., 1998; Christensen et al., 1998; Hausner and Wuertz, 1999; Piper and Farrand, 1999; Parsek and Singh, 2003).

Transformasyon; ortamdaki DNA parçacıklarının alıcı bakteriye geçmesi olayına dayanan bir gen alış verişi mekanizmasıdır. Bu bağlamda, DNA parçacıklarını, kendi yapıları içerisine alabilen (Kompetan) bakteriler yeni özellikler kazanmaktadır.

Konjugasyon; birbirleriyle temas halinde olan bakterilerin pilusları aracılığıyla kendi aralarında gerçekleştirdikleri bir gen alış – verişi mekanizmasıdır. Bu bağlamda, biyofilm içerisindeki mikroorganizmaların; yüksek yoğunlukta, oldukça yakın bir mesafede ve sabit bir şekilde yer alıyor olmaları, onların konjugasyon yapmalarına neden olmaktadır. Bu sayede bir çok yeni özellik, bir suştan diğer suşa aktarılmakta ve suşlar; önceden duyarlı oldukları bir antimikrobiyal ajana karşı, zamanla dirençli hale gelebilmektedir. Dolayısıyla bu suşlar, biyofilmden ayrıldıktan sonra bile, kazanmış oldukları yeni özellikler sayesinde, bir çok antimikrobiyal ajandan korunabilmektedir (Parsek and Singh, 2003).

Transdüksyon; bir bakteriye ait herhangi bir kromozom segmentinin, faj aracılığıyla diğer bir bakteriye taşınması durumudur. Faj, litik siklusa girerken, bakterinin kromozomuna tutunur ve bakteri hücresi eridikten sonra kazandığı yeni DNA parçacıklarını, kendi DNA molekülüyle birlikte yeni hücreye entegre eder. Dolayısıyla hücre, yeni özellikler kazanmış olur.

2005 yılında yapılan bir araştırmaya göre; biyofilm oluşumunun, antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirilmiş bir adaptasyon olabileceği yönünde iddialar da ortaya atılmıştır (Hoffman et al., 2005). Bütün bu sebeplerden ötürü, biyofilm oluşturan mikroorganizmaların, serbest mikroorganizmalara kıyasla antibiyotiklere karşı daha dirençli oldukları gözlenmektedir.

2.7. Biyofilm Oluşturan ve Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Günümüzde; biyofilm oluşumuna neden olan mikroorganizmalar; doğal seyirli hastalıkların yanı sıra, bir çok yabancı cisim enfeksiyonlarından da sorumlu olmakta ve insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Özellikle, hastanelerde giderek artan oranlarda kullanılan biyomateryal uygulamaları ve bu uygulamalar sonucunda gelişen enfeksiyonlar, biyofilmin ve biyofilm oluşumuna neden olan mikroorganizmaların önemini her geçen gün daha da fazla artırmaktadır.

Yabancı cisimlerde oluşan biyofilmler; *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Streptococcus viridans* gibi gram pozitif bakteriler ile *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram negatif bakterilerden oluşabildiği gibi *Candida albicans* gibi çeşitli maya türleri tarafından da oluşturulabilmektedir. İlave olarak biyofilmler, çeşitli çevresel koşullara bağlı olarak tek bir türün veya birden fazla türün bir araya gelmesiyle meydana gelmektedir (Donlan, 2001).

2.7.1. *Staphylococcus epidermidis*

Micrococaceae familyasında yer alan *Staphylococcus* genusu; ilk defa 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmıştır (Waldvogel, 2000). İnsan derisi ve burun boşluğu ile toprakta yaşam süren stafilokoklar; koagülaz oluşturup oluşturmamalarına göre iki ana gruba ayrılmaktadır. Koagülaz testine olumlu sonuç veren türlerin büyük çoğunluğunu *S. aureus* suşları oluşturmaktayken, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis* ve *S. saprophyticus* gibi türler, koagülaz testine negatif sonuç veren *Staphylococcus* türleridir (Batıkutlu, 2006).

2.7.1.1. *S. epidermidis* Suşlarının Morfolojileri ve Kültür Özellikleri

Kanlı agar üzerinde; yuvarlak, beyaz renkli ve 1–4 mm çapında düzgün koloniler oluşturmakta olan *S. epidermidis* türü mikroorganizmalar, gram pozitif olup,

mikroskop altında; kümeler halinde, üzüm salkımı gibi toplanmış koklar şeklinde gözlenmektedir. Bu türe ait mikroorganizmalar tarafından spor oluşumu söz konusu değildir (Batıkutlu, 2006).

Fakültatif anaerobik özellikte olan bu mikroorganizmaların, optimum üreme sıcaklıkları; 30–37°C arasında seyrederken, optimum gelişim gösterdikleri pH değeri; 7.0–7.5 arasındadır. *S. epidermidis* türleri, *S. aureus* türlerinin aksine kanlı agar üzerinde hemoliz yapma özelliğine sahip değildir; fakat her iki mikroorganizma birden, %7,5–10 NaCl içerikli ortamda gelişim gösterebilme yeteneğine sahiptir (Batıkutlu, 2006).

2.7.1.2. *S. epidermidis* Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri

Oksijen ile karşılaşan mikroorganizmaların çoğunda, katalaz enzimi üretimi söz konusudur. Bu bağlamda, çoğunluğu fakültatif anaerobik özellikte olan *S. epidermidis* türleri de bu enzimi içermektedir. Bakterinin metabolik süreci sonunda, ortama salınan hidrojen peroksit, bakteriler için toksik bir yapıda olduğundan katalaz enzimi ile O₂'ye ve H₂O'ya dönüştürülür (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999).

Koagülaz enzimi, bir çok mikroorganizma tarafından oluşturulmakta olup, fibrinojenin fibrine dönüşmesinde rol oynamaktadır. Koagülaz, öncelikle plazmadaki protrombin ile reaksiyona girerek kompleks oluşmasına neden olur. Bu kompleks oluşumu ise, trombin aktivasyonuna neden olarak fibrinojenin fibrine dönüşmesinde etkili olmaktadır. Fibrinojenin fibrine dönüşmesi ise, plazmanın koagülasyonu olarak sonuçlanır. Mikroorganizma, bu sayede çevresini fibrin tabakası ile sararak kendisini fagositozdan ve çeşitli savunma elemanlarından korur. *Staphylococcus epidermidis* türü mikroorganizmalar, bu enzime sahip olmamalarıyla, *Staphylococcus aureus* türü mikroorganizmalardan ayrılır (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999).

DNaz enzimleri, endonükleaz ve ekzonükleaz aktivitesine sahip olup nükleik asitleri 3'-fosfomononukleotidlere parçalayan fosfodiesterazlardır. *Staphylococcus epidermidis* türleri bu enzime sahip değildir (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999).

Staphylococcus aureus gibi bazı mikroorganizmalar tarafından karbonhidrat kaynağı olarak kullanılabilen mannitolün, *Staphylococcus epidermidis* türü mikroorganizmalar tarafından kullanımı söz konusu değildir. *S. aureus* türleri, mannitol fermentasyonu yaparak asit oluştururken *S. epidermidis* türlerinde böyle bir fermentasyon söz konusu olmaz ve bu özellikleri sayesinde *S. epidermidis* türleri, *S. aureus* türlerinden ayrılırlar (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999).

Staphylococcus epidermidis türü mikroorganizmaların, albamisin veya katomisin olarak da bilinen novobiyosin antibiyotiğine karşı duyarlı oldukları bilinmektedir. Bu antibiyotiğe karşı duyarlı olmaları, onların identifikasyonlarında, özellikle *Staphylococcus saprophyticus* türlerinden ayrılmalarında büyük bir önem teşkil etmektedir.

2.7.1.3. *S. epidermidis* Suşlarının Virülans Faktörleri

❖ *Staphylococcus epidermidis* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

S. epidermidis suşlarında biyofilm oluşumu; ilk kez 1972 yılında gözlenmiş olup (Bayston and Penny, 1972) sonrasında yapılan bir çok çalışma ile doğrulanmıştır (Bayston and Rodgers, 1990; Hselm and Etherden, 1991; Kiraz, 1993). İlerleyen yıllarda, biyofilm oluşumunun; *S. epidermidis* suşlarında virülansı artırdığı anlaşılmıştır (Magued et al., 1985; Davenport et al., 1986; Kloos and Lambe, 1990; Patrick et al., 1992; Deighton and Balkau, 1993).

Biyofilm oluşturduğu gözlenen *S. epidermidis* suşları tarafından çeşitli adhezinler sentezlenmektedir ve bu sentezlenen ekstraselüler yapılar, suşların sabit bir yüzeye tutunmalarını sağlayarak, biyofilm oluşumlarını olumlu yönde etkilemektedir. Bu bağlamda; Kapsüler Polisakkarit Adhezini (PSA) ile Polisakkarit İnterselüler Adhezin (PIA), *S. epidermidis* tarafından sentezlenen çok önemli iki adhezine örnektir (O'Gara and Humphreys, 2001). *S. epidermidis* suşlarında birincil tutunma işlemi PSA tarafından gerçekleştirilirken, hücrelerin bir arada kalma işlemi PIA sayesinde düzenlenmektedir (Mack et al., 1992; Mack et al., 1994).

Polisakkarit adhezinlerin üretimi için gerekli tüm genleri içeren *ica* gen kümesi; ilk kez *S. epidermidis* suşlarının izolasyonlarında identifiye edilmiştir (Heilmann et al., 1996; Heilmann and Further, 1998). Geçmişte yapılmış bir çok çalışmaya göre, *S. epidermidis* enfeksiyonlarında *ica* gen kümesi rol oynamaktadır. Örneğin; 1997 yılında yapılmış bir çalışmada, kan kültüründen izole edilen *S. epidermidis* türlerinin %85' inin, *ica* genleri içerdiği tespit edilmiştir (Ziebuhr et al., 1997); Günümüzde ise; bu gen kümesine sahip olup da patojen olmadığı gözlenen *S. epidermidis* türlerinin varlığı da söz konusudur; fakat mevcut *ica* gen kümesi; tıbbi cihazlar üzerindeki kolonizasyonu ve yabancı cisim enfeksiyonlarının oluşumunu kolaylaştırmaktadır.

2000 yılında yapılan bir çalışmada, *ica* gen kümesinin, eklem protezlerinde enfeksiyonlara neden olan *S. epidermidis* türleriyle, kommensal *S. epidermidis* türlerinin ayrılmasında genetik olarak kullanılabilinecek tek marker olduğu açıklanmaktadır (Galdbart et al., 2000). 1999 yılında deney hayvanları üzerinde uygulanmış bir diğer çalışmaya göre ise, kateter enfeksiyonlarına neden olan *S. epidermidis* suşlarının, *ica* operonu içerdikleri ve polisakkarit adhezinini ürettikleri tespit edilmiştir (Rupp et al., 1999).

Yapılan çalışmalara göre; vücut içerisine yerleştirilen materyalin kimyasal yapısı, yüzeyin hidrofobik özelliği, ortamın pH'sı, magnezyum veya kalsiyum gibi çeşitli iki değerlikli katyonların ve eser elementlerin ortamdaki varlığı, *S. epidermidis* suşlarında adhezyonu etkilemektedir (Bakter et al., 1990; Timmerman et al., 1991; Elçi vd., 1995; Songur vd., 1995).

❖ Ekstraselüler Enzimler ve Toksinler

S. epidermidis türü mikroorganizmalarda, *S. aureus* türü mikroorganizmaların aksine, daha sınırlı ve az sayıda dokuya zarar verici ekzoenzim ve toksin üretimi söz konusudur. Bu bağlamda *S. epidermidis* türleri; ekstraselüler metalloproteaz ile sistein proteaz aktiviteleri göstermektedir (Sloot et al., 1992; Teufel and Gotz, 1993). Her iki protein aynı zamanda elastaz aktivitesi (Proteolitik Aktivite) de göstermekte ve doku harabiyetlerine neden olmaktadır.

S. epidermidis tarafından üretilen toksin ise; çoğunlukla δ -toxindir (McKevitt et al., 1990). Bu toksin, hücre zarında porlar oluşturarak, eritrosit hücrelerinin

parçalanmasına neden olmaktadır (Gemmell and Thelestam, 1981). İlave olarak, makrojen hücrelerini uyarıp sitokinlerin sentezlenmesini düzenleyen δ -toxin, yangısal polipeptit kompleksinin oluşumunda da görev almaktadır (Mehlin et al., 1999).

2.7.1.4. *Staphylococcus epidermidis* Enfeksiyonları

Staphylococcus genusu; deri enfeksiyonlarından, ölümcül hastane enfeksiyonlarına kadar bir çok alanda rahatsızlıklara sebebiyet verici bakteri gruplarını içeren bir genus olarak bilinmektedir. Bu genus içerisinde yer alan bakterilerin yayılmasını önlemek amacıyla geniş çapta önlemler alınmış olsa da, dünya çapında bu türlerin direnişlerinin ve enfeksiyonlara neden oluşlarının önüne geçilebilmiş değildir (Gill et al., 2004). Bu bakteriler, yılda bir milyondan fazla ciddi rahatsızlıktan sorumlu tutulmaktadır (Projan and Novick, 1997).

Koagülaz negatif Stafilokoklar grubunda yer alan *Staphylococcus epidermidis*; uzun yıllar boyunca insan derisinde ve çeşitli mukoz membranlarda bulunan zararsız bir bakteri olarak kabul edilmekteyken, günümüzde; sentral venöz kateterler, idrar yolu kateterleri, protez kalp kapakçıkları ve kontakt lensler gibi çeşitli tıbbi implantlar üzerinde kolonize olarak, nozokomiyal enfeksiyonlara neden olmaktadır (Vogel et al., 2000; Xu et al., 2006). Bu nedenle, *S. epidermidis* türü bakteriler; fırsatçı patojenler olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda, *S. epidermidis* suşlarının; toplumda ciddi sağlık sorunlarına yol açtıkları, hastane kaynaklı enfeksiyonların en önemli etkenlerinden biri oldukları ve uzun süreli rahatsızlıklardan, hatta bazı durumlarda ölümlerden bile sorumlu olabilecekleri, belirtilmektedir (O’Gara and Humphreys, 2001; Vuong et al., 2003).

S. epidermidis üzerine yürütülen epidemiyolojik çalışmalar, genellikle implant ve tıbbi cihaz kaynaklı hastane enfeksiyonları üzerinde yoğunlaşmaktadır; çünkü bu enfeksiyonların çoğu; *S. epidermidis* türü mikroorganizmaların kolonizasyonları sonucu ortaya çıkmaktadır (Huebner and Goldmann, 1999). Bu mikroorganizmalar tarafından oluşturulan enfeksiyonlar, kalıcı ve tekrarlayıcı niteliktedir. Bu bağlamda, koagülaz negatif stafilokokların epidemiyolojik analizlerinde genellikle akla gelen ilk soru, enfeksiyondan sorumlu olan türlerin, hastanın veya hasta bakıcının derisinden mi bulaştığı, yoksa belirli bir bölgedeki suşların zamanla daha

çok virulans özellik kazanmasından mı kaynaklandığı yönündedir (Huebner and Goldmann, 1999). *S. epidermidis* suşlarının, biyomateryaller üzerindeki yüksek kapasitedeki kolonizasyonları ise; bir çok yeni tedavi yöntemlerini ve enfeksiyon öncesi tedbirleri beraberinde getirmektedir.

1995 yılında yapılmış iki farklı araştırmaya göre; katater nedenli enfeksiyonların %50–70'ine (Archer, 1995); protez kalp kapakçığı nedenli enfeksiyonların ise %40–50'sine (Ing et al.,1995); *S. epidermidis* ve diğer koagülaz negatif stafilokoklar neden olmaktadır.

2.7.2. *Proteus mirabilis*

Enterobacteriaceae familyasında bulunan *Proteus* genusu; toprakta, suda ve insan gastrointestinal sisteminde yaşayabilen ve insanlarda enfeksiyonlara sebebiyet veren türler içermektedir. Bu genusa ait mikroorganizmalar; hareket organelleri içermeleri, H₂S oluşturmaları ve üreaz enzimine sahip olmaları bakımından bir çok mikroorganizma türünden rahatlıkla ayrılabilir (Coker, 2000).

Proteus genusunda klinik anlamda öneme sahip olan türler; *P. mirabilis*, *P. vulgaris* ve *P. penneri* türleridir. Bu bağlamda bir çok farklı ülkede yapılan çalışmalar; *Proteus* türleri arasında klinik olarak en sık karşılaşılan türün; *P. mirabilis* türü olduğunu göstermektedir (Jones et al., 2003).

2.7.2.1. *Proteus mirabilis* Suşlarının Morfolojileri ve Kültür Özellikleri

P. mirabilis türü mikroorganizmalar; kanlı agar üzerinde, kirli beyaz renkli ve bulut gibi dalga dalga yayılan koloniler halinde görünürken, mikroskop altında; gram negatif, basiller şeklinde gözlenmektedir. Bu türe ait mikroorganizmalar tarafından spor oluşumu söz konusu değildir. Kanlı agar üzerinde bulutsu bir görünüm sergilemeleri ise; hareket organellerine (peritriş flagellalar) sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (Senior, 2004). *P. mirabilis* suşlarının, sahip oldukları bu organeller; besiyerinin tamamına yayılmalarında olduğu gibi vücut içine kolonize olmalarında da onlara avantaj sağlamaktadır.

Fakültatif anaerobik özellikte olan bu mikroorganizmaların, optimum üreme sıcaklıkları; 34–37°C arasında seyredirken, optimum gelişim gösterdikleri pH değeri; 7.0–7.5 arasındadır (Senior, 2004).

2.7.2.2. *Proteus mirabilis* Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri

P. mirabilis türü suşlar, *P. vulgaris* türü suşlardan; indol negatif oluşlarıyla, *P. penneri* türü suşlardan ise; ornitin dekarboksilaz enzimine sahip oluşlarıyla ayrılmaktadır (Senior, 2004).

Proteus mirabilis suşlarında, triptofanaz enziminin varlığı söz konusu değildir. Bu bağlamda, *P. mirabilis* suşlarının triptofanlı besiyerinde inkübasyonları; triptofanın parçalanmasıyla sonuçlanmadığı gibi, indol, pirüvik asit ve amonyak ürünlerinin ortaya çıkması da söz konusu olmaz; yani *P. mirabilis* suşları indol testine negatif sonuç vermektedir (Senior, 2004).

Proteus mirabilis suşları karışık asit fermentasyonu yapmakta ve ortam pH'sının 4.4.'ün altına düşmesine neden olmaktadır. Bu bağlamda Metil Kırmızısı testi bu türe ait mikroorganizmalarda olumlu sonuçlanmaktadır (Garrity et al., 2005). *Proteus mirabilis* türü mikroorganizmalar, laktozu fermente etme özelliğine sahip değildir (Garrity et al., 2005).

Proteus mirabilis suşları sitratı karbon kaynağı olarak kullanabilmekte ve açığa çıkardığı bazik ürünlerle, ortam pH'sının yükselmesine neden olmaktadır (Garrity et al., 2005).

P. mirabilis türü mikroorganizmalar, proteinlerin ve aminoasitlerin anaerobik ortamda yıkılmasından sorumludur. Bu bağlamda bu türe ait suşlar, pütrefaksiyon yapmakta ve aminoasitleri yıkarak, H₂S oluşumuna yol açmaktadır. Dolayısıyla, bu türe ait mikroorganizmaların kötü bir koku yaydıkları bilinmektedir (Garrity et al., 2005).

P. mirabilis türü mikroorganizmalar; üreyi hidroliz eden üreaz enzimine sahiptir (Coker et al., 2000). Bunun sonucunda ise; bazik ürünler açığa çıkmakta ve ortamın pH'sı yükselmektedir.

2.7.2.3. *Proteus mirabilis* Suşlarının Virülans Faktörleri

Proteus mirabilis türü kaynaklı enfeksiyonlarda, bu mikroorganizmaların; flagella gibi hareket organeline sahip oluşları, fimbria ve adhezinler gibi tutunmalarını

kolaylaştırıcı yapılar içermeleri, biyofilm oluşturmaları ve üreaz ile çeşitli proteaz enzimleri içeriyor olmaları gibi etkenler rol oynamaktadır (Coker et al., 2000).

Normal koşullar altında gastrointestinal bölgede doğal flora elamanı olarak yaşamlarını sürdüren *P. mirabilis* türü mikroorganizmaların, idrar yolu enfeksiyonlarına neden oluşlarının altında yatan başlıca sebep; periüretal alandaki dışkı kontaminasyonudur (Coker et al., 2000). Bu bağlamda araştırmacılar, tuvalet alışkanlığının, *P. mirabilis* kaynaklı enfeksiyonların ortaya çıkışında önemli olduğu gerçeğini vurgulamaktadır; çünkü periüretal bölgenin *P. mirabilis* suşu ile kontamine olması, bu mikroorganizmanın mesaneye kadar ilerlemesiyle ve ilerlediği bölgelerde enfeksiyona neden olmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu sonuç ise; *P. mirabilis* suşlarının flagella organeline sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (Liaw et al., 2000).

P. mirabilis suşları, mesaneye ulaşır ulaşmaz, mesane epitel dokusu gibi mukozal yüzeylere spesifik; çok sayıda fimbria oluşturmaya başlamaktadır. Bu sayede mesanede sabit kalmayı başaran *P. mirabilis* suşları, aynı bölgede kolonize olarak, enfeksiyona neden olur. Bu bağlamda, *P. mirabilis* suşları tarafından oluşturulan bir çok fimbria varlığı söz konusudur (Bijlsma et al., 1995; Tolsan et al., 1995); fakat bu suşların vücut dokusundaki kolonizasyonlarını tetikleyen iki çeşit fimbria varlığından söz edilmektedir. Bunlar; MR/P (Mannose Resistant Proteus) ve PMF (Proteus mirabilis Fimbria) olarak adlandırılmaktadır. Yapılan çalışmalara göre, PMF tipi fimbrialar; mesanedeki, MR/P tipi fimbriaların ise; böbreklerdeki kolonizasyonda etkili olmaktadır (Coker et al., 2000). Bu bağlamda; MR/P tipi fimbriaların varlığı; mesane enfeksiyonu olan Sistit'e, PMF tipi fimbriaların varlığı ise; böbrek rahatsızlığı olarak bilinen Pyelonefrit'e yol açmaktadır.

Proteus mirabilis tarafından sentezlenen üreaz enzimi, ürenin hidrolizine neden olmaktadır. Ürenin hidrolizi ise; karbondioksit gazı ve amonyak çıkışı ile sonuçlanmaktadır. Bu sayede ortaya çıkan amonyak; pH'nın yükselmesine ve ortamın bazik olmasına yol açar. Normal koşullar altında, bu ortamda çözülmüş olarak yer alan kalsiyum ve magnezyum iyonları ise; artan pH koşulları nedeniyle çökelmeye başlar (Morris et al., 1999) ve bunun sonucunda; karbonat hidroksiapatit kristalleri oluşumu söz konusu olur (Griffith et al., 1976). Söz konusu kristalize yapılar, idrar yollarında katater bulunan hastaların, kataterlerinde

tıkanmalara neden olmakta ve hastayı olumsuz yönde etkilemektedir. İlave olarak, bu kristallerin içerisinde mahsur kalmış *P. mirabilis* suşları; replike olarak çoğalmakta, tekrarlayan enfeksiyonlara neden olmakta ve çeşitli antimikrobiyal ajanlardan korunarak tedavilerden kurtulma şansı elde etmektedir (Coker et al., 2000).

P. mirabilis türü mikroorganizmalarda, insan savunma sisteminde görevli olan; IgA molekülünü degrade edici proteaz aktivitesi söz konusudur ve bu duruma; *P. mirabilis* enfeksiyonu geçiren hastaların idrar örneklerinde rastlanmıştır (Senio et al., 1991; Loomes et al., 1992). Yapılan araştırmalara göre; *P. mirabilis* suşları, bu enzimi; yüzücü özellikteyken değil, kayma özelliğindeyken sentezlemektedir; fakat kayma hareketi ile IgA proteazı sentezleme davranışları, birbirlerinden bağımsız olarak gelişmektedir (Walker et al., 1999).

Mukozal bağışıklıkta rol oynayan IgA proteininin degradasyonu, *P. mirabilis* suşlarının idrar yollarında daha kolay yayılmaları ile sonuçlanmakta ve ilerleyen idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Bu bağlamda, *P. mirabilis* suşunun bu enzimi sentezlemesi, virülansını olumlu yönde etkilemektedir.

P. mirabilis türü mikroorganizmalar tarafından sentezlenen hemolizin toksini; ökaryotik hücre membranlarında por oluşumuna yol açarak hücreye zarar verici etkiye bulunmaktadır. Bu bağlamda bu madde sitotoksik bir maddedir. Dolayısıyla, idrar yollarının *P. mirabilis* ile kolonizasyonu; idrar yolu epitel hücrelerinin parçalanması ile sonuçlanmaktadır. Bu bağlamda, *P. mirabilis* suşları tarafından sentezlenen hemolizin toksini, bu mikroorganizmaların virülansında önemli bir rol oynamaktadır (Braun and Focareta, 1991; Liaw, 2000).

Yapılan çalışmalara göre; hemolizin sentezleyen yabancı tip *P. mirabilis* suşları, gentamisin antibiyotiğine karşı daha duyarlıdır; çünkü hemolizin toksinlerinin, epitel hücreleri üzerinde neden oldukları porlar; mevcut antibiyotiğin, *P. mirabilis* hücrelerine erişimini kolaylaştırmaktadır. İlave olarak, *P. mirabilis* suşları tarafından sentezlenen hemolizinler; *P. mirabilis* enfeksiyonlarının böbreklere taşınmasında ve akut pyelonefrit hastalığının başlangıcında görev almaktadır (Coker et al., 2000).

P. mirabilis suşlarında biyofilm oluşumu; tekrarlayan enfeksiyonlara ve ekonomik kayıplara yol açması bakımından oldukça önemlidir. Son yıllarda; vücut içerisine yerleşimi söz konusu olan kataterlerin ve idrar sondalarının biyofilm oluşturan *P. mirabilis* suşlarıyla kontamine oldukları ve kalıcı enfeksiyonlara neden oldukları gözlenmektedir. Yapılan çalışmalar, *P. mirabilis* suşlarının yol açtıkları böbrek taşlarının yüzeyinde bile, biyofilm oluşumu söz konusu olduğunu göstermektedir (Lindsay and Von Holy, 2006).

2.7.2.4. *Proteus mirabilis* Enfeksiyonları

Normal koşullar altında, gastrointestinal florada doğal flora elemanı olarak yer alan *P. mirabilis* suşları; nozokomiyal enfeksiyonlardan, idrar yolu enfeksiyonlarına kadar bir çok rahatsızlığa sebebiyet vermektedir (Feglo et al., 2010). Bu bağlamda, bu türe ait mikroorganizmaların en sık gözleendiği enfeksiyonlar; idrar yolu enfeksiyonlarıdır (Baysallar vd., 2002).

Günümüzde, idrar sondaları ve kataterler gibi vücut içi yerleşimi söz konusu olan biyomateryallerin kullanımındaki artış, biyofilm oluşturma özelliği sergileyen *P. mirabilis* suşlarının klinik anlamda daha çok araştırılmasını gerektirmiştir. Yapılan araştırmalar; *Proteus* suşları arasından, idrar yolu enfeksiyonlarına en çok sebebiyet verdiği gözlenen türün; *P. mirabilis* türü olduğunu (Mobley, 1994) ve mevcut enfeksiyonların, vücut içi biyomateryal kullanımı ile doğru orantılı olarak arttığını göstermektedir (Stickler, 2008). Yapılan bir çalışmada; hastanelerde en sık gözlenen enfeksiyonun; katater kökenli idrar yolu enfeksiyonu olduğu açıklanmakta ve idrar sondalarının 5 günden fazla kullanımının; mikroorganizmal kolonizasyon ile sonuçlandığı bildirilmektedir (Teke vd., 2010).

P. mirabilis enfeksiyonlarının erken tedavi edilmesi gerekmektedir; çünkü yukarıda da belirtildiği gibi; *P. mirabilis* türü mikroorganizmaların mesane üzerindeki kolonizasyonları; sistit ile, böbrekler üzerindeki kolonizasyonları ise; pyelonefrit ve böbrek yetmezliği ile sonuçlanmaktadır (Senior, 2004).

Böbrek taşları olarak da ifade edilen hidroksiapatit kristalleri; idrar akışına engel olmaları bakımından, hastaya zarar vermektedir. İlave olarak, bu kristaller üzerinde mahsur kalan *P. mirabilis* suşları, biyofilm oluşturarak, tekrarlayan enfeksiyonlara neden olmaktadır (Coker et al., 2000).

2.7.3. *Candida albicans*

Saccharomycetaceae familyası içerisinde yer alan *Candida* genusu, maya formundaki fungus türlerinden oluşmaktadır (Berkhout, 1923). İnsan vücudunda; deride ve bağırsakta doğal flora elemanı olarak buldukları bilinen *C. albicans* türü mikroorganizmalar; sağlıklı erişkinlerin ağızlarından alınan örneklerin %40'ında, sağlıklı kadınların vajinal bölgelerinden alınan örneklerin ise; ortalama %25'inde zararsız olarak bulunmaktadır (Jenkinson and Douglas, 2002). *Candida* genusuna mensup olup da klinik anlamda önem teşkil eden türler; *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* ve *C. dubliniensis* olarak açıklanmaktadır. Bu türler arasından *C. albicans* türünün ise; diğer türlere nazaran daha fazla enfeksiyondan sorumlu olduğu saptanmıştır (Dorko et al., 2001).

2.7.3.1. *Candida albicans* Suşlarının Morfolojileri ve Kültürasyon Özellikleri

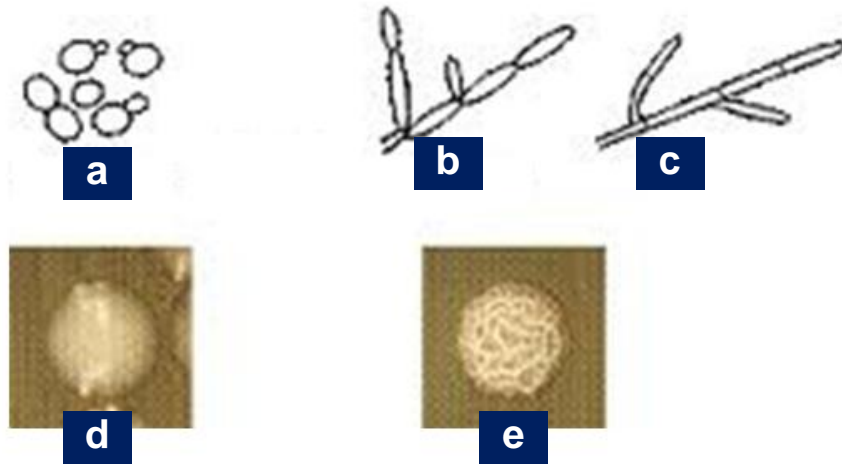
Dimorfik bir organizasyona sahip olan *C. albicans* türü mikroorganizmalar (Novak et al., 2003); laboratuvar ortamındaki standart koşullar altında maya hücrelerinden oluşmakta olup; pH, sıcaklık ve besin gibi çevresel koşulların değişmesine bağlı olarak yalancı hif oluşturmaktadır. İnsan dokusunda ise; bu mikroorganizmalar tarafından gerçek hifler meydana getirilmektedir. Bu bağlamda, bir çok bilim adamı; hif oluşumunun, virülans faktörlerinden biri olduğunu savunmaktadır (Pouloin et al., 1985; San-Blas et al., 2000; Calderone and Fonzi, 2001; Haidaris et al., 2001). Yapılan çalışmalar sonucunda; serumun, hif oluşumunu uyarıcı özellikte olduğu tespit edilmiştir (Hall et al., 2009).

C. albicans türlerinin dokudaki morfolojileri incelendiğinde, 3–4 mikron çapında tomurcuklanmış oval hücrelere ve 1–2 mikron eninde miselyumlara rastlanmaktadır. *C. albicans* türlerinin kültür morfolojileri incelendiği takdirde ise, 4–5 tane yuvarlak ve oval hücrenin bir arada bulunduğu mikroskobik bir görüntüye rastlanmaktadır. Hücrelerin çapları; besiyerinin yapısına ve kültürün yaşına bağlı olarak 2–14 mikron arasında değişkenlik göstermektedir. Maya fazındaki *C. albicans* hücresinin görüntüsü; ovoid olması bakımından limona benzetilmektedir.

C. albicans türlerinin koloni morfolojileri ise; hücre tipine bağlı olarak değişim göstermektedir. Sadece blastosporlardan oluşan koloniler; S tipi bir morfolojiye

sahipken, hem gerçek hiflerden, hem yalancı hiflerden, hem de blastosporlardan oluşan koloniler; R tipi bir morfolojiye sahiptir (Radford et al., 1994; Pesti et al., 1999) (Şekil 2.7.).

C. albicans türleri, bir çok besi ortamında üreyebilmekle beraber; *Sabouraud's* agar, mısır unlu agar ve patatesli nişasalı dekstroz agar, bu tür mikroorganizmaların en kolay gelişim gösterdikleri ortamlardır. 37°C 'de 1–4 günlük inkübasyonu takiben koloniler gözle görülür hale gelmektedir.



Şekil 2.7. *C. albicans* türünde; hücre tipine bağlı koloni morfolojisi

(a; blastosporlar, b; yalancı hifler, c; gerçek hifler, d; S tipi koloni, e; R tipi koloni)

(http://www.sacmm.org/faculty/kadosh_research.html)

2.7.3.2. *Candida albicans* Suşlarının Çeşitli Biyokimyasal Özellikleri

C. albicans türlerinin biyokimyasal özellikleri incelendiği takdirde; bu türe ait mikroorganizmalar; glukoz, galaktoz ve maltoz fermentasyonu yapmakta laktozu ise kullanamamaktadır. Bu türe ait mikroorganizmaları diğer *Candida* türlerinden ayıran en önemli oluşum ise; Germ Tüp oluşumudur. *C. albicans* türleri germ tüp testine olumlu yanıt vermektedir (Ozkütük vd., 2003).

2.7.3.3. *Candida albicans* Suşlarının Virülans Faktörleri

C. albicans suşlarının neden oldukları enfeksiyonlarda; bu suşların konak epitel hücrelerine adherans özelliği, dimorfik organizasyona sahip olmaları, biyofilm

oluşturmaları, fenotipik değişim göstermeleri ve proteinaz ile fosfolipaz enzimlerine sahip olmaları gibi faktörler rol oynamaktadır.

❖ **Adherans**

C. albicans türleri konak hücrelerine, sahip oldukları adhezinler sayesinde tutunabilmektedir. Bu sayede mikroorganizmalar, konak hücrelerdeki; fibronektin, laminin, fibrinojen ve kollajen gibi bir çok hücre dışı matriks proteinine bağlanabilme özelliğine sahiptir (Hostetter, 1994; Sturtevant and Calderone, 1997; Chaffin et al., 1998).

• **Als1p ve Als5p**

C. albicans türlerinin, konak hücre yüzeyine kolonizasyonu, kendi hücre yüzey glikoproteinlerini kodlayan ALS (Agglutinin – like sequence) genlerinin ifade edilmesi sonucu gerçekleşmektedir. Als1p ve Als5p; *C. albicans* türleri tarafından üretilen ve *C. albicans* türlerinin, konak canlı hücrelerine tutunmalarında görev alan iki adhezin proteinidir (Calderone and Fonzi, 2001). ALS1 geninin ürünü olan protein ise; *Saccharomyces cerevisiae* türüne ait mikroorganizmaların eşleşmeleri sırasında hücre–hücre tanınmasını sağlayan “α agglutinin” proteininin homologudur (Hoyer, 2001).

• **Hwp1**

Hwp1 (Hyphal Wall Protein) geni; *C. albicans* türlerinde hif ve germ tüpü oluşumuna spesifik bir gendir ve bir yüzey proteinini kodlamaktadır (Staab et al., 1996; Sundstrom, 1999). Bu genin her iki alelinde birden meydana gelen mutasyon, hif oluşumunda kusura neden olmaktadır. Bu geni mutasyona uğramış olan suşlar, serum içeren bir ortamda yabanıl tipe kıyasla daha kısa ve az sayıda hiflenme göstermektedir. 2000 yılında yapılan bir çalışmada; Hwp1 genleri homozigot mutasyona uğramış olan *C. albicans* suşlarının, konakta enfeksiyon başlangıcına neden olabildikleri ama bu enfeksiyonu devam ettirmede kusurlu oldukları saptanmış, yabanıl tip suşların ise; kısa sürede konak canlılığının ölümüne neden oldukları gözlenmiştir. (Tsuchimori et al., 2000). Bu bağlamda elde edilen sonuçlara göre, Hwp1 geni ürünü, *C. albicans* türlerindeki in vivo hifsel gelişimi ve virülansı olumlu yönde

etkilemektedir. Hifsel gelişim yeteneği ise; fungusun, konak canlı dokusunun derinliklerine yerleşmesini sağlaması bakımından büyük bir önem teşkil etmektedir (Tsuchimori et al., 2000).

- **Int1**

Adherans ile ilgili bir diğer gen; İntegrin Gen'idir. İntegrin benzeri bir proteini kodlayan bu gen üzerinde meydana gelen herhangi bir mutasyon; *C. albicans* suşlarının epiteliyal hücreye adhezyonunu azaltmakta ve hif oluşumunda kusurlara neden olmaktadır (Calderone and Fonzi, 2001).

❖ **Morfolojik Değişim (Dimorfizm)**

Bölüm 2.10.3.2.' de açıklandığı gibi, *C. albicans* türü mikroorganizmalar dimorfizm göstermektedir; yani bu mikroorganizmalarda maya formu ile hifsel form arasında geri dönüşümlü bir geçiş yapabilme yeteneği söz konusudur. Bu morfolojik değişim, çeşitli çevresel koşullar altında sırası ile; maya (blastospor) oluşumu, germ tüpü (çimlenme tüpü) oluşumu, yalancı hif ve gerçek hif oluşumu aşamalarını kapsamaktadır (Molero et al., 1998). Enfeksiyon bölgelerinden alınan örneklerde hem maya hücrelerine hem de hif oluşumlarına rastlanmaktadır. *C. albicans* türlerinde hif oluşumu; 37°C'de, nötral pH'da ve serum varlığında; yani konak dokusu koşulları altında uyarılmaktadır (Abacı ve Haliki, 2004). Germ tüpü olarak adlandırılan bu ipliksi yapılar sayesinde hifli formlar; adhezyon ve virülans bakımından daha güçlü hale gelmektedir. Bu bağlamda, makrofajlar tarafından yakalanan maya hücrelerinin, hif oluşturularak makrofajı parçaladığı bildirilmektedir (Matthews and Burnie, 1998).

❖ **Biyofilm Oluşumu**

Günümüzde, özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış veya yüksek miktarlarda antimikrobiyal ajan içerikli tedaviye maruz kalmış hastalarda bir çok mikroorganizmanın uzun süreli kolonizasyonu söz konusu olmaktadır. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda uzun süreli enfeksiyonların kaynağı olarak, biyofilm oluşumu yapan mikroorganizmalar gösterilmektedir. Bakterilerden farklı olarak ökaryotik bir organizasyona sahip olan *C. albicans* türü mikroorganizmalar da, özellikle çeşitli tıbbi cihazların üzerinde biyofilm oluşturabilme yetenekleri

bakımından tıbbi anlamda büyük bir öneme sahiptir (Busscher et al., 1994; Busscher et al., 1997).

1994 yılında yapılan bir çalışmada *C. albicans* türü mikroorganizmaların, canlı dokularla beraber bir çok cansız yüzey üzerinde de kolonize olabildikleri ve biyofilm oluşturabildikleri tespit edilmiştir. Bu bağlamda biyofilm oluşumunun en iyi şekilde gözlemlendiği cansız yüzeylerin; latex veya silikon elastomer yapılı yüzeyler olduğu açıklanmıştır (Hawser and Douglas, 1994).

C. albicans türleri tarafından oluşturulan biyofilmler; maya hücreleri, yalancı hifli hücreler ve gerçek hifli hücreler gibi bir çok hücre tipinin karışımından ve polisakkarit ile protein içerikli ekstraselüler matriksten meydana gelmektedir (Kumamoto, 2002; Douglas, 2003). Biyofilm oluşturan bakteriyal hücrelerde olduğu gibi, biyofilm oluşturan *C. albicans* hücreleri de, biyofilm oluşturmeyen *C. albicans* hücrelerine kıyasla antimikrobiyal ajanlara karşı daha dayanıklıdır (Hawser and Douglas, 1995; Ramage et al., 2002; Ramage et al., 2003). Bu bağlamda, 1999 yılında yapılan bir çalışmada, *C. albicans* türlerinde, maya formundan hifli forma geçişin, biyofilm oluşumunda ve gelişiminde çok önemli bir yere sahip olduğu tespit edilmiştir (Baillie and Douglas, 1999).

Laboratuvar koşulları altında uygulanmış olan çalışmalara göre; *C. albicans* türlerinde biyofilm oluşumu üç aşamadan oluşmaktadır (Chandra et al., 2001; Douglas, 2003). Başlangıç aşamasında, maya hücreleri (blastosporlar) belirli bir dokuya penetre olurlar ve hemen ardından bölünmeye başlayarak mikrokolonilerden oluşan bir tabaka meydana getirirler. Böylece, hem çevreden gelebilecek antifungal ajanlara karşı korunmuş olurlar, hem de konak dokusundaki enfeksiyonu kalıcı kılmış olurlar.

Bir sonraki aşamada, bir yandan maya hücreleri çoğalmaya devam etmekte, bir yandan da bu hücreler tarafından EPS üretimi söz konusu olmaktadır. *C. albicans* hücrelerinin yalancı ve gerçek hifleri oluşturmaya başlaması, bu aşamada gerçekleşmektedir.

Son aşamada ise; EPS miktarındaki artışa bağlı olarak, yalancı hifler ile gerçek hiflerden oluşan ağ yapısının, üst seviyede gelişim gösterdiği gözlenmektedir.

Dolayısıyla en sonuncu aşama; “Olgunlaşma Aşaması” olarak nitelendirilmektedir (Hawser and Doughlas, 1994; Chandra et al., 2001; Ramage et al., 2002).

SEM (Scanning Electron Microscopy) ile yapılan incelemeler sonucunda yüzey alan üzerindeki biyofilm oluşumunda birincil olarak, blastospor formdaki hücreler gözlenmiş olup, hif oluşturmuş formdaki hücrelere, biyofilm tabakasının en üst kısımlarında rastlanmıştır. Bazı durumlarda, biyofilm oluşumunun başlangıç bölgesindeki yüzeye hifli formdaki *C. albicans* hücrelerinin de tutunması söz konusudur; ama yapılan çalışmalar, bu kolonizasyonun çok kolay bir şekilde yüzeyden yok edilebilir nitelikte ve daha güçsüz özellikte olduğunu ortaya koymuştur. Dolayısıyla, *C. albicans* türlerinin biyofilm oluşumunda ve yüzeye hem güçlü, hem de kalıcı bir şekilde tutunabilmelerinde blastosporların rolü daha büyüktür (Baillie and Douglas, 1999).

2002 yılında yapılmış olan bir çalışmaya göre; hif oluşumunu düzenleyici EFG1 geni, biyofilm oluşumu için gerekli bir gendir (Baillie and Douglas, 1999; Ramage et al., 2002). Benzer bir şekilde, quorum sensing molekülü olduğu bilinen farnasolün de, hif oluşumunu engellemek suretiyle biyofilm oluşumunu inhibe ettiği ortaya çıkmıştır (Kruppa et al., 2004).

❖ Fenotipik Değişim

1985 yılında yapılan bir çalışmada, düşük dozda ultra viyole ışığı etkisi ile, *C. albicans* hücrelerinin çoğunun, S tipi düz koloniden R tipi tırtıklı koloni morfolojisine geçiş yaptığı gözlenmiştir ve bu koloni morfolojisindeki değişimin, yüksek frekansta ve geri dönüşümlü olduğu tespit edilmiştir (Calderone and Fonzi, 2001). Bu bağlamda, *C. albicans* hücrelerinde fenotipik değişim söz konusu olmaktadır. Mevcut değişim sayesinde ise hücreler; yüzey antijenlerini değiştirmekte ve kendilerini konak canlıının immün sisteminden korunur forma dönüştürmektedir. *C. albicans* hücreleri, spesifik vücut bölgelerine bu sayede adapte olabilmektedir (Srikantha et al., 1995).

Yapılan bir diğer çalışmada ise; tomurcuklanan hücreleri de içerisine alan S tipi beyaz koloninin, büyük, asimetric tomurcuklanan opak renkli hücreleri içeren koloni tipine dönüştüğü tespit edilmiştir (Soll, 2002). Bu bağlamda, beyaz kolonileri oluşturan hücreler; düzgün ve oval, opak koloniyi oluşturan hücreler ise; opak ve

fasülye şeklinde gözlenmektedir. Opak renkli hücrelerin yüzeğinde beyaz renkli hücrelerden farklı olarak siğiller mevcuttur. Ayrıca beyaz renkli hücreler, germ tüpü oluşturabilmek için; 6,7 pH değerine ve 37°C' ye ihtiyaç duyarken, opak renkli hücreler, insan epitel hücreleri dışında hiç bir ortamda, koşullar ne olursa olsun germ tüpü oluşturamamaktadır (Calderone and Fonzi, 2001). İlave olarak; OPA1 ve OP4 genleri opak faz oluşumunda görev almakta, WH11 geni ise; beyaz faz oluşumunda etkili olmaktadır (Srikantha et al., 1995).

❖ Enzimler

C. albicans türlerinin virülansında en çok rol oynadığı bilinen enzimler; salgısal aspartik proteinazlar (SAP) ile fosfolipazlar (PL)' dir (Calderone and Fonzi, 2001).

C. albicans hücreleri tarafından sentezlenen proteinazlar; konak canlı tarafından ortama salınan immünoglobulinleri ve kompleman sistem proteinlerini degrade edici özelliktedir. Bu sayede *C. albicans* hücreleri, konağın direnç mekanizmalarından korunmuş olur. İlave olarak; *C. albicans* hücreleri, sahip oldukları bu enzimler sayesinde konak bariyerlerinin degradasyonuna da neden olmaktadır. Bu sayede hücreler, kendilerinin adhezyonlarını ve invazyonlarını da kolaylaştırmış olurlar (Staib et al., 2000).

C. albicans hücreleri tarafından sentezlenen fosfolipazlar; konak canlı hücrelerinin membran lipitlerini hidrolize ederek hücre membranına zarar vermektedir. Bugüne kadar tanımlanan fosfolipazlar; PLA, PLB, PLC ve PLD olarak bildirilmiştir (Navarro–Garcia et al., 2001).

2.7.3.4. *Candida albicans* Enfeksiyonları

Normal koşullar altında doğal flora elamanı oldukları bilinen *C. albicans* suşları; özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış ve vücudu içerisine yabancı bir materyal yerleştirilmiş hastalarda, fırsatçı patojen olarak çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu olmaktadır. Bu tür *Candida* bağımlı enfeksiyonlara ise; “Kandidiyaz” adı verilmektedir. (Wroblewska et al., 2002). Bu bağlamda, fırsatçı patojen olarak da ifade edilebilen *C. albicans* türlerinin; insan bağışıklık sistemindeki çeşitli modifikasyonlara veya kişinin bulunduğu ekolojik çevrenin değişmesine bağlı olarak, zararsız halden patojen hale dönüşebildiği bildirilmektedir (Jenkinson and

Douglas, 2002). Bu bağlamda bu türe ait mikroorganizmaların; Yoğun Bakım ünitesinde bulunan hastalarda sıklıkla kan yolu enfeksiyonlarına yol açmakta oldukları ve çoğu hastanın hayatını tehlikeye attıkları bildirilmektedir (Méan et al., 2008).

Ülkemizde yapılan çalışmalara göre ise, *C. albicans* suşları; gebelik, doğum kontrol hapi kullanımı, uzun süreli antibiyotik kullanımı gibi faktörler sonucunda, vajinal ortamdaki sayılarını artırmakta ve sıklıkla vulvovajinit hastalığına neden olmaktadır (Sobel et al., 1998; İlkit et al., 1999; Otağ et al., 2005).

İlave olarak, *C. albicans* suşlarının; başta biyomateryal ilişkili enfeksiyonlar olmak üzere, gastrointestinal, pulmoner ve üriner enfeksiyonlar ile özefajit ve endokarditten de sorumlu oldukları bildirilmektedir (Richardson and Warnock, 1997; Morschhauser, 2002).

3. LABORATUAR ÇALIŞMALARI VE YÖNTEMLERİ

3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Ağustos 2009 – Haziran 2010 tarihleri arasında, Ankara’da bulunan bir hastanenin farklı servislerine başvuran hastalara ait; idrar, gaita, yara, abse, balgam, kan, vajen, trakeal aspirat, burun, vücut – diz eklem sıvısı klinik materyallerinden; izole edilen *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşları çalışmamızda kullanıldı. Bu bağlamda; *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* olarak tanımlanan suşlar, kanlı agara inoküle edildi ve 37°C’de 24 saat boyunca inkübe edildikten sonra +4°C’de buz dolabında saklandı. *Candida albicans* olarak tanımlanan suşlar ise, Potato Dekstroz Agar’a inoküle edildi ve 37°C’de 24-48 saat boyunca inkübe edildikten sonra +4°C’de buz dolabında saklandı. Bu şekilde saklanan tüm suşların pasajları ayda bir tekrarlandı. İlave olarak, *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* suşlarının uzun süreli saklanımları; bu suşların %10 gliserollü BHI (Brain Heart Infusion) sıvı besiyerine ekilip 37°C’de inkübe edilmelerinden sonra -20°C’de gerçekleştirildi.

3.2. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarının Tanımlanması

S. epidermidis suşları, öncelikle kanlı agarda makroskopik olarak ve gram boyama yöntemiyle mikroskopik olarak incelendi. Ardından; deoksiribonükleaz, koagülaz, katalaz, mannitol testleri uygulanarak, bu suşların fenotipik tanımlanması gerçekleştirildi.

3.2.1. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarının Koloni Morfolojisinin İncelenmesi

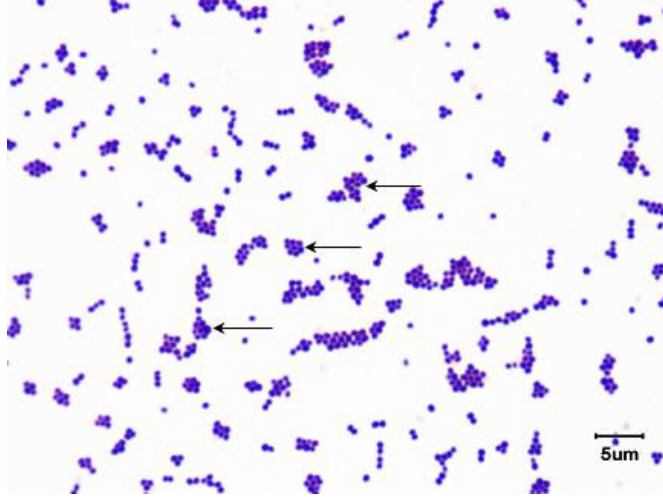
Kanlı Agar, zengin besi içeriğinden dolayı pek çok mikroorganizmanın gelişimi için oldukça uygun bir besiyeridir. Kanlı Agar’a inoküle edilen *Staphylococcus epidermidis* suşları; yuvarlak, beyaz renkli ve 1–4 mm çapında düzgün (S tipi) koloniler oluşturmakta ve hemoliz yapmamaktadır (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999) (Şekil 3.1.). Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan *S. epidermidis* suşları Kanlı Agar’a inoküle edildi, 37°C’de 24 saat boyunca inkübe edildi ve uygun özelliklere sahip olduğu gözlenen suşlar belirlendi.



Şekil 3.1. *S. epidermidis* türünün Kanlı Agar'daki koloni morfolojisi
(<http://www.healthhype.com/lab-tests-for-staph.html>)

3.2.2. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarının Gram Boyama Yöntemi ile Mikroskopik Olarak İncelenmesi

S. epidermidis suşlarının mikroskopik incelemeleri, bakteri hücre duvarının fiziksel ve kimyasal yapısına dayalı olarak sonuç veren gram boyama yöntemi ile yapıldı. Bu bağlamda, gram pozitif bir mikroorganizma olan *S. epidermidis* suşlarının, kanlı agar üzerinde oluşturmuş oldukları tek bir koloniden örnek alındı ve ardından, gram boyama (kristal viyole 1', lugol 1', alkol 15" bazik fuksin 30") yapıldı. Gram boyama sonrasında, mikroskop altında; gram pozitif, sporsuz, kümeler halinde toplanmış (üzüm salkımı şeklinde) gözlenen koklar, *S. epidermidis* olarak değerlendirildi (Şekil 3.2.).

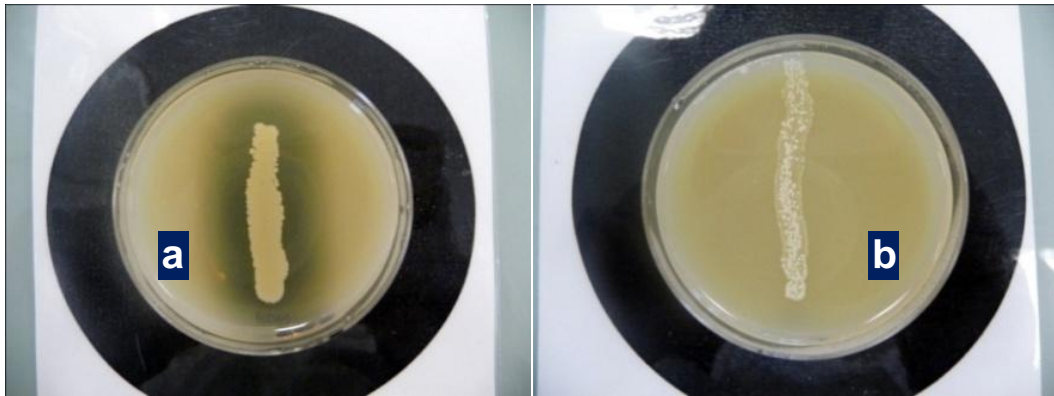


Şekil 3.2. *S. epidermidis* türünün mikroskopik görüntüsü
(http://archive.microbelibrary.org/asmonly/details_print.asp?id=2029&lang)

3.2.3. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarının Tanımlanmasında Uygulanan Diğer Biyokimyasal Testler

3.2.3.1. Deoksiribonükleaz Testi

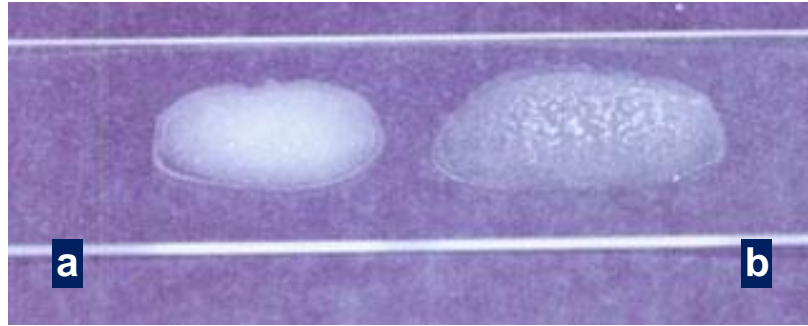
Deoksiribonükleaz testi; mikroorganizmalarda DNAz aktivitesi tespit etmede kullanılmaktadır. *S. epidermidis* türü ise bu enzime sahip değildir. Bu bağlamda çalışmamızda kullanılacak olan *S. epidermidis* suşları, DNA içeriğine sahip bir besiyeri olan DNA Test Agar'a inoküle edildi ve 37°C'de 18–24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrasında üreme gözlenen bölgelere 1N HCl ilave edilmiş olup, DNAz aktivitesi olmayan suşlar, şeffaf zon oluşturmamalarıyla ayrıldı (Şekil 3.3.) (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999).



Şekil 3.3. DNaz testi sonuçları (a; DNaz pozitif, b; DNaz negatif)
(<http://vdm-roubaix.com/technobio/>)

3.2.3.2. Koagülaz Testi

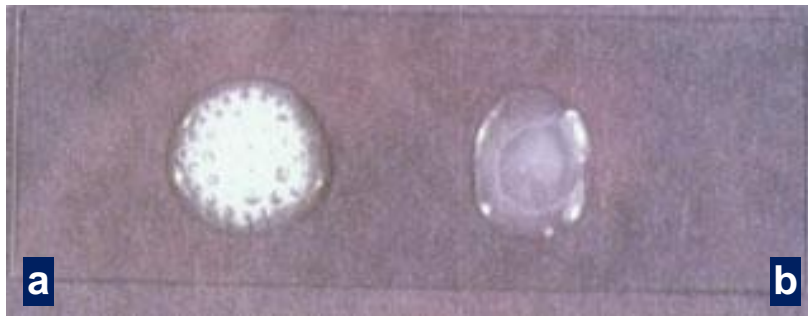
Fibrinojenin fibrine dönüşmesinde rol oynayan koagülaz proteini, *S. epidermidis* suşlarında bulunmamaktadır (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999). Dolayısıyla *S. epidermidis* suşunun plazma ile bir araya gelmesi sonucunda aglütinasyon oluşumu gözlenmez. Bu bağlamda, lam üzerine damlatılmış plazma ile örnekler muamele edildi ve lam üzerinde agglütinasyon oluşturmayan suşlar; *S. epidermidis* olarak değerlendirildi (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Koagülaz testi sonuçları (a; koagülaz negatif, b; koagülaz pozitif)
(<http://faculty.mc3.edu/jearl/ML/ml-10.htm>)

3.2.3.3. Katalaz Testi

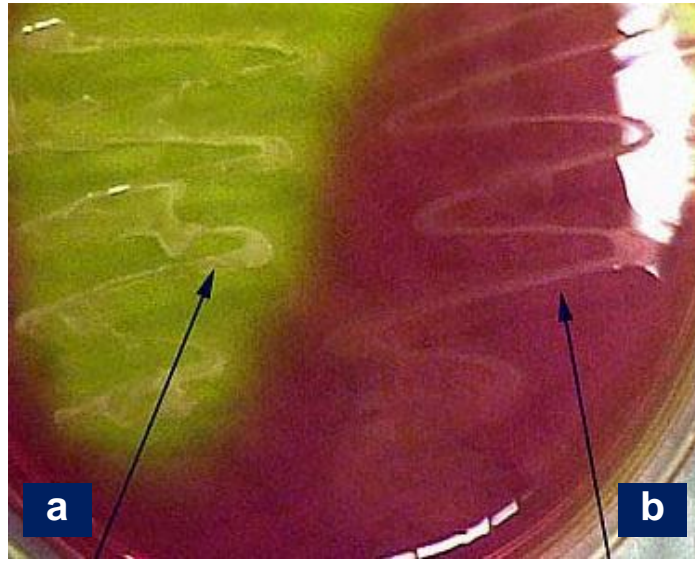
Çoğunluğu fakültatif anaerobik özellikte olan *S. epidermidis* suşları, katalaz enzimi içermektedir ve *S. epidermidis* suşlarının hidrogen peroksit ile muameleleri oksijen çıkışını gösteren hava kabarcığı oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999). Bu bağlamda örnekler, lam üzerine damlatılmış hidrogen peroksit ile muamele edildi ve hava kabarcığı oluşumuna neden olan suşlar; katalaz pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. Katalaz testi sonuçları (a; katalaz pozitif, b; koagülaz negatif)
(<http://faculty.mc3.edu/jearl/ML/ml-10.htm>)

3.2.3.4. Mannitol Fermentasyonu Testi

Mannitol Tuzlu Agar besiyeri; karbon kaynağı olarak mannitol, indikatör olarak ise; fenol kırmızısı ve %7.5–10 NaCl içeriğine sahip olan bir besiyeridir. İçerdiği yüksek tuz konsantrasyonu yüzünden *Staphylococcus* genusu dışında bir çok mikroorganizma bu besiyerinde gelişim gösterememektedir. İçeriğindeki fenol red, mannitolün kullanılmasına ve asidik ürünlerin açığa çıkmasına bağlı olarak sarı renge dönüşmektedir. Bu bağlamda, *S. epidermidis* suşlarının Mannitol Tuzlu Agar besiyerine inokülasyonları, bu suşların bu besi ortamında üreyebilmesiyle ve besiyeri renginin değişmemesiyle sonuçlanmaktadır (Koneman et al., 1997; Kloos and Bannerman, 1999). Bu bağlamda, *S. epidermidis* suşları, Mannitol Tuzlu Agar besiyerine inoküle edilmiş olup 37°C'de 24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. Besiyeri renginde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlenen suşlar, mannitol negatif olarak değerlendirildi (Şekil 3.6.).

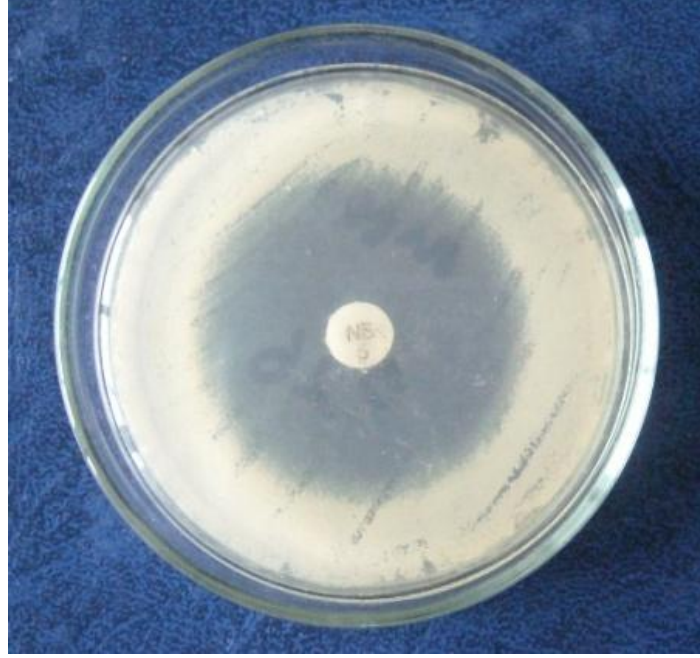


Şekil 3.6. Mannitol fermentasyonu testi sonuçları (a; mannitol pozitif, b; mannitol negatif) (www.MicrobeLibrary.com)

3.2.4. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarında Novobiyosin Duyarlılığı

Çalışmamız kapsamında *S. epidermidis* suşlarının novobiyosin antibiyotiğine karşı olan duyarlılıkları; Kirby – Bauer Disk Difüzyon yöntemiyle araştırılmış olup CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına uygun olacak şekilde belirlendi. Bu bağlamda suşlar; Kanlı Agar'a inoküle edildi ve 37°C'de 24 saatlik bir

inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında elde edilen taze kültürlerin bulanıklığı; 0.5 McFarland standardına uygun olacak şekilde ayarlandı. Daha sonra bu ortandan, Mueller Hinton Agar besiyerine inokülasyon yapıldı. 10–15 dakika kadar yüzeyin kurumaması beklendikten sonra yüzey üzerine novobiyosin (5 µg) antibiyotik diski yerleştirildi. Antibiyotik diski yerleşimi tamamlanmış örnekler 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında ise, petri yüzeyinde oluşan inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçülmüş olup; CLSI kriterlerine göre duyarlılık, orta derece duyarlılık ve dirençlilik durumları değerlendirildi. Duyarlı oldukları gözlenen suşlar; *S. epidermidis* olarak değerlendirildi (Şekil 3.7.).



Şekil 3.7. *S. epidermidis* türünde Novobiyosin duyarlılığı

3.3. *Proteus mirabilis* Suşlarının Tanımlanması

Klinik materyallerden izole edilen *Proteus mirabilis* suşları, öncelikle Kanlı Agar üzerinde makroskobik olarak ve gram boyama yöntemiyle mikroskobik olarak incelendi. Ardından; indol testi, metil kırmızısı testi, sitrat testi, TSI (Triple Sugar Iron–Üç Demirli Şeker) testi, üre hidrolizi testi ve laktoz testi gibi çeşitli biyokimyasal testler ile, bu suşların fenotipik tanımlanması gerçekleştirildi. İlave olarak, çalışmamız kapsamında kullanılan bütün *P. mirabilis* suşları, VITEK®2 otomatize sistemi ile tanımlanıp identifiye edildi.

3.3.1. *Proteus mirabilis* Suşlarının Koloni Morfolojisinin İncelenmesi

Kanlı Agar'a inoküle edilen *P. mirabilis* suşlarının Kanlı Agar üzerinde; kirli beyaz renkli, bulut gibi dalga dalga yayılan kümeler oluşturdukları ve hemoliz yapmadıkları bilinmektedir (Belas et al., 1998). Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan *P. mirabilis* suşları Kanlı Agar'a inoküle edildi, 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edildi ve uygun özelliklere sahip olduğu gözlenen suşlar belirlendi (Şekil 3.8.).



Şekil 3.8. *P. mirabilis* türünde koloni morfolojisi (www.MicrobeLibrary.org)

3.3.2. *Proteus mirabilis* Suşlarının Gram Boyama Yöntemi ile Mikroskopik Olarak İncelenmesi

Proteus suşlarının gram boyama işlemi, Bölüm 3.2.4.'de belirtildiği gibi uygulandı. Mikroskop altında; gram negatif, tek, çift veya kısa zincirler halinde dizilmiş, kapsülsüz ve sporsuz basiller olarak gözlenen hücreler, *P. mirabilis* hücreleri olarak değerlendirildi (Şekil 3.9.).



Şekil 3.9. *P. mirabilis* türünün mikroskopik görüntüsü

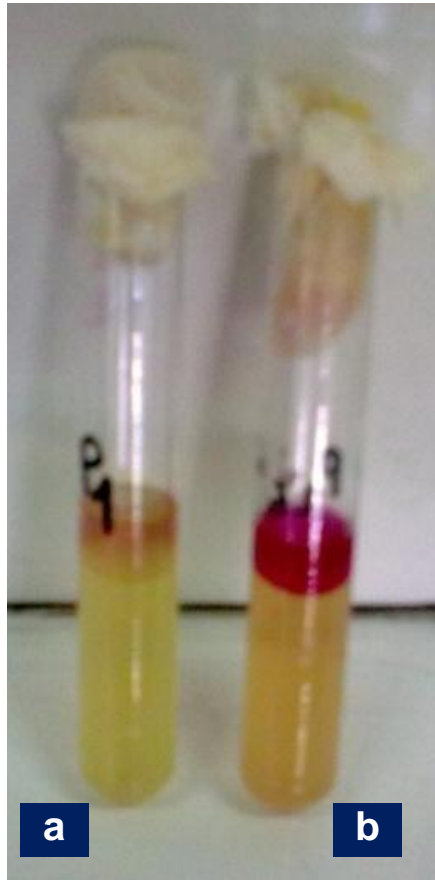
(<http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab12/Pmirabilis.html>)

3.3.3. *Proteus mirabilis* Suşlarının Tanımlanmasında Uygulanan Diğer Biyokimyasal Testler

3.3.3.1. İndol Testi

İndol testi, mikroorganizmalardaki triptofanaz enziminin varlığını araştırmak üzere uygulanmakta olan bir testtir. Triptofanaz enzimi olan mikroorganizmalar, triptofanı parçalayarak; indol, pirüvik asit ve amonyak gibi ürünlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Koneman et al., 1997). *P. mirabilis* suşlarının indol testine negatif sonuç verdikleri ve triptofanaz enzimine sahip olmadıkları bilinmektedir.

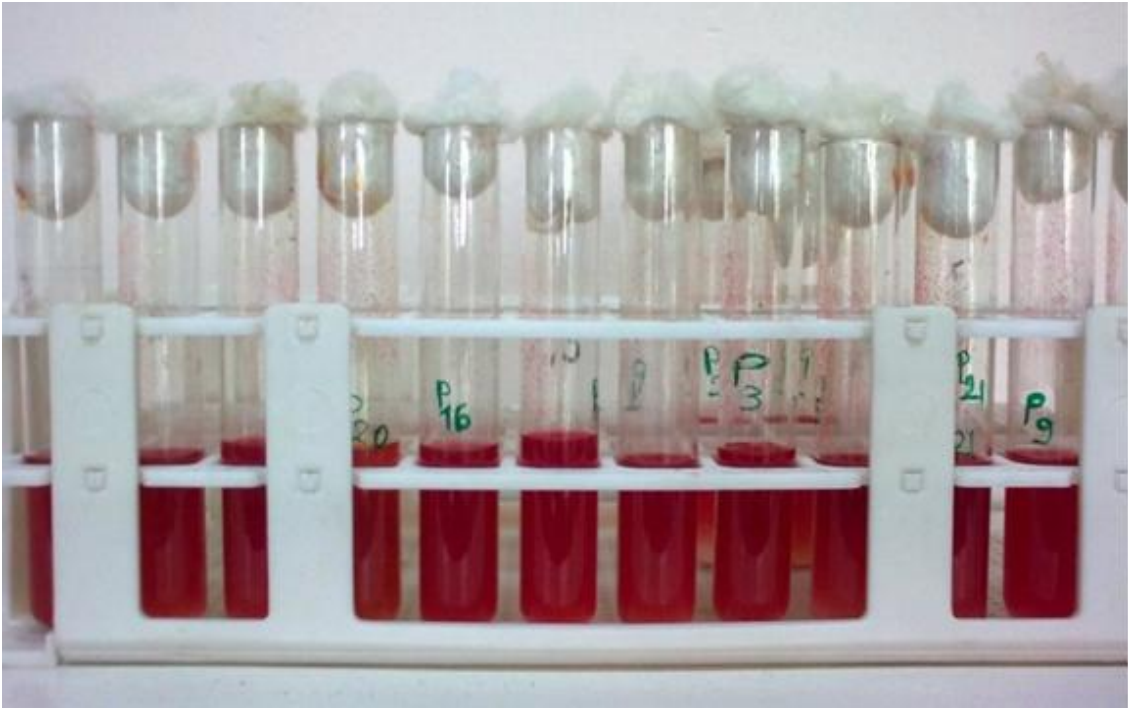
Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılacak olan *Proteus* suşları; triptofanlı besiyerlerine inoküle edildi. 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonrasında ise, üreme gözlenen kültürlerin üzerine 0.5 ml kovaks çözeltisi ilave edildi. Bir-iki dakikalık beklemeden sonra, tüpün üst kısmında kırmızı halka oluşmaması, negatif sonuç olarak değerlendirildi (Şekil 3.10.).



Şekil 3.10. İndol testi sonuçları (a; indol negatif, b; indol pozitif)

3.3.3.2. Metil Kırmızısı Testi

Metil kırmızısı testi, mikroorganizmaların karışık asit fermentasyonu yapmalarını ve sonucunda asidik ürünler oluşturmalarını tayin etmede kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde indikatör olarak Metil Kırmızısı kullanılmaktadır. Metil kırmızısı; Ph: 6.2'de sarı renk oluşumuna, Ph: 4,4 ve altında ise, kırmızı renk oluşumuna neden olmaktadır (Forbes et al., 2002). *P. mirabilis* suşlarının karışık asit fermentasyonu yapabildikleri ve metil kırmızısı testine olumlu sonuç verdikleri bilinmektedir (Garrity, 2005). Bu bağlamda test edilecek *P. mirabilis* suşları, glukoz fosfatlı besiyerine inoküle edildi ve 37°C'de 48 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, tüplere bir kaç damla Metil Kırmızısı indikatörü damlatıldı ve belirgin bir kırmızı renk oluşumu gözlenen suşlar, pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 3.11.).

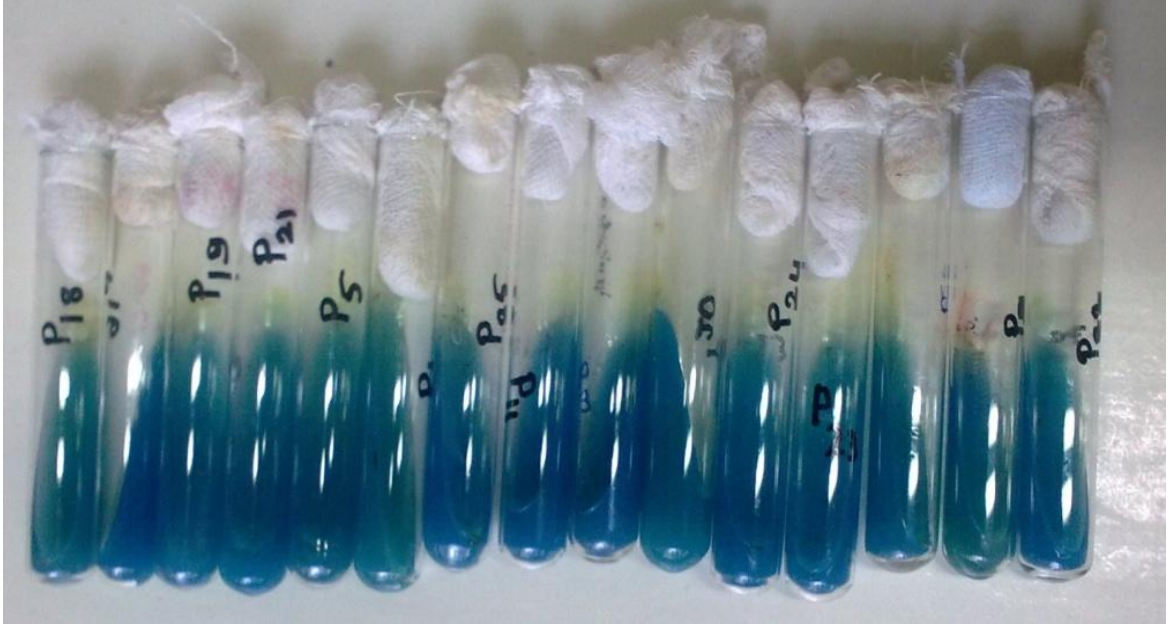


Şekil 3.11. Metil Kırmızısı testi sonuçları

3.3.3.3. Sitrat Testi

Sitrat testi, karbon kaynağı olarak sitratı kullanan mikroorganizmaları tayin etmede kullanılan bir yöntemdir. Sitrat, karbon kaynağı olarak kullanıldığı takdirde, bazik ürünler açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan bazik ürünler ise, ortamın pH'sını yükseltmektedir. Bu yüzden, sitrat testi uygulamasında, ortamda Brom Timol

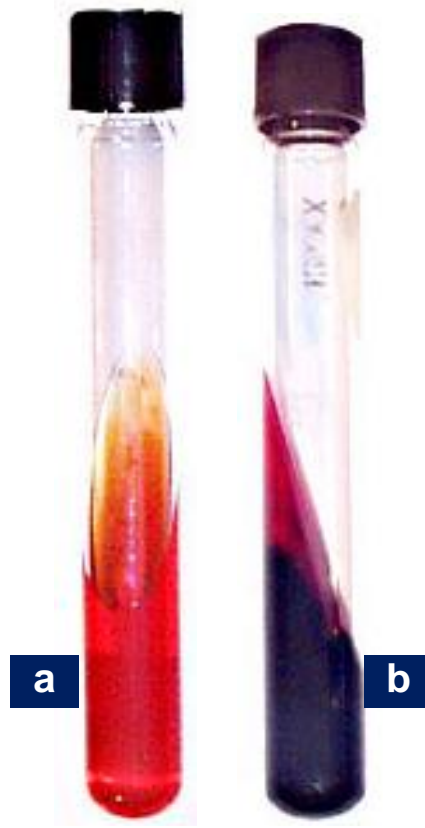
Mavisi indikatörünün varlığı söz konusudur. *P. mirabilis* suşları, sitratı karbon kaynağı olarak kullanabilmektedir (Garrity, 2005). Bu bağlamda, test edilecek *P. mirabilis* suşları, Simmons Sitrat Agar'lı besiyerlerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, besiyeri üzerinde üreme gözlenmesi ve besiyeri renginin mavije dönüşmesi pozitif sonuç olarak değerlendirildi (Şekil 3.12.).



Şekil 3.12. Sitrat testi sonuçları

3.3.3.4. TSI (Tripple Sugar Iron – Üç Demirli Şeker) Testi

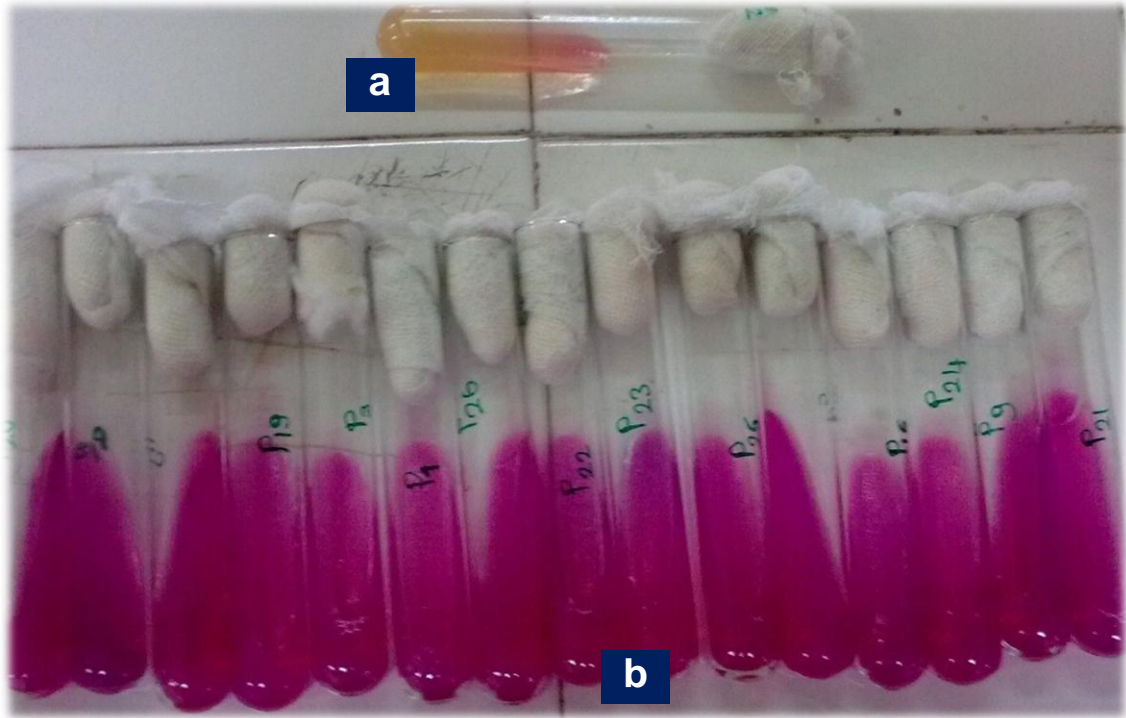
TSI testi; mikroorganizmaların glukoz, laktoz ve sukroz fermentasyonu yapma özellikleri ile hidrojen sülfür oluşturma özelliklerini, gözlemlemek amacıyla uygulanmaktadır. Karbonhidrat fermentasyonu, besiyeri içerisinde bulunan Fenol Kırmızısı indikatörü sayesinde anlaşılmaktadır. Ferrik amonyum sülfat ise; besiyerinde H₂S indikatörü olarak rol oynar ve siyah renk oluşumuna neden olur. *Proteus mirabilis* suşlarında TSI testi sonucuna göre; glukoz fermentasyonu ile hidrojen sülfür oluşumuna rastlanıldığı bilinmektedir (MacFaddin, 1985). Bu bağlamda, test edilecek *P. mirabilis* suşları tüplerdeki TSI besiyerlerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında glukoz fermentasyonu yaptığı ve H₂S oluşturduğu gözlenen suşlar; *P. mirabilis* olarak değerlendirildi (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. TSI testi (a; TSI besiyeri, b; TSI besiyerinde *P. mirabilis*)
(www.MicrobeLibrary.org)

3.3.3.5. Üre Hidrolizi Testi

Üre hidrolizi testi, mikroorganizmaların üreyi hidroliz eden, üreaz enziminin varlığını tayin etmede kullanılan bir yöntemdir. Ürenin hidroliz olması sonucunda Amonyak (NH_3) oluşmaktadır. Amonyak oluşumu ise ortamın pH'sında artışa neden olmaktadır. Artan pH, ortamdaki fenol kırmızısı varlığı ile tespit edilmektedir. Üreaz enzimine sahip olan *P. mirabilis* suşları, bu teste pozitif sonuç vermektedir (Garrity, 2005). Çalışmamızda, "Christensen Üreli Besiyeri" kullanıldı. Bu besiyerinin bileşiminde bulunan üre, yüksek sıcaklıkta parçalandığı için, milipor filtre ile sterilize edildikten sonra diğer bileşenlerle bir araya getirildi. Test edilecek olan *P. mirabilis* suşları, besiyerlerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, üredikleri ortamda pembe renk oluşumu gözlenen suşlar; Üre Pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 3.14.).



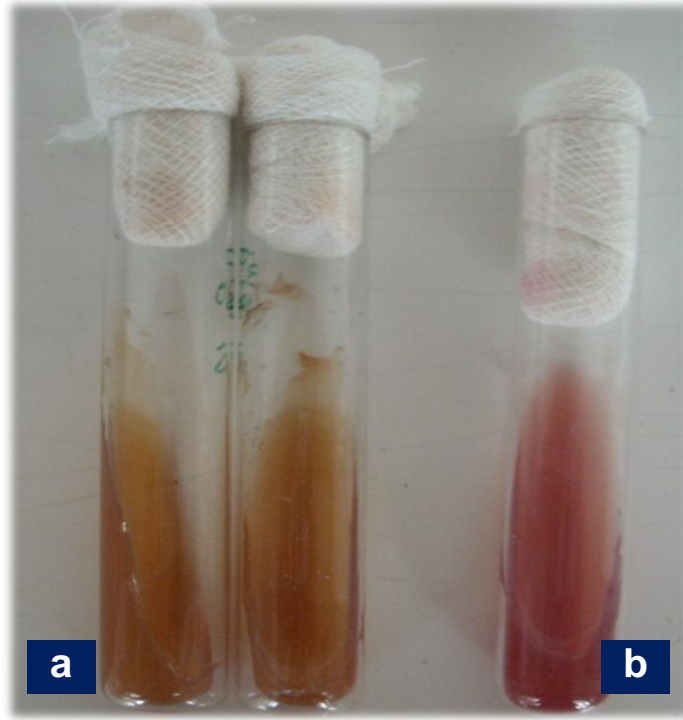
Şekil 3.14. Üre hidrolizi testi (a; üre negatif, b; üre pozitif)

3.3.3.6. Laktoz Testi

P. mirabilis; laktozu fermente edebilen bir mikroorganizma değildir. Laktoz testi ise; mikroorganizmaların laktoz fermentasyonu yapma özelliklerini tayin etmede kullanılmaktadır. Bu test için çalışmamızda, seçici–ayrıt edici bir besiyeri olduğu bilinen MacConkey Agar kullanıldı.

MacConcey Agar besiyerinin içerisinde; safra tuzları, kristal viyole boyası ve nötral kırmızısı indikatörü bulunmaktadır. Safra tuzları ile kristal viyole boyası; gram pozitif mikroorganizmaların ve fungusların üremelerini inhibe ederek besiyerine seçici özellik kazandırırken, nötral kırmızısı indikatörü; laktoz fermentasyonu yapan ve asit oluşumuna neden olan mikroorganizmaların, buldukları ortamın pembe – kırmızı renge dönüşmesini sağlayarak, bu besiyerine ayrıt edici özellik kazandırmaktadır (Forbes et al., 2002).

Bu bağlamda, test edilecek *P. mirabilis* suşları MacConcey Agar'lı besiyerlerine inoküle edildi ve 37°C'de 24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrasında, herhangi bir renk değişiminin gözlenmediği kültürler, *P. mirabilis* olarak değerlendirildi (Şekil 3.15.).



Şekil 3.15. Mac Conkey Agar'da laktoz fermentasyonu testi (a; Mac Conkey Agar üzerinde *P. mirabilis* gelişimi, b; Mac Conkey Agar Besiyeri)

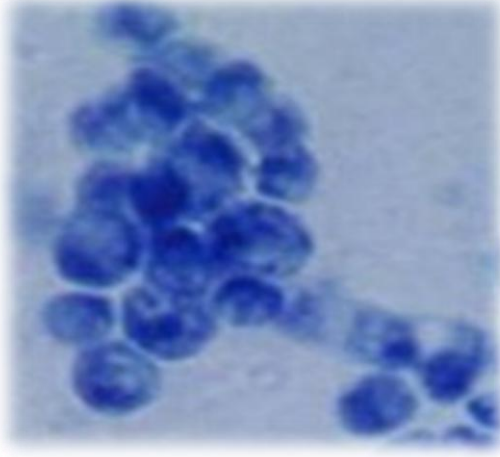
3.4. *Candida albicans* Suşlarının Tanımlanması

3.4.1. *Candida albicans* Suşlarının Koloni Morfolojisinin İncelenmesi

Potato Dekstroz Agar'a inoküle edilen *C. albicans* suşlarının; beyaz renkli, S tipi koloniler oluşturdukları bilinmektedir. Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan *C. albicans* suşları, PDA'ya inoküle edilmiş olup 37°C'de 48 saat boyunca inkübe edildi ve uygun makroskobik özelliklere sahip olduğu gözlenen suşlar; *C. albicans* olarak değerlendirildi.

3.4.2. *Candida albicans* Suşlarının Metilen Mavisi Boyama Yöntemi ile Mikroskobik Olarak İncelenmesi

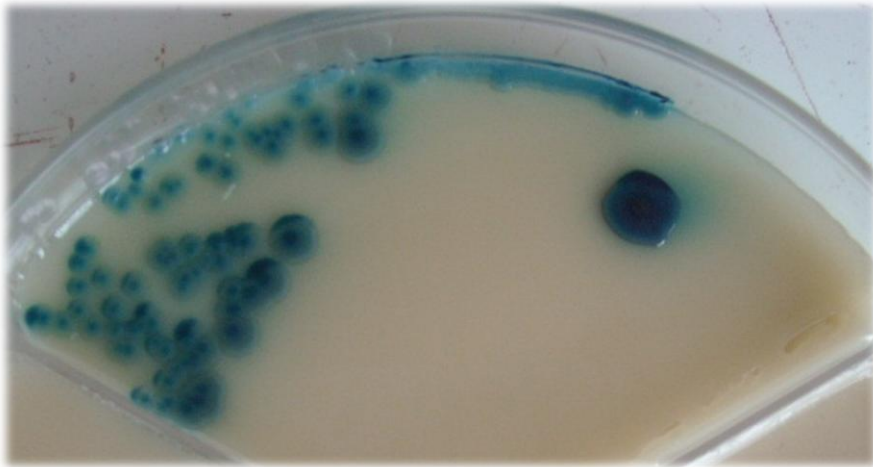
C. albicans suşlarının, Potato Dekstroz Agar üzerinde oluşturmuş oldukları kolonilerden örnek alındı ve Metilen Mavisi ile 5 dakikalık boyama işleminin ardından, mikroskop altında; mavi renkte boyanmış, büyük ve oval olarak gözlenen hücreler; *C. albicans* hücreleri olarak değerlendirildi (Şekil 3.16.).



Şekil 3.16. *C. albicans* türünün mikroskopik görüntüsü

3.4.3. *Candida albicans* Suşlarının Chromogenic Agar Üzerinde Tanımlanması

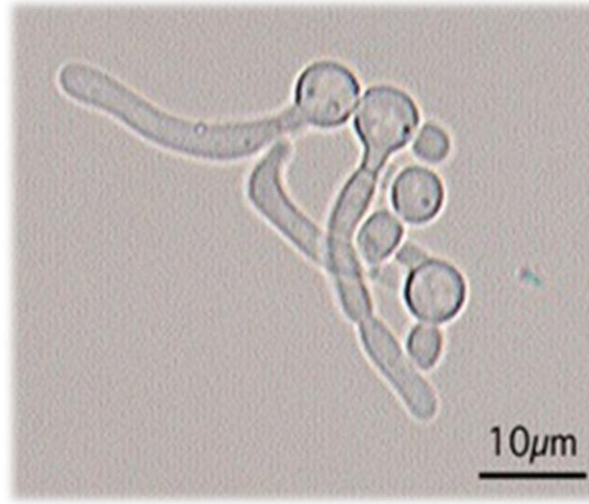
ChromAgar; seçici ve ayırt edici özelliğe sahip bir besiyeridir. Bu besiyeri içerisinde *Candida albicans*, *Candida tropicalis* ve *Candida krusei* türlerinin ayırt edilmesini sağlayacak özellikte kromojenik substratlar yer almaktadır. Bu substratların kullanılması sonucunda besiyeri üzerinde türe özgü bir renk ortaya çıkmaktadır. *C. albicans* türlerinin % 99'unun ChromAgar üzerinde; yeşil renkli, S tipi koloniler oluşturmakta olduğu bildirilmektedir (Odds and Bernaets, 1994). Bu bağlamda test edilecek *C. albicans* suşları, ChromAgar besiyerlerine inoküle edildi. Ardından suşlar, 48 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında yeşil renkli koloniler oluşturan suşlar; *C. albicans* olarak değerlendirildi (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. *C. albicans* türünün ChromAgar üzerindeki görüntüsü

3.4.4. *Candida albicans* Suşlarında Germ Tüp Testi

Germ tüp testi; maya tipi fungus hücrelerinin Germ Tüp oluşturmalarını tayin etmede kullanılan bir yöntemdir. *C. albicans* suşlarının bu teste pozitif sonuç verdikleri ve bu özellikleri sayesinde diğer *Candida* türlerinden ayrıldıkları bilinmektedir. Bu bağlamda, test edilecek *C. albicans* suşları, serum içerisinde 37°C' de 3 saatlik bir inkübasyona bırakıldıktan sonra, mikroskop altında incelendi. İnkübasyon sonrasında, mikroskop altında yapılan incelemede, mayadan dışa doğru uzanan, eni maya hücresinin yarısı ve boyu hücrenin 3–4 katı olan oluşumlar; "Germ Tüp" olarak değerlendirildi (Ozkütük vd., 2003) (Şekil 3.18.).



Şekil 3.18. *C. albicans* türünde Germ Tüp testi sonucu

(http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/12/C_albicans_germ_tubes.jpg)

3.5. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmamızda, aynı hastanenin farklı servislerinden toplanan *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının, izole edildikleri klinik materyallere göre dağılım oranları hesaplandı.

X Klinik Materyaline Göre Dağılım Oranı:

(X Klinik Materyalinden İzole Edilen Örnek Sayısı/Toplam Örnek Sayısı) x 100

3.6. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının Farklı Servislere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmamızda, aynı hastanenin farklı servislerinden toplanan *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının, toplandıkları servislere göre dağılım oranları hesaplandı.

X Servisine Göre Dağılım Oranı:

$(X \text{ Servisinden İzole Edilen Örnek Sayısı} / \text{Toplam Örnek Sayısı}) \times 100$

3.7. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmamızda, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının, izole edildikleri hastaların cinsiyet özelliklerine göre dağılım oranları hesaplandı.

X Cinsiyetine Göre Dağılım Oranı:

$(X \text{ Cinsiyetindeki Hastadan İzole Edilen Örnek Sayısı} / \text{Toplam Örnek Sayısı}) \times 100$

3.8. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmamızda, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının, izole edildikleri hastalara ait yaş bilgileri; 0–15, 16–30, 31–45, 46–60, 61–75 ve 76–90 arası yaş grupları olacak şekilde sınıflandırıldı. Bu bağlamda, suşların izole edildikleri hastaların, yaş gruplarına göre dağılım oranları hesaplandı.

X Yaş Grubuna Göre Dağılım Oranı:

$(X \text{ Yaş Grubu Hastadan İzole Edilen Örnek Sayısı} / \text{Toplam Örnek Sayısı}) \times 100$

3.9. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında Antimikrobiyal Duyarlılık Deneyleri

Çalışmamız kapsamında *Staphylococcus epidermidis* ve *Proteus mirabilis* suşlarının çeşitli antibiyotiklere karşı olan duyarlılıkları; Kirby–Bauer Disk Difüzyon yöntemiyle araştırıldı ve CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına uygun olacak şekilde belirlendi. Bu bağlamda, Bölüm 3.2.4.' de açıklanmış olan yöntem uygulandı.

Çalışmamızda, *S. epidermidis* suşlarının; 11 farklı antibiyotiğe (Amoksisilin–Klavulonik Asit; 20/10 µg, Siprofloksasin 5; µg, Gentamisin; 10 µg, Eritromisin; 15 µg, Oksasillin; 1 µg, Penisilin; 10 Ünite, Trimetoprim-Sülfametoksazol; 1.25 µg, Vankomisin; 30 µg, Tetrasiklin; 30 µg, Klindamisin; 2 µg ve Nitrofurantoin 300 µg;) karşı olan duyarlılıkları, *P. mirabilis* suşlarının; 15 farklı antibiyotiğe (Seftriakson; 30 µg, Trimetoprim/Sulfametoksazol; 1,25/23,75 µg, Sefiksim; 5 µg, Amoksisilin/Klavulanik asit; 20/10 µg, Gentamisin; 10 µg, Siprofloksasin; 5 µg, Amikasin; 30 µg, Piperasilin/Tazobaktam; 10 µg, Seftazidim; 30 µg, İmipenem; 10 µg, Tobramisin; 10 µg, Ampisilin; 10 µg; Nitrofurantoin; 300 µg, Sefazolin; 30 µg) karşı olan duyarlılıkları araştırıldı. Antibiyotik diski yerleşimi tamamlanmış olan örnekler 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında ise, petri yüzeyinde oluşan inhibisyon zon çapları, milimetrik olarak ölçülüp; duyarlılık, orta derece duyarlılık ve dirençlilik durumları, CLSI kriterlerine göre değerlendirildi (Çizelge 3.1.; Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.1. CLSI tarafından, *Staphylococcus epidermidis* için Önerilen Antibiyotik Zon Tablosu (CLSI, 2005).

Antibiyotik Adı	Kodu	Disk İçeriği	Zon Çapı (mm)		
			R	I	S
Amoksisilin/klavulanik asit	AMC	20 / 10 µg	≤19	-	≥20
Eritromisin	E	15 µg	≤13	14-22	≥23
Oksasilin	OX	1 µg	≤10	11-12	≥13
Siprofloksasin	CIP	5 µg	≤15	16-20	≥21
Trimetoprim / Sulfametaksazol	SXT	1.25 µg	≤10	11-15	≥16

Vankomisin	VA	30 µg	≤9	10-11	≥12
Gentamisin	CN	10 µg	≤12	13-14	≥15
Tetrasiklin	TE	30 µg	≤14	15-18	≥19
Klindamisin	CC	2 µg	≤14	15-20	≥21
Penisilin	P	10 Ünite	≤28	-	≥29
Nitrofurantoin	F	300 µg	≤14	15-16	≥17

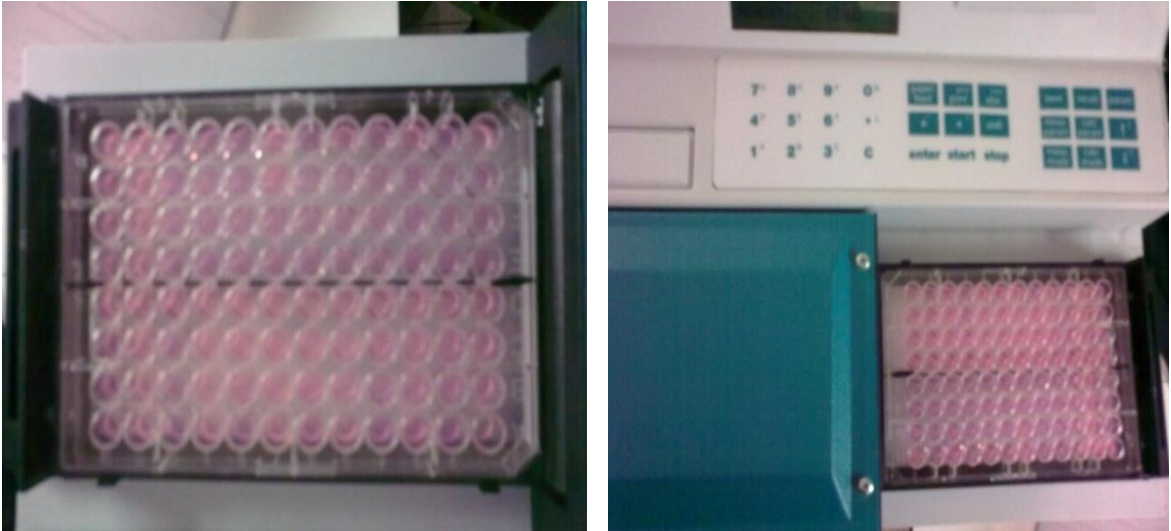
R: Resistant (Dirençli), I: Intermediate (İlmlı); S: Sensitive (Hassas).

Çizelge 3.2. CLSI tarafından, *Proteus mirabilis* için Önerilen Antibiyotik Zon Tablosu (CLSI, 2005).

Antibiyotik Adı	Kodu	Disk İçeriği	Zon Çapı (mm)		
			R	I	S
Amikasin	AK	30µg	≤14	15-16	≥17
Ampisilin	AM	10 µg	≤13	14-16	≥17
İmipenem	IPM	10 µg	≤13	14-15	≥16
Klindamisin	CC	2 µg	≤14	15-20	≥21
Gentamisin	CN	10 µg	≤12	13-14	≥15
Piperasilin / Tazobaktam	TZP	100 / 10 µg	≤17	18-20	≥21
Sefazolin	CZ	30 µg	≤14	15-17	≥18
Sefiksim	CFM	5 µg	≤15	16-18	≥19
Seftazidim	CAZ	30 µg	≤14	15-17	≥18
Seftriakson	CRO	30 µg	≤13	14-20	≥21
Tobramisin	NN	10 µg	≤12	13-14	≥15
Amoksisilin / Klavulanik asit	AMC	20 / 10 µg	≤13	14-17	≥18
Siprofloksasin	CIP	5 µg	≤17	18-20	≥21
Trimetoprim / Sulfametaksazol	SXT	1,25 / 23,75 µg	≤10	11-15	≥16
Nitrofurantoin	F	300 µg	≤14	15-16	≥17

R: Resistant (Dirençli), I: Intermediate (İlmlı); S: Sensitive (Hassas).

C. albicans suşlarının antifungal duyarlılıkları ise; Micronaut–AM test sistemi (MERLIN Diagnostika) ile belirlendi. Bu bağlamda; *C. albicans* suşları, Potato Dekstroz Agar besiyerlerine inoküle edildi ve 37°C’de 48 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında elde edilen taze kültürler, 4ml’lik steril Serum Fizyolojik çözeltilisine inoküle edildi ve *C. albicans* hücrelerinin bulanıklığı 0.5 McFarland standardına uygun olacak şekilde ayarlandı. Bulanıklığı ayarlanmış olan sıvı kültürden 200 µl alınarak, 4ml’lik diğer Serum Fizyolojik çözeltilisine aktarıldı. Bu yeni elde edilmiş kültürden ise, 200 µl alınarak 11 ml’lik RPMI (Roswell Park Memorial Institute)–Broth Besiyerine aktarıldı ve hemen ardından aynı besiyerine, 50 µl AST indikatörü ile 50 µl Metilen Mavisi indikatörü ilave edildi. Daha sonra bu ortamdan alınan 100’er µl’lik örnekler, teker teker antifungal içerikli plağın kuyucuklarına inoküle edildi. İnokülasyon işlemi tamamlanan plaklar, yapışkan bantlar ile kapatıldıktan sonra, 37°C’de 24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonrasında plaklar, MICRONAUT bilgisayar programıyla okundu ve bu sayede, test edilen suşların antifungal duyarlılıkları saptandı (Şekil 3.19.). Çalışmamız kapsamında *C. albicans* suşlarının; 5-Fluorocytosin (FCY), Amphotericin B (APH), Caspofungin (CAF), Fluconazol (FCA), Posaconazol (POS) ve Voriconazol (VOR) antifungallerine karşı duyarlılıkları belirlendi.



Şekil 3.19. *C. albicans* suşlarının, antifungal duyarlılıklarının, MICRONAUT sistemiyle okunması

3.9.1. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Hesaplanması

Staphylococcus epidermidis, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının, çalışmada kullanılan antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oranları hesaplandı. Bu bağlamda, her bir tür için ayrı ayrı değerlendirme yapıldı.

X Antimikrobiyaline Direnç Oranı:

(X Antimikrobiyaline Dirençli Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı) x 100

3.9.2. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında Antibiyotiplerin Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması.

Antibiyotipleme için, mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılık paternleri esas alınmaktadır. Bu bağlamda; *Staphylococcus epidermidis* suşlarının 11, *Proteus mirabilis* suşlarının 15, *Candida albicans* suşlarının antibiyotiplerinin belirlenmesinde ise; 6 farklı antimikrobiyal ajana karşı elde edilen paternler karşılaştırıldı. Aynı paterni gösteren suşlar, aynı antibiyotip grubuna dahil edilip, aynı antibiyotip numarasıyla belirtilirken, farklı patern gösteren suşlar, farklı antibiyotip grubuna dahil edilip, farklı antibiyotip numarasıyla ifade edildi.

Oluşturulan antibiyotiplerin *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşları için ayrı ayrı oranları hesaplandı.

X Antibiyotipinin Oranı:

(X Antibiyotipini Gösteren Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı) x 100

3.9.3. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Türlerinde, Çoklu Direnç Oranlarının Hesaplanması

Çalışma kapsamında incelenen suşların, çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı olan direnç oranları incelendi ve farklı sayıdaki antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirilen direnç dağılımları araştırıldı.

X Tane Antimikrobiyale Karşı Direnç Oranı:

(X Tane Antimikrobiyale Karşı Dirençli Örnek Sayısı / Toplam Örnek Sayısı) X100

3.10. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

Biyofilm tayinine geçmeden önce mevcut *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* suşlarının Kanlı Agar'a, *C. albicans* suşlarının ise Potato Dektroz Agar'a inokülasyonları yapılarak, taze kültürleri hazırlandı ve çalışmaya taze kültürlerle devam edildi.

3.10.1. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında "Plak Üzerinde Kristal Viyole Boyamalı Biyofilm Ölçüm Tekniği" ile Biyofilm Tayini

Çalışmamız kapsamında bütün suşlarının biyofilm oluşumları; "Plak Üzerinde Kristal Viyole Boyamalı Biyofilm Ölçümü" ile araştırıldı (O'Toole, 1999) ve sonuçlar kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirildi. Bu bağlamda; *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* suşları, Brain Heart Infusion Broth besiyerine, *C. albicans* suşları ise; Yeast Pepton Sucrose besiyerine, MacFarland 2.0 (6×10^8 CFU/mL) standardına uygun olacak şekilde inoküle edildi. İnokülasyonu tamamlanan suşlar, 37°C'de 24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonrasında ise, örnekler 1:100 oranında seyreltildi. Daha sonra, dilüe edilmiş örneğin yer aldığı sıvı kültürden 1'er ml alındı ve steril koşullar altında 24 kuyucuklu polistren plağın kuyucuklarından birine aktarıldı. Biyofilm deneyinde her bir örnek 3 ayrı kuyucuğa yüklendi, 2. ve 3. kuyucuklar ise, kontrol amacıyla incelemeye alındı. Örnekler, kuyucuklara yüklendikten sonra plağın kapağı kapatıldı ve plak 37°C'de inkübe edildi. Çalışmamız kapsamında bütün suşların 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonundaki biyofilm oluşumları tayin edildi; ancak 3 farklı inkübasyon süresi arasından sadece; 48 saat sonunda elde edilen sonuçlar değerlendirmeye alındı.

Belirli inkübasyon süreleri tamamlanan plaklar, etüvden çıkarıldı ve biyofilm tayini için laboratuvar ortamına alındı. Öncelikle plaktaki sıvı kültürler ortamdaki plaklar, kuyucuklarda hiç kültür artığı kalmayacak şekilde distile su ile yıkandı. Yıkama işlemi tamamlanan plaklar kurumaya bırakıldı.

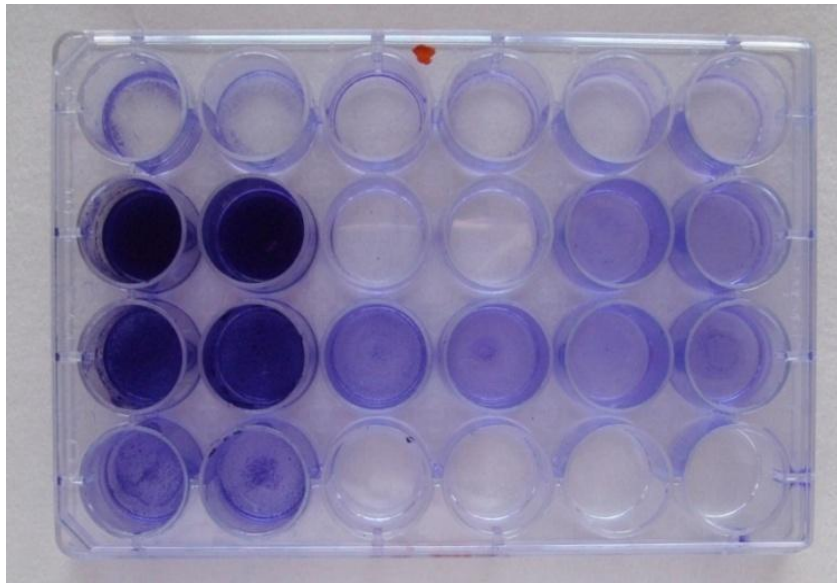
Plak kuruduktan sonra, kuyucuklara %1'lik Kristal Viyole çözeltilisi ilave edildi ve 40–45 dakika boyunca boyama işlemi için beklenildi (Şekil 3.20.).



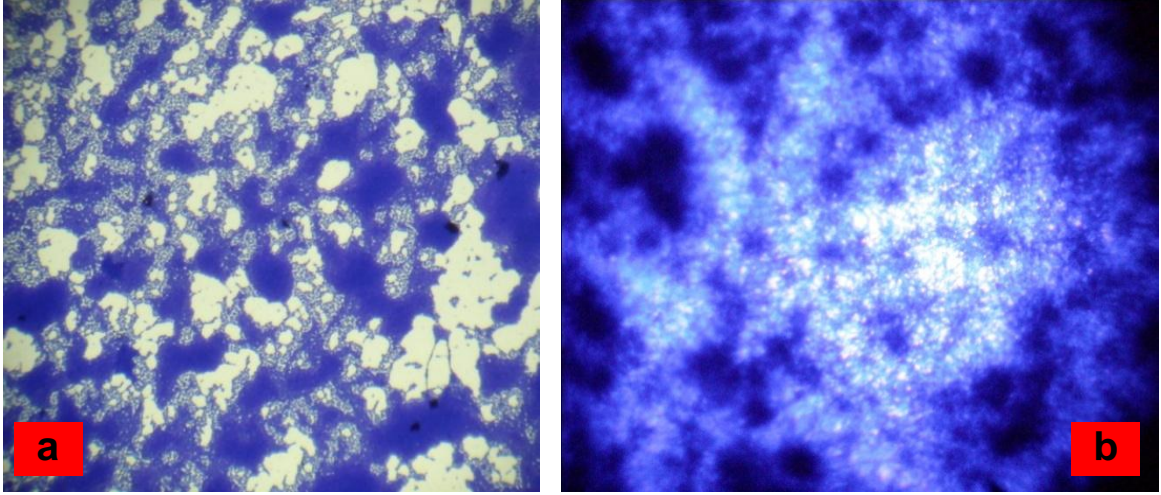
Şekil 3.20. Kuyucukların %1'lik Kristal Viyole çözeltilisi ile boyanması

Oda sıcaklığında 40–45 dakikalık inkübasyon sonrasında plaklar, negatif kontrollerin bulunduğu kuyucuklarda hiç bir boya artığı kalmayınca kadar, defalarca distile su ile yıkandı. Yıkama işlemi tamamlanan plaklar, kurutma işlemine tabii tutuldu. Bu aşamada, biyofilm oluşturmuş suşların yer aldığı kuyucuklarda gözle görülür bir boyanma söz konusu olduğu için, ön inceleme yapıldı (Şekil 3.21).

Çalışmamız kapsamında, bu aşamadan hemen sonra, biyofilm oluşumunun gözle görüldüğü kuyucuklar, ışık mikroskobu altında (4X) incelendi ve tabakalaşma ile ilgili genel bir gözlem yapıldı (Şekil 3.22.).



Şekil 3.21. İkinci yıkama işlemi tamamlanan ve ön incelemeye alınan biyofilm plağı



Şekil 3.22. *S. epidermidis* (Se8) ve *C. albicans* (Ca8) suşlarının, %1'lik kristal viyole çözeltisi ile boyaması sonrasında ışık mikroskobu altındaki görüntüleri (4X)
(a; *S. epidermidis*, b; *C. albicans*)

Makroskobik incelemenin ardından, kuyucuklara 1'er ml Etanol–Asetik Asit (90:10) çözeltisi ilave edilmiş olup, kristal viyolenin çözünmesi sağlandı. Daha sonra Etanol–Asetik Asit solüsyonu içerisinde çözünen kristal viyole miktarı, 540 nm'de spektrofometre cihazında saptandı (Şekil 3.23.).



Şekil 3.23. Etanol – Asetik Asit solüsyonu içerisinde çözünen Kristal Viyole miktarının, 540 nm'de spektrofometre cihazında saptanması

Son olarak; sonuçlar, kontroller ile karşılaştırıldı. Çalışmamızın devamında, 20 adet *S. epidermidis*, 15 adet *P. mirabilis* ve 30 adet *C. albicans* suşları içerisinde; 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri dahilinde en yüksek miktarda biyofilm oluşumu gözlenmiş olan suşlar tespit edildi.

3.11. *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* Suşlarının, Bir Arada Bulunmaları Durumunda Biyofilm Oluşumu Tayini

Çalışmamıza, en yüksek miktarda biyofilm oluşturdıkları bilinen; *S. epidermidis* (Se9), *P. mirabilis* (Pm15) ve *C. albicans* (Ca8) suşlarla devam edildi. Bu bağlamda, *Staphylococcus epidermidis* ve *Proteus mirabilis* türlerine ait suşların üretimi için Brain Heart Infusion Broth besiyeri kullanılırken, *Candida albicans* (Ca8) suşunun üretimi için Yeast Pepton Sucrose besiyeri kullanıldı. *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* suşları, içerisinde 10'ar ml Brain Heart Infusion Broth besiyeri bulunan tüplere, *C. albicans* suşları ise içerisinde 10'ar ml Yeast Pepton Sucrose Broth besiyeri bulunan tüplere 6×10^8 CFU/mL yoğunluğuna uygun olacak şekilde inoküle edildi. İnokülasyonu tamamlanan suşlar, 37°C'de 24 saatlik bir inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonrasında ise örnekler 1:100 oranında seyreltildi. Daha sonra, dilüe edilmiş örneğin yer aldığı sıvı kültürden belirli konsantrasyonlarda örnek alındı ve bu örneklerin, steril koşullar altında 24 kuyucuklu polistren plağa inokülasyonu gerçekleştirildi.

Çalışmamızın bu aşamasında; *S. epidermidis* ile *P. mirabilis*, *S. epidermidis* ile *C. albicans*, *P. mirabilis* ile *C. albicans* türlerinin ve söz konusu 3 türün tamamının bir arada bulunmalarının, biyofilm oluşumuna olan etkileri incelendi. İnokülasyonu tamamlanan örnekler, 37°C'de 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerine tabii tutuldu. Belirli süreler sonucunda oluşan biyofilmler, Bölüm 3.10.1. 'de açıklanan şekilde tayin edildi.

Yukarıdaki uygulamalarda sergilenen fotoğraflar; aksi belirtilmedikçe, Canon 450D ile, tarafımızdan çekildi.

4. SONUÇLAR

4.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Ankara'daki bir hastanenin farklı servislerinden toplanan suşlardan 20 adet *Staphylococcus epidermidis*, 15 adet *Proteus mirabilis* ve 30 adet *Candida albicans* türlerinin fenotipik identifikasyonu gerçekleştirildi ve çalışmaya bu suşlarla devam edildi.

4.2. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Türlerine Ait Suşların Teşhis Edilmesi

Çalışmamız kapsamında, Kanlı Agar'da hemoliz yapmayan ve beyaz renkli koloniler oluşturan, mikroskobik olarak; gram pozitif kok morfolojisinde olan, biyokimyasal olarak; DNAz, koagülaz, mannitol negatif, katalaz pozitif olan ve novobiyosin antibiyotiğine karşı duyarlılık sergileyen suşlar; *Staphylococcus epidermidis* olarak değerlendirildi (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarının Bilgileri ve Test Sonuçları

İzolat Numarası	Yaş	Cinsiyet	Klinik Materyal	Servis	DNAz Testi	Mannitol Testi	Koagülaz Testi	Sukroz Testi	Katalaz Testi	Novobiyosin'e Duyarlılık	Antibiyotip
Se1	24	E	Abse	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	-	-	-	+	+	H	ANT4
Se2	69	E	Kan Kültürü	Kalp – Damar Cerrahisi	-	-	-	+	+	H	ANT1
Se3	29	K	Vücut Diz Eklem Sıvısı	Dermatoloji	-	-	-	+	+	H	ANT10
Se4	30	K	Yara Kültürü	Genel Yoğun Bakım	-	-	-	+	+	H	ANT3
Se5	36	E	Yara Kültürü	Nöroloji	-	-	-	+	+	H	ANT3
Se6	36	E	Yara Kültürü	Genel Cerrahi	-	-	-	+	+	H	ANT2

Se7	12	E	Kan Kültürü	Acil Servis	-	+	H	ANT13
Se8	51	E	Yara Kültürü	Kalp – Damar Cerrahisi	-	+	H	ANT9
Se9	43	E	Kan Kültürü	Kalp – Damar Cerrahisi	-	+	H	ANT14
Se10	66	E	Kan Kültürü	Genel Yoğun Bakım	-	+	H	ANT15
Se11	50	K	Yara Kültürü	Kalp – Damar Cerrahisi	-	+	H	ANT16
Se12	36	E	Abse	Genel Cerrahi	-	+	H	ANT5
Se13	51	E	Yara Kültürü	Kalp - Damar Cerrahisi	-	+	H	ANT9
Se14	65	E	Kan Kültürü	Kalp – Damar Cerrahisi	-	+	H	ANT6
Se15	55	K	Kan Kültürü	Nöroloji	-	+	H	ANT7
Se16	79	E	Kan Kültürü	Nöroloji	-	+	H	ANT11
Se17	35	E	Abse	Genel Cerrahi	-	+	H	ANT4
Se18	61	E	Yara Kültürü	Kalp – Damar Cerrahisi	-	+	H	ANT8
Se19	55	E	Yara Kültürü	Göğüs Hastalıkları	-	+	H	ANT12
Se20	3	K	Burun Kültürü	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	-	+	H	ANT5

Kanlı Agar'da; kirli beyaz renkli, bulut gibi dalga dalga yayılan koloniler oluşturan, mikroskopik olarak; gram negatif basil morfolojisinde olan, biyokimyasal olarak; indol, laktoz negatif, metil kırmızısı, H₂S, sitrat, üre pozitif sonuç veren suşlar; *Proteus mirabilis* olarak değerlendirildi (Çizelge 4.2.).

Seçici–Ayırt edici özellikteki ChromAgar besiyerinde; yeşil renkli koloniler oluşturan, mikroskopik olarak; maya hücresi morfolojisinde olan ve germ tüp testine olumlu sonuç veren suşlar ise; *Candida albicans* olarak değerlendirildi (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.2. *Proteus mirabilis* Suşlarının Bilgileri ve Test Sonuçları

İzolat Numarası	Yaş	Cinsiyet	Klinik Materyal	Servis	İndol Testi	Laktoz Testi	Sitrat Testi	Üre Hidrolizi Testi	Metil Kırmızısı Testi	TSI Testi		Antibiyotip
										Glukoz	H ₂ S	
Pm1	24	E	Gaita	Acil Pediatri	-				+			ANT1
Pm2	73	K	İdrar	Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları	-				+			ANT5
Pm3	60	E	İdrar	Üroloji	-				+			ANT2
Pm4	2	E	İdrar	Acil Pediatri	-				+			ANT6
Pm5	2	E	Gaita	Çocuk Hastalıkları	-				+			ANT2
Pm6	21	E	Gaita	Acil Servis	-				+			ANT1
Pm7	1	E	İdrar	Kulak Burun ve Boğaz	-				+			ANT2
Pm8	2	K	İdrar	Acil Pediatri	-				+			ANT3
Pm9	24	K	Abse	Genel Cerrahi	-				+			ANT4
Pm10	1	E	İdrar	Çocuk Hastalıkları	-				+			ANT2
Pm11	2	E	İdrar	Çocuk Hastalıkları	-				+			ANT2
Pm12	4	E	İdrar	Üroloji	-				+			ANT3
Pm13	23	K	İdrar	Acil Servis	-				+			ANT4
Pm14	14	K	İdrar	Acil Pediatri	-				+			ANT7
Pm15	2	K	İdrar	Acil Pediatri	-				+			ANT8

Çizelge 4.3. *Candida albicans* Suşlarının Bilgileri ve Test Sonuçları

İzolat Numarası	Yaş	Cinsiyet	Klinik Materyal	Servis	Germ Tüp Testi	ChromAgar Üzerindeki Koloni Rengi	Antibiyo-tip
Ca1	32	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT2
Ca2	17	K	Vajen Kültürü	Acil Servis	+	Yeşil	ANT1
Ca3	18	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT2
Ca4	14	K	Vajen Kültürü	Üroloji	+	Yeşil	ANT1
Ca5	35	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca6	60	E	Trakeal Aspirasyon Kültürü	Genel Yoğun Bakım	+	Yeşil	ANT1
Ca7	26	K	Kan Kültürü	Kardiyoloji	+	Yeşil	ANT1
Ca8	78	K	Balgam Kültürü	Genel Yoğun Bakım	+	Yeşil	ANT3
Ca9	45	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT4
Ca10	51	E	Kan Kültürü	Kalp ve Damar Cerrahisi	+	Yeşil	ANT1
Ca11	79	K	Vajen Kültürü	Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	+	Yeşil	ANT3
Ca12	34	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca13	41	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca14	31	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca15	39	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1

Ca16	31	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca17	43	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca18	42	K	Vajen Kültürü	Gastroenteroloji	+	Yeşil	ANT1
Ca19	32	K	Vajen Kültürü	Kardiyoloji	+	Yeşil	ANT1
Ca20	31	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca21	45	K	Vajen Kültürü	Göğüs Hastalıkları	+	Yeşil	ANT1
Ca22	35	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT6
Ca23	32	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca24	26	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca25	30	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca26	35	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca27	26	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca28	35	K	Vajen Kültürü	Kulak Burun ve Boğaz	+	Yeşil	ANT1
Ca29	21	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT1
Ca30	30	K	Vajen Kültürü	Kadın Hastalıkları ve Doğum	+	Yeşil	ANT5

4.3. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının İzole Edildikleri Klinik Materyallere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

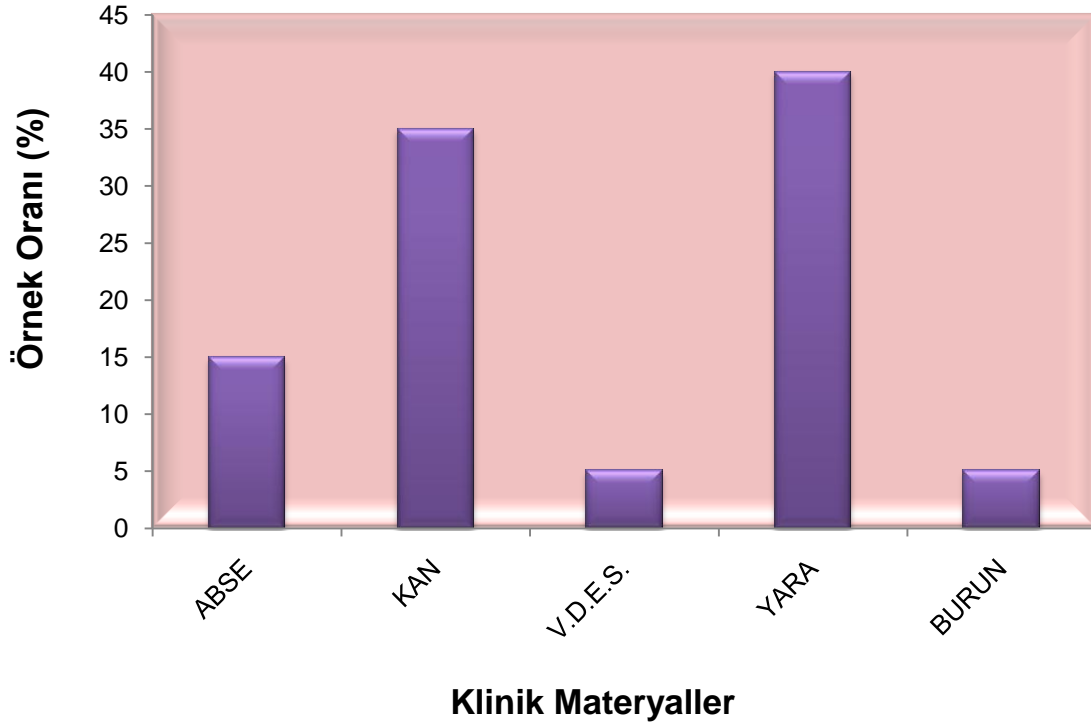
Staphylococcus epidermidis, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* türlerine ait suşların, izole edilmiş oldukları klinik materyallere göre dağılım oranları belirlendi.

Bu bağlamda, *S. epidermidis* suşlarının; 5 farklı klinik materyalden izole edildikleri, Yara Yeri ve Kan kültürlerinden izole edilen *S. epidermidis* suşlarının ise; diğer klinik materyallerden izole edilen *S. epidermidis* suşlarına göre daha fazla sayıda oldukları saptandı (%40; %35) (Şekil 4.1.). İlave olarak, Vücut Diz Eklem Sıvısı ve Burun kültürlerinden izole edilen *S. epidermidis* suşlarının; eşit oranda oldukları gözlemlendi (%5) (Şekil 4.1.).

P. mirabilis suşları incelendiği takdirde; bu suşların izolasyonunun yalnızca 3 farklı klinik materyalden gerçekleştirildiği, Abse kültüründen izole edilen *P. mirabilis* suşlarının ise; Gaita ve İdrar kültürlerinden izole edilen *P. mirabilis* suşlarına göre daha az sayıda oldukları saptandı (Şekil 4.2.). İlave olarak, *P. mirabilis* izolasyonunun en sık gerçekleştirildiği klinik materyalin; İdrar kültürü (%73.3) olduğu belirlendi (Şekil 4.2.).

C. albicans suşlarının klinik materyallere göre dağılımı incelendiği takdirde ise; bu suşların 4 farklı materyalden izole edildikleri; fakat Vajen kültürü dışında hiç bir materyaldeki dağılım oranının; %10'u geçmediği gözlemlendi (Şekil 4.3.). Bu bağlamda; Vajen'den izole edilen *C. albicans* suşlarının oldukça yüksek oranda oldukları (%86.7) saptandı (Şekil 4.3.).

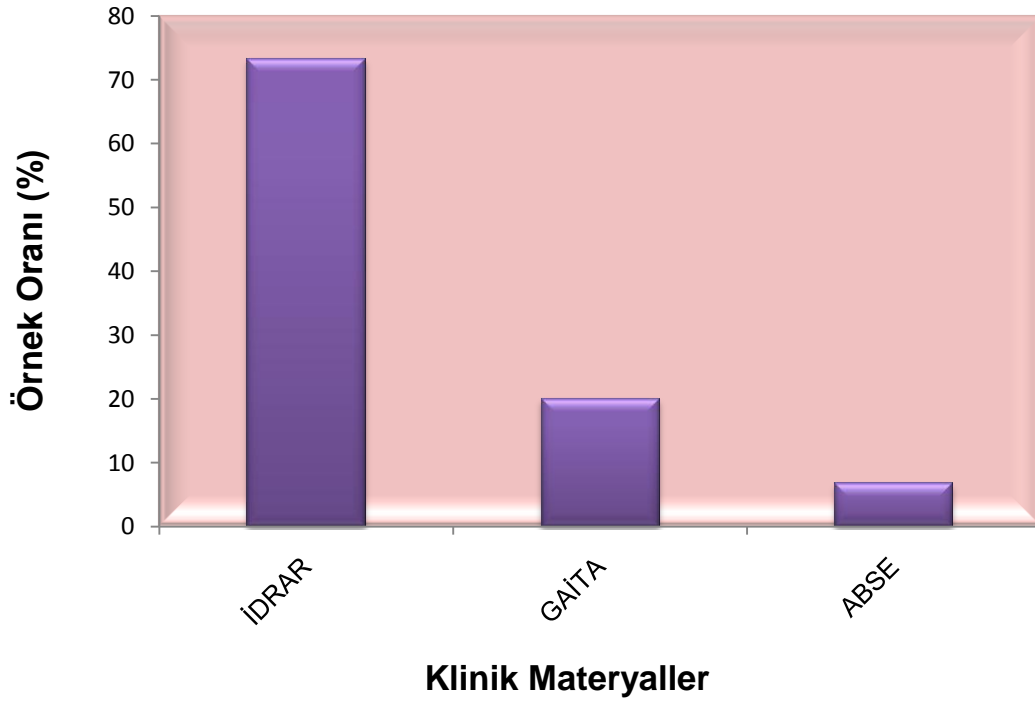
Türlerin izole edilmiş oldukları bütün klinik materyaller incelendiği takdirde, diğer türlere kıyasla *S. epidermidis* izolasyonunun daha fazla çeşitte klinik materyalden gerçekleştirildiği saptandı (Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.). İlave olarak, Abse materyalinden *S. epidermidis* ile *P. mirabilis* türü suşların izolasyonlarının, Kan'dan ise; *S. epidermidis* ile *C. albicans* türü suşların izolasyonlarının mümkün olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.).



Şekil 4.1. *S. epidermidis* suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları

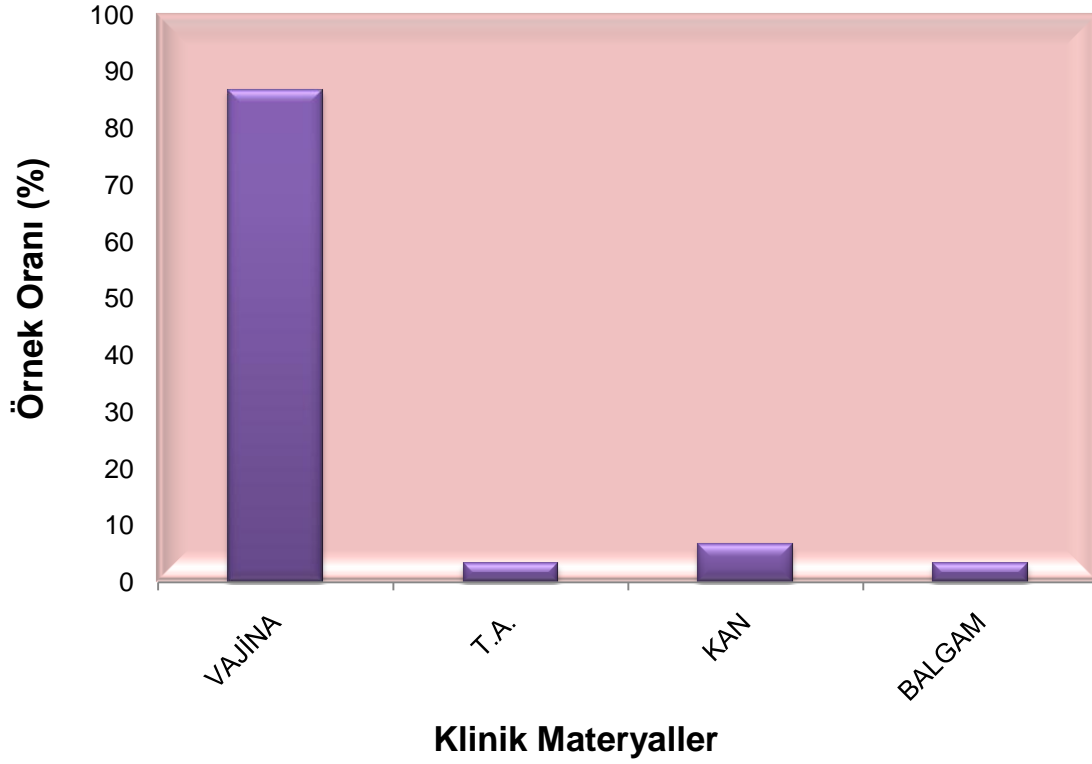
V.D.E.S.: Vücut Diz Eklem Sıvısı

*Klinik materyallere göre dağılım oranları; Bölüm 3.5.'te açıklandığı şekilde hesaplandı.



Şekil 4.2. *P. mirabilis* suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları

*Klinik materyallere göre dağılım oranları; Bölüm 3.5.'te açıklandığı şekilde hesaplandı.



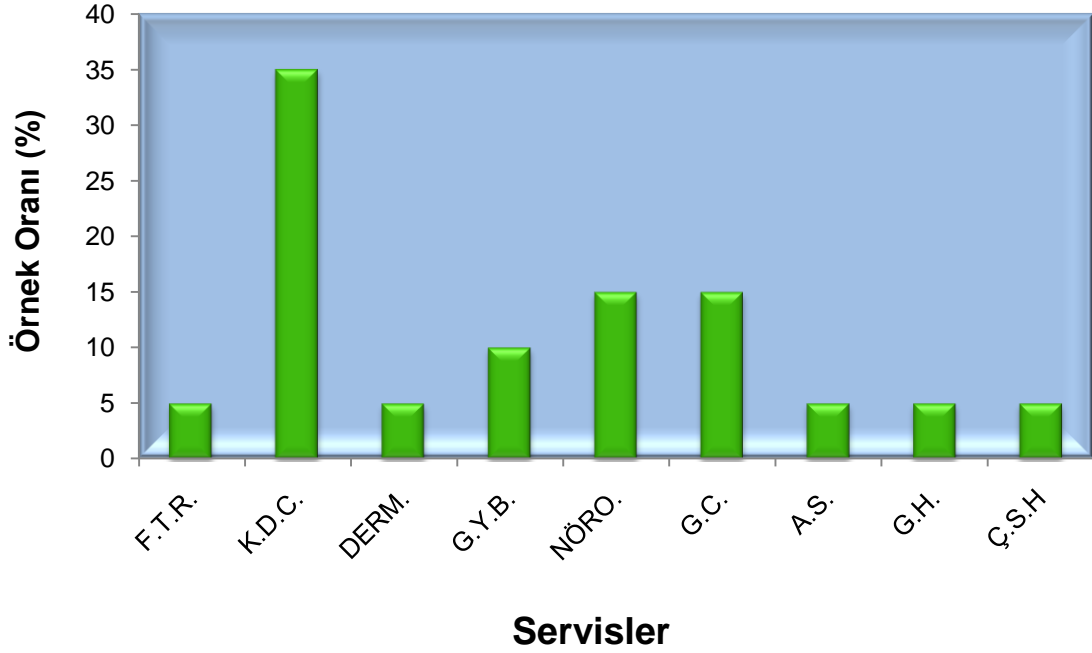
Şekil 4.3. *C. albicans* suşlarının klinik materyallere göre dağılım oranları

T.A.: *Trakeal Aspirat*.

*Klinik materyallere göre dağılım oranları; Bölüm 3.5.'te açıklandığı şekilde hesaplandı.

4.4. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının Farklı Servislere Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

Staphylococcus epidermidis suşlarının servislere göre dağılım oranları hesaplandığında, bu suşların 9 farklı servis ünitesinden izole edildikleri; Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, Dermatoloji, Acil Servis, Göğüs Hastalıkları ile Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ünitelerinden izole edilen *S. epidermidis* suşlarının ise, eşit oranda (%5) oldukları tespit edildi (Şekil 4.4.). Bu bağlamda, bu ünitelerden izole edilen *S. epidermidis* suşu sayısının, diğer servislerden izole edilen sayıya oranla daha düşük olduğu gözlemlendi. İlave olarak, *S. epidermidis* suşlarına en sık rastlanan servis ünitesinin; Kalp-Damar Cerrahisi (%35) olduğu ikinci sırada ise; Genel Cerrahi (%15) ile Nöroloji (%15) ünitelerinin yer aldıkları belirlendi (Şekil 4.4.).



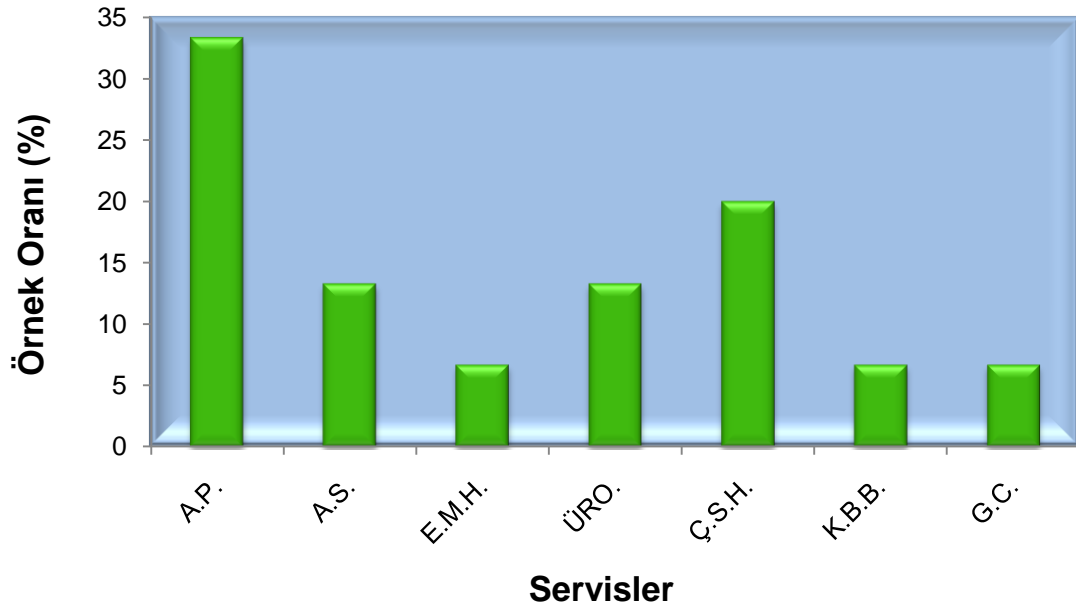
Şekil 4.4. *S. epidermidis* suşlarının servislere göre dağılım oranları

F.T.R.: Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon; K.D.C.: Kalp ve Damar Cerrahisi; DERM: Dermatoloji; G.Y.B.: Genel Yoğun Bakım; NÖRO: Nöroloji; G.C.: Genel Cerrahi; A.S.: Acil Servis; G.H.: Göğüs Hastalıkları; Ç.S.H.: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

*Servislere göre dağılım oranları; Bölüm 3.6.'da açıklandığı şekilde hesaplandı.

Proteus mirabilis suşları incelendiği takdirde; bu suşların 7 farklı servis ünitesinden izole edildikleri; Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları, Kulak Burun Boğaz ile Genel Cerrahi ünitelerinden izole edilen *P. mirabilis* suşlarının ise; eşit oranda (%6.7) oldukları tespit edildi. İlave olarak, *P. mirabilis* suşlarına en sık rastlanan servis ünitesinin; Acil Pediatri ünitesi olduğu (%33.3), ikinci sırada ise; Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ünitesinin yer aldığı (%20) belirlendi (Şekil 4.5).

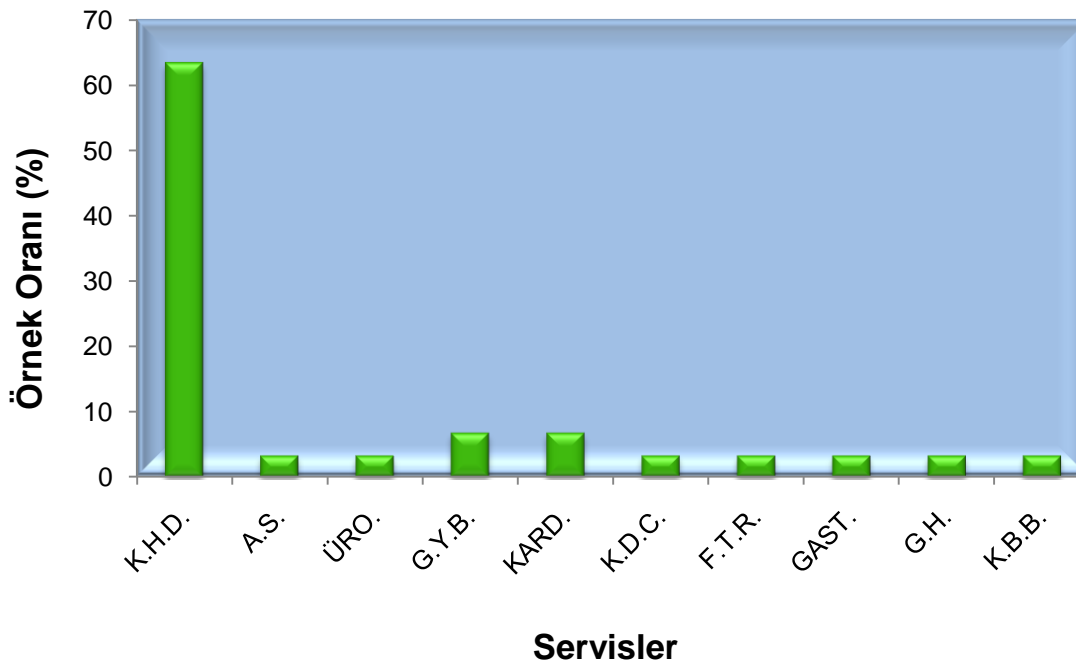
Candida albicans türlerinin servislere göre dağılımını incelendiği takdirde; bu suşların 10 farklı üniteden izole edildikleri; Acil Servis, Üroloji, Kalp ve Damar Cerrahisi, Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon, Gastroloji, Göğüs Hastalıkları ile Kulak Burun Boğaz ünitelerinden izole edilen *C. albicans* suşlarının ise; eşit oranda (%3.3) oldukları ve bu ünitelerden izole edilen *C. albicans* suşları oranının, diğer servislerden izole edilen oranlara kıyasla çok daha düşük olduğu saptandı (Şekil 4.6). Bu bağlamda, Kadın Hastalıkları ve Doğum ünitesi dışında hiç bir servis ünitesindeki dağılım oranının; %10'u geçmediği gözlemlendi (Şekil 4.6.). İlave olarak, *C. albicans* suşlarına en sık rastlanılan servis ünitesinin; Kadın Hastalıkları ve Doğum ünitesi olduğu (%63.3) belirlendi (Şekil 4.6).



Şekil 4.5. *P. mirabilis* suşlarının servislere göre dağılım oranları

A.P.: Acil Pediatri; A.S.: Acil Servis; E.M.H.: Endokrin ve Metabolizma Hastalıkları; ÜRO: Üroloji; Ç.S.H.: Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları; K.B.B.: Kulak Burun Boğaz; G.C.: Genel Cerrahi.

*Servislere göre dağılım oranları; Bölüm 3.6.'da açıklandığı şekilde hesaplandı.



Şekil 4.6. *C. albicans* suşlarının servislere göre dağılım oranları

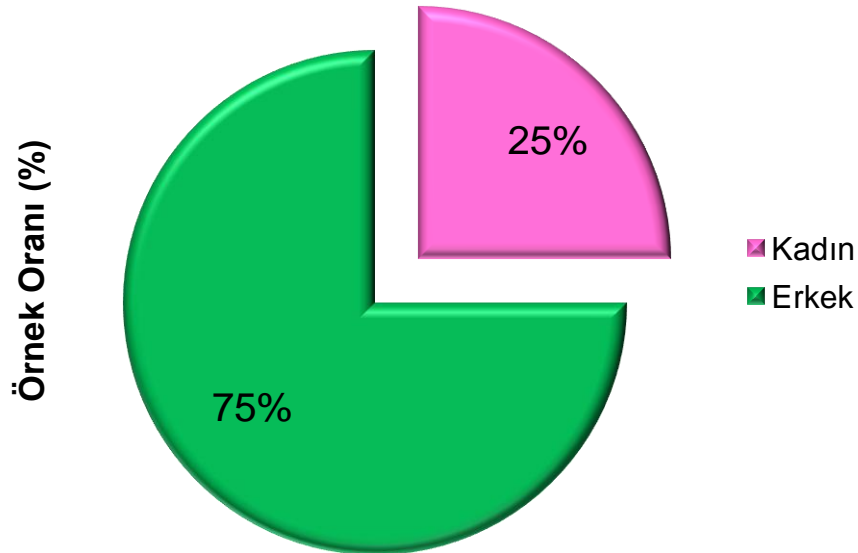
K.H.D.: Kadın Hastalıkları ve Doğum; A.S.: Acil Servis; ÜRO: Üroloji; G.Y.B.: Genel Yoğun Bakım; KARD: Kardiyoloji; K.D.C.: Kalp ve Damar Cerrahisi; F.T.R.: Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon; GAST: Gastroloji; G.H.: Göğüs Hastalıkları; K.B.B.: Kulak Burun Boğaz.

*Servislere göre dağılım oranları; Bölüm 3.6.'da açıklandığı şekilde hesaplandı.

Suşların servislere göre dağılımı toplu olarak değerlendirildiğinde, çalışmamızdaki üç farklı türe ait suşların; Acil Servis ünitesinde bulunabildiği gözlemlendi. İlave olarak; Göğüs Hastalıkları, Genel Yoğun Bakım ile Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon ünitelerinde; *S. epidermidis* ve *C. albicans* suşlarının bulunabildiği, Genel Cerrahi ile Çocuk Sağlığı ünitelerinde *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* suşlarının yer alabildiği, Üroloji ile Kulak Burun Boğaz ünitelerinde bulunan hastalardan ise; *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının izolasyonlarının söz konusu olabildiği gözlemlendi (Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.).

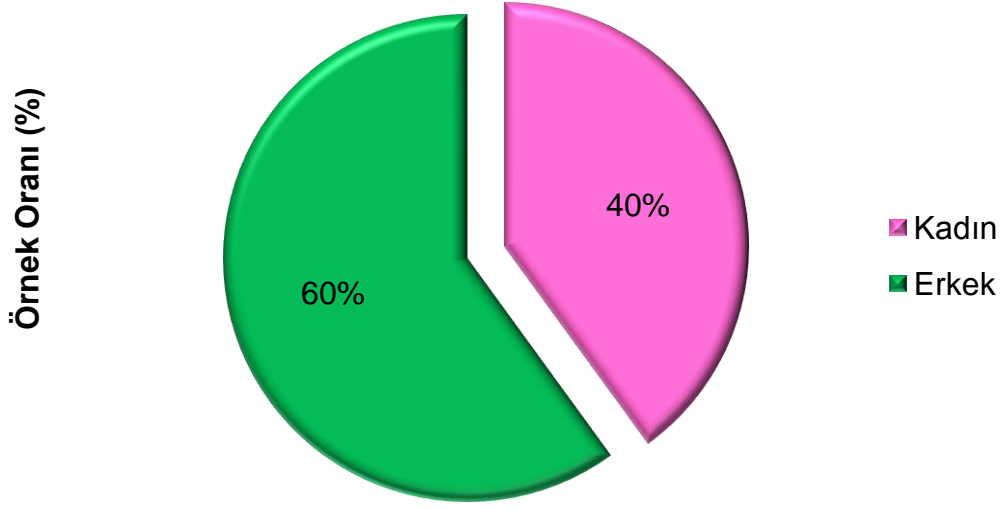
4.5. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının, İzole Edildikleri Hastaların Cinsiyetine Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

Staphylococcus epidermidis ve *Proteus mirabilis* suşları, izole edildikleri hastaların cinsiyetine göre incelendiğinde; erkek hastalarda kadın hastalara göre daha fazla *S. epidermidis* (%75) (Şekil 4.7.) ve *P. mirabilis* (%60) (Şekil 4.8.) suşlarına rastlandı. *C. albicans* suşlarının izole edilmiş oldukları hastalar incelendiği takdirde ise; bu hastaların çoğunluğunun kadın olduğu (%93.3) gözlemlendi (Şekil 4.9).

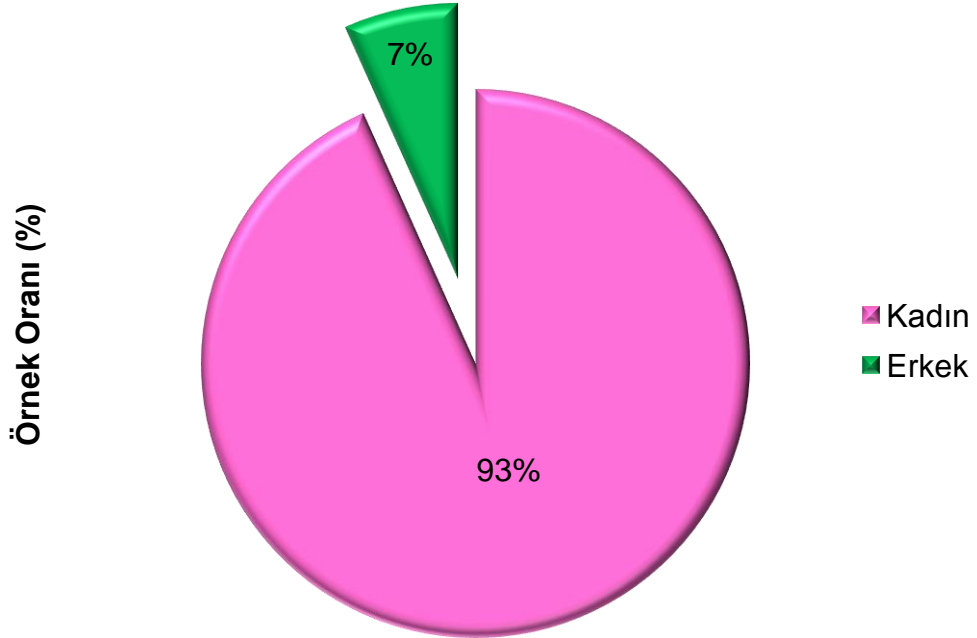


Şekil 4.7. *S. epidermidis* suşlarının, hasta cinsiyetine göre dağılım oranları

*Cinsiyete göre dağılım oranları; Bölüm 3.7.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.



Şekil 4.8. *P. mirabilis* suşlarının, hasta cinsiyetine göre dağılım oranları
*Cinsiyete göre dağılım oranları; Bölüm 3.7.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

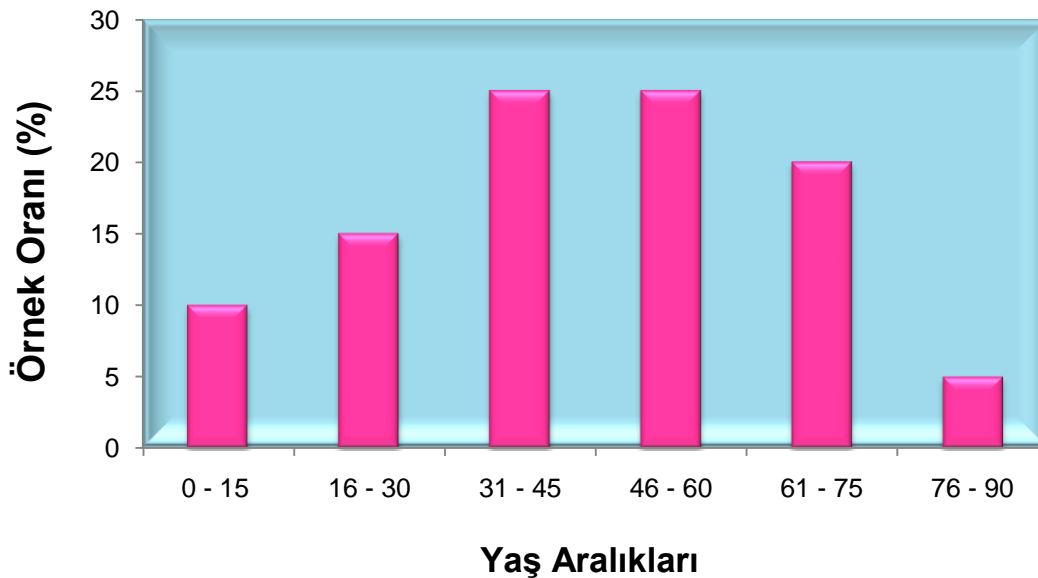


Şekil 4.9. *C. albicans* suşlarının, hasta cinsiyetine göre dağılım oranları
*Cinsiyete göre dağılım oranları; Bölüm 3.7.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

4.6. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının İzole Edildikleri Hastaların Yaşlarına Göre Dağılım Oranlarının Belirlenmesi

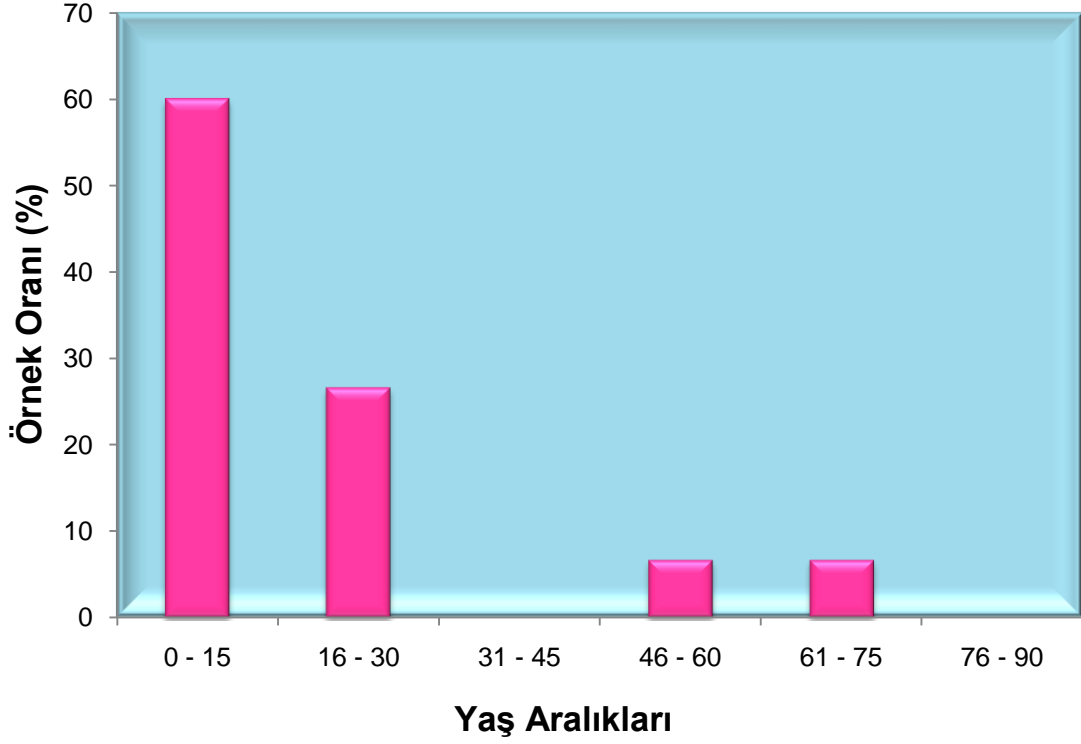
Çeşitli hastalardan izole edilen *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının, izole edildikleri hastalara ait yaş bilgilerine göre dağılım oranları belirlendi. Bu bağlamda, 0–15, 16–30, 31–45, 46–60, 61–75 ve 76–90 arası yaş aralıklarını içerecek şekilde 6 farklı yaş grubu oluşturuldu ve dağılım oranları bu yaş gruplarına göre saptandı.

S. epidermidis suşları en fazla oranda; 31–45 (%25) ve 46–60 (%25) yaş aralığında gözlenirken (Şekil 4.10.), *P. mirabilis* suşlarının izole edildikleri hastaların çoğunluğunun 0–15 yaş grubunda (% 60); yani çocuk yaşlarda oldukları gözlemlendi (Şekil 4.11.). İlave olarak, 31–45 ile 76–90 yaş aralıklarında olup da *P. mirabilis* enfeksiyonu geçiren herhangi bir hasta varlığına rastlanmadı (Şekil 4.11.). *C. albicans* suşlarının izole edildikleri hastalar incelendiği takdirde ise, bu hastaların; 31–45 yaşları arasında; yani orta yaşlarda yer aldıkları saptandı (Şekil 4.12.). İlave olarak, 0–15 yaş aralığında yer alan hastalardaki *C. albicans* izolasyonunun minimum seviyelerde olduğu, 61–75 yaş aralığında yer alan hastalarda ise; *C. albicans* izolasyonunun gerçekleşmediği belirlendi (Şekil 4.12.).

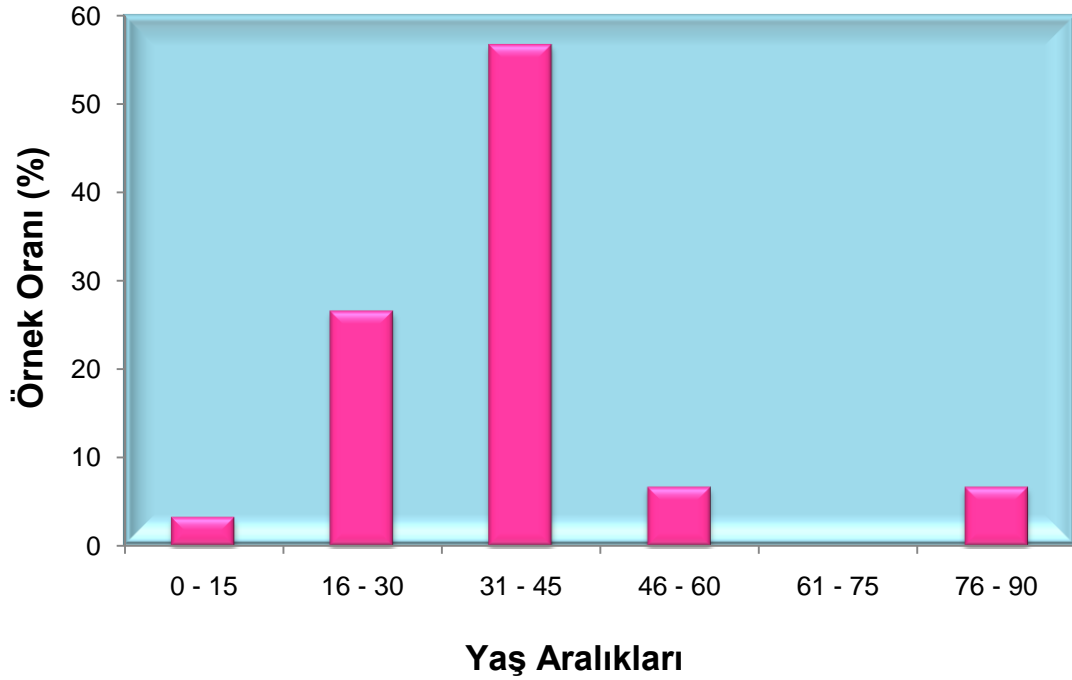


Şekil 4.10. *S. epidermidis* suşlarının, hasta yaşına göre dağılım oranları

*Yaşa göre dağılım oranları; Bölüm 3.8.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.



Şekil 4.11. *P. mirabilis* suşlarının, hasta yaşına göre dağılım oranları
 *Yaşa göre dağılım oranları; Bölüm 3.8.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

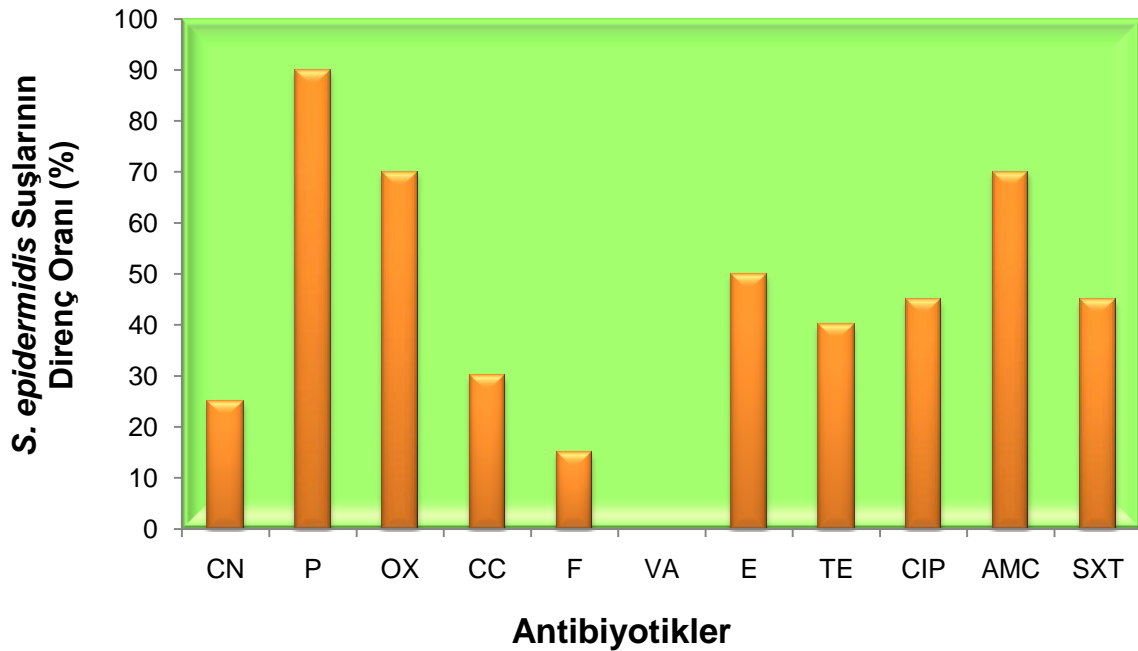


Şekil 4.12. *C. albicans* suşlarının, hasta yaşına göre dağılım oranları
 *Yaşa göre dağılım oranları; Bölüm 3.8.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

4.7. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Belirlenmesi

Çalışmamız kapsamında; *S. epidermidis* suşlarının, 11 farklı antibiyotiğe, *P. mirabilis* suşlarının 15 farklı antibiyotiğe, *C. albicans* suşlarının ise; 6 farklı antifungale karşı olan duyarlılıkları araştırıldı. Bu bağlamda, *S. epidermidis* suşlarında, en yüksek antibiyotik direnci; Penisilin G (P) antibiyotiğine karşı gözlenirken (%90) (Şekil 4.13.); *P. mirabilis* suşların tamamının, Klindamisin (CC) antibiyotiğine karşı dirençli olduğu (Şekil 4.14.); *C. albicans* suşlarında ise; kullanılan bütün antifungallerin yüksek düzeylerde etkili oldukları gözlemlendi (Şekil 4.15.).

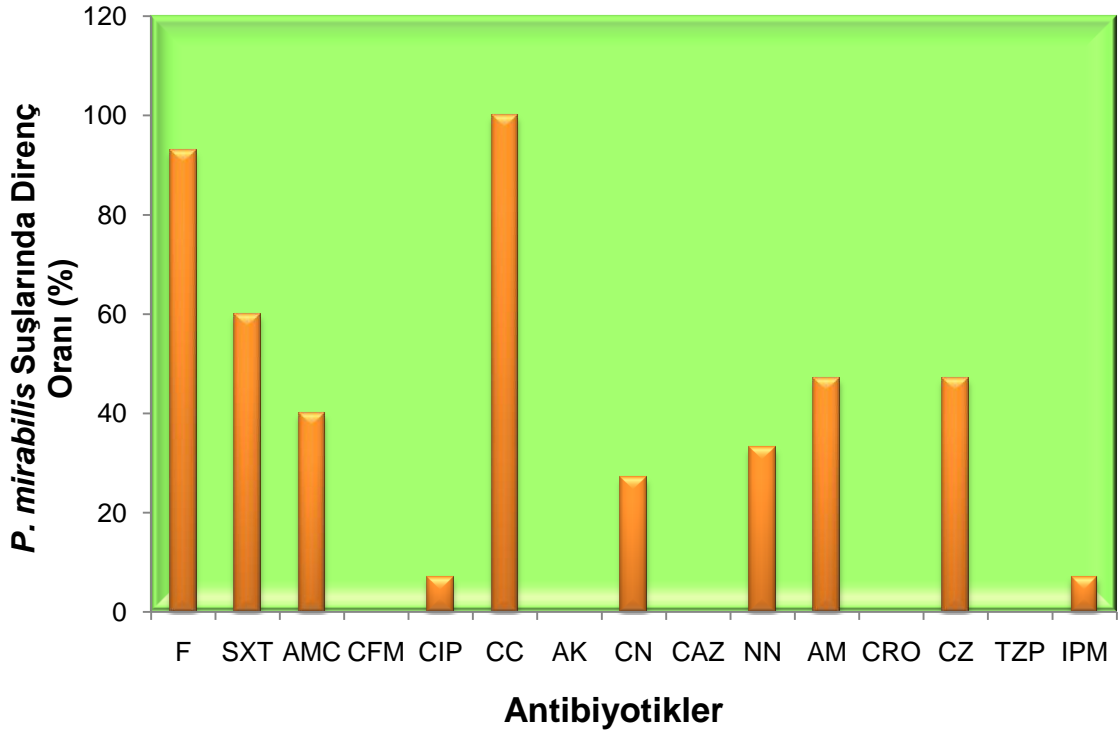
S. epidermidis suşlarının en yüksek oranlarda direnç gösterdikleri diğer antibiyotikler incelendiği taktirde, Oksasilin (OX) ile Amoksisilin-Klavulonik Asit (AMC) antibiyotiklerinin bu bağlamda 2. sırada (%70) yer aldıkları saptandı. Tüm antibiyotikler arasından Vankomisin (VA) antibiyotiğine karşı ise; çalışmadaki bütün *S. epidermidis* suşlarının duyarlı oldukları tespit edildi (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. *S. epidermidis* suşlarında, antibiyotik direnç oranları

CN: Gentamisin; P: Penisilin; OX: Oksasilin; CC: Klindamisin, F: Nitrofurantoin; VA: Vankomisin; E: Eritromisin; TE: Tetrasiklin; CIP: Siprofloksasin; AMC: Amoksisilin-Klavulonik Asit, SXT: Trimetoprim Sulfametoksazol.

*Antibiyotik direnç oranları; Bölüm 3.9.'da açıklandığı şekilde hesaplandı.



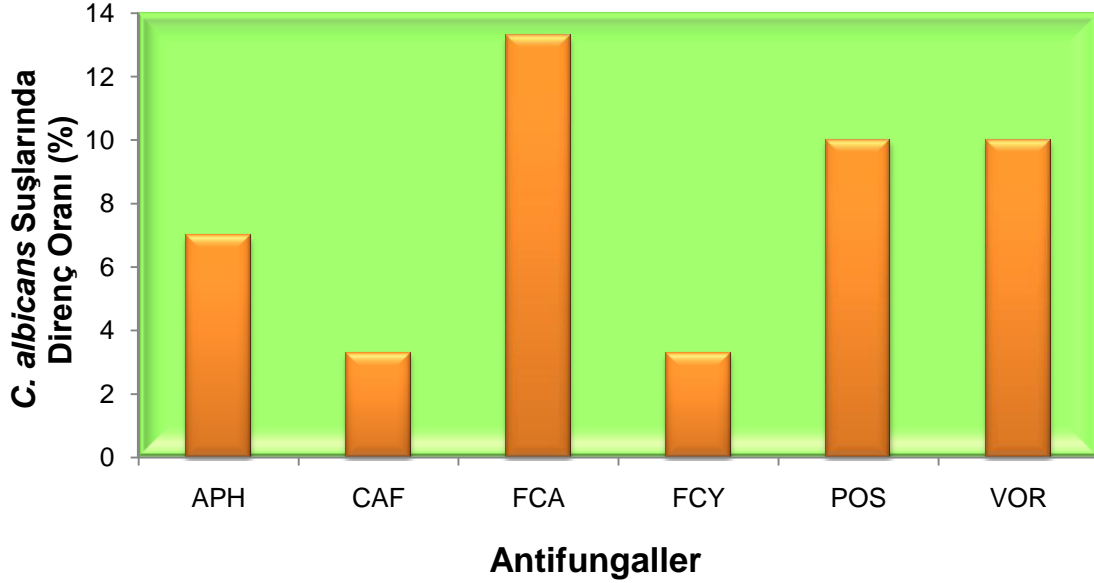
Şekil 4.14. *P. mirabilis* suşlarında, antibiyotik direnç oranları

F: Nitrofurantoin; *SXT*: Trimetoprim – Sulfametoksazol; *AMC*: Amoksisilin – Klavulanik asit; *CFM*: Sefiksım; *CIP*: Siprofloksasin; *CC*: Klindamisin; *AK*: Amikasin; *CN*: Gentamisin; *CAZ*: Seftazidim; *NN*: Tobramisin; *AM*: Ampisilin; *CRO*: Seftriakson; *CZ*: Sefazolin; *TZP*: Tazobaktampiperasilin; *IPM*: İmipenem.

*Antibiyotik direnç oranları; Bölüm 3.9.'da açıklandığı şekilde hesaplandı.

P. mirabilis suşlarından; Seftriakson (CRO), Sefiksım (CFM), Seftazidim (CAZ), Amikasin (AK) ve Piperasilin/Tazobaktam (TZP) antibiyotiklerine karşı dirençli suş varlığına rastlanmadı. Nitrofurantoin antibiyotiğinin ise; bu suşlar tarafından en yüksek direnç geliştirilen ikinci antibiyotik olduğu (%93) gözlemlendi (Şekil 4.14.).

C. albicans suşlarında ise; Flukanazol (FCA) antifungaline karşı geliştirilen *C. albicans* direncinin, diğer antifungallere kıyasla daha fazla olduğu belirlendi. Bu bağlamda, bu suşlar tarafından Flukonazol'e karşı geliştirilen direnç oranı; %13.3 olarak hesaplandı (Şekil 4.15.). İlave olarak, çalışmamız kapsamında kullanılan *C. albicans* suşlarının neredeyse tamamının; Kaspofungin (CAF) ve 5–Florositozin (FCY) antifungallerine karşı duyarlı oldukları, Amfoterisin B (APH) antifungalinin, bu suşlar üzerindeki etkinliğinin ise; Kaspofungin ve 5–Florositozin antifungallerinin etkinliklerinden daha düşük değerde olduğu gözlemlendi (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. *C. albicans* suşlarında, antifungal direnç oranları
 APH: Amfoterisin B; CAF: Kaspofungin; FCA: Flukonazol; FCY: 5 – Florositozin; POS: Posakonazol; VOR: Vorikonazol.

*Antifungal direnç oranları; Bölüm 3.9.'da açıklandığı şekilde hesaplandı.

4.8. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında Antibiyotiplerin Belirlenmesi ve Antibiyotip Oranlarının Hesaplanması

Çalışmamızda; *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* türlerinin, antibiyotip profillerine göre oluşturulan antibiyotip grupları incelendi. Bu bağlamda; *S. epidermidis* suşlarında 11 antibiyotiğe karşı 16 farklı antibiyotip profili (Çizelge 4.4.), *P. mirabilis* suşlarında; 15 antibiyotiğe karşı 8 farklı antibiyotip profili (Çizelge 4.5.), *C. albicans* suşlarında ise; 6 antifungale karşı 7 farklı antibiyotip profili (Çizelge 4.6.) belirlendi.

Çizelge 4.4. *S. epidermidis* Suşlarının Antibiyotik Paternleri ve Antibiyotipleri

SUŞ NO	CN	P	OX	VA	E	TE	CIP	CC	AMC	SXT	F	Antibiyotip
Se1	H	D	H	H	H	D	H	H	H	H	H	ANT4
Se2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT1

Se3	D	D	D	H	D	H	H	D	D	D	H	ANT10
Se4	H	D	H	H	D	H	H	H	H	H	H	ANT3
Se5	H	D	H	H	D	H	H	H	H	H	H	ANT3
Se6	H	D	H	H	H	H	H	H	H	H	H	ANT2
Se7	H	D	D	H	D	D	H	D	D	D	H	ANT13
Se8	H	D	D	H	D	H	D	H	D	D	H	ANT9
Se9	D	D	D	H	D	D	D	D	D	D	H	ANT14
Se10	D	D	D	H	D	H	D	D	D	D	D	ANT15
Se11	H	D	D	H	D	D	D	H	D	D	D	ANT16
Se12	H	D	D	H	H	H	H	H	D	H	H	ANT5
Se13	H	D	D	H	D	H	D	H	D	D	H	ANT9
Se14	H	H	D	H	H	D	D	D	D	H	H	ANT6
Se15	H	D	D	H	H	D	H	H	D	H	D	ANT7
Se16	D	D	D	H	H	D	D	H	D	D	H	ANT11
Se17	H	D	H	H	H	D	H	H	H	H	H	ANT4
Se18	H	D	D	H	H	H	D	H	D	D	H	ANT8
Se19	D	D	D	H	D	H	D	D	D	H	H	ANT12
Se20	H	D	D	H	H	H	H	H	D	H	H	ANT5

AMC; Amoksisilin-Klavulonik Asit, CC; Klindamisin, CIP; Siprofloksasin, CN; Gentamisin, E; Eritromisin, F; Nitrofurantoin OX; Oksasilin, P; Penisilin, SXT; Trimetoprim Sulfametoksazol, TE; Tetrasiklin, VA; Vankomisin

Çizelge 4.5. *P.mirabilis* Suşlarının Antibiyotik Paternleri ve Antibiyotileri

SUŞ NO	CRO	SXT	CFM	AMC	CN	CIP	CC	AK	TZP	CAZ	IPM	NN	AM	F	CZ	Antibiyotip
Pm1	H	D	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	ANT1
Pm2	H	D	H	D	D	H	D	H	H	H	H	D	D	H	D	ANT5

Pm3	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	ANT2
Pm4	H	D	H	H	H	H	D	H	H	H	D	H	H	D	H	ANT6
Pm5	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	ANT2
Pm6	H	D	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	ANT1
Pm7	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	ANT2
Pm8	H	D	H	D	D	H	D	H	H	H	H	D	D	D	D	ANT3
Pm9	H	D	H	D	H	H	D	H	H	H	H	H	D	D	D	ANT4
Pm10	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	ANT2
Pm11	H	H	H	H	H	H	D	H	H	H	H	H	H	D	H	ANT2
Pm12	H	D	H	D	D	H	D	H	H	H	H	D	D	D	D	ANT3
Pm13	H	D	H	D	H	H	D	H	H	H	H	H	D	D	D	ANT4
Pm14	H	D	H	D	H	H	D	H	H	H	H	D	D	D	D	ANT7
Pm15	H	H	H	H	D	D	D	H	H	H	H	D	D	D	D	ANT8

CRO; Seftriakson, *SXT*; Trimetoprim – Sulfametoksazol, *CFM*; Sefiksim, *AMC*;
 Amoksisilin – Klavulanik asit, *CN*; Gentamisin, *CC*; Klindamisin, *CIP*; Siprofloksasin, *AK*;
 Amikasin, *TZP*; Tazobaktampiperasilin, *CAZ*; Seftazidim, *IPM*; Imipenem, *NN*; Tobramisin,
AM; Ampisilin; *F*; Nitrofurantoin, *CZ*; Sefazolin

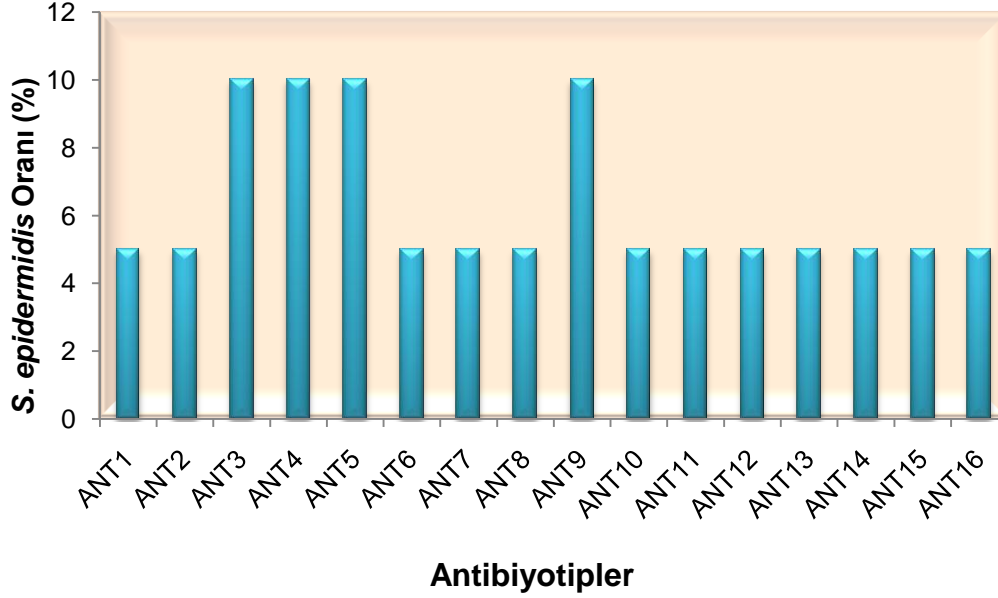
Çizelge 4.6. *C. albicans* Suşlarının Antifungal Paternleri ve Antibiyotip

Suş Sayısı	APH	CAF	FCA	FCY	POS	VOR	Antibiyotip
Ca1	H	H	D	H	H	H	ANT2
Ca2	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca3	H	H	D	H	H	H	ANT2
Ca4	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca5	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca6	H	H	H	H	H	H	ANT1

Ca7	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca8	H	H	D	H	D	D	ANT3
Ca9	H	D	H	H	D	D	ANT4
Ca10	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca11	H	H	D	H	D	D	ANT3
Ca12	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca13	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca14	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca15	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca16	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca17	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca18	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca19	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca20	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca21	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca22	H	H	H	D	H	H	ANT6
Ca23	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca24	D	H	H	H	H	H	ANT1
Ca25	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca26	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca27	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca28	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca29	H	H	H	H	H	H	ANT1
Ca30	D	H	H	H	H	H	ANT5

APH: Amfoterisin B; CAF: Kaspofungin; FCA: Flukonazol; FCY: 5-Florositozin; POS: Posakonazol; VOR: Vorikonazol.

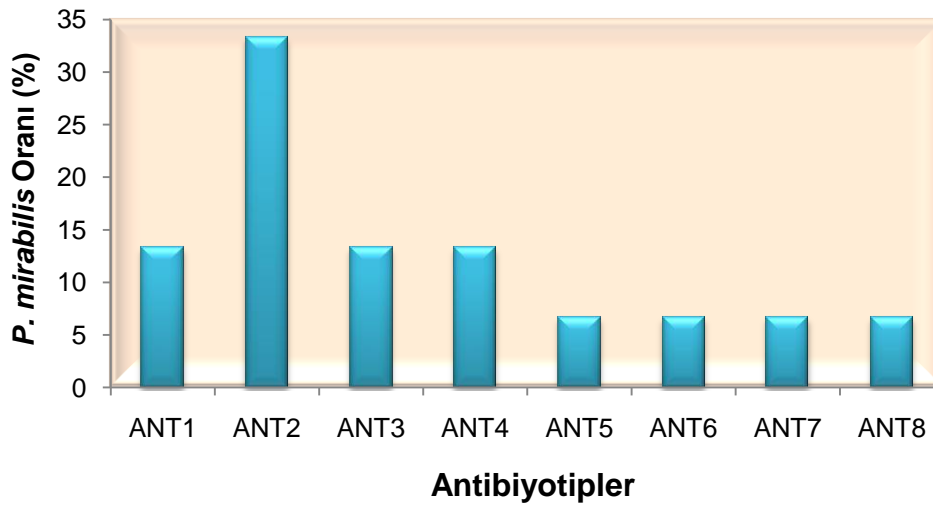
S. epidermidis suşlarında; en sık gözlenen antibiyotip profillerinin; ANT3, ANT4, ANT5 ve ANT9 oldukları belirlendi (Şekil 4.16.). İlave olarak, bu profillerin dağılım oranlarının eşit olduğu saptandı.



Şekil 4.16. *S. epidermidis* suşlarının antibiyotiplere göre dağılımı

*Antibiyotiplere göre dağılım oranları; Bölüm 3.9.2.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

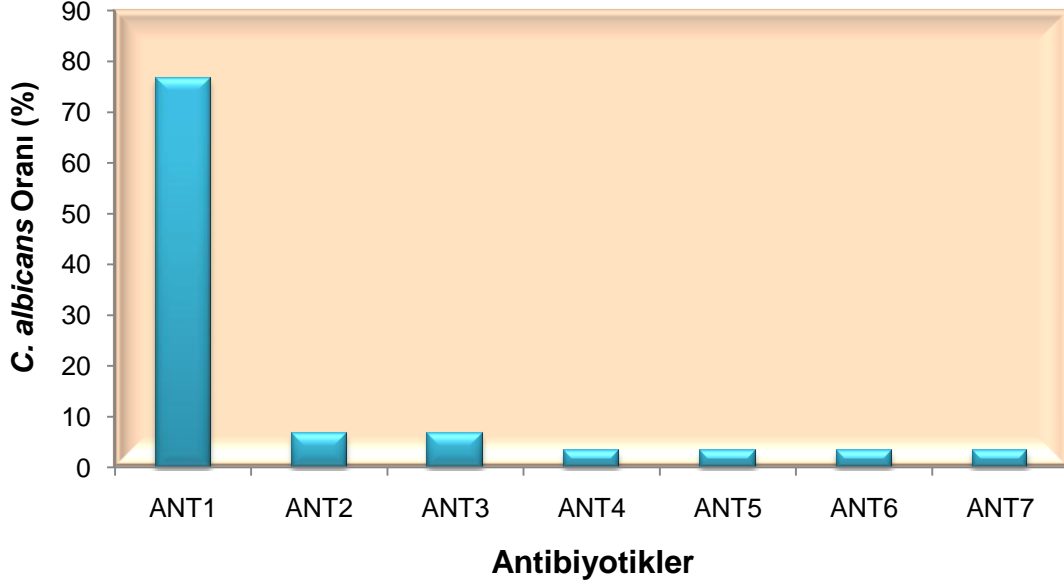
P. mirabilis suşlarına bakıldığı takdirde, 8 farklı antibiyotip arasından en sık karşılaşılan antibiyotip profilinin; ANT2 olduğu saptandı (Şekil 4.17.) ve ANT2 grubuna dahil olan suşların %60'ının, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ünitesinden izole edildikleri gözlemlendi (Çizelge 4.2., 4.5.).



Şekil 4.17. *P. mirabilis* suşlarının antibiyotiplere göre dağılımı

* Antibiyotiplere göre dağılım oranları; Bölüm 3.9.2.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

C. albicans suşlarında ise, en sık karşılaşılan antibiyotip profilinin ANT1 olduğu (% 76.7) ve ANT1 dışındaki hiç bir profilin %15'i geçemediği saptandı (Şekil 4.18.). ANT1 grubuna dahil olan *C. albicans* suşlarının antifungal dirençlilikleri incelendiği takdirde ise; tüm suşların 6 farklı antifungale birden duyarlı oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.6.).



Şekil 4.18. *C. albicans* suşlarının antibiyotiplere göre dağılımı

*Antibiyotiplere göre dağılım oranları; Bölüm 3.9.2.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

4.9. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Türlerinde, Çoklu Antimikrobiyal Dirence Sahip Olan Suşların Belirlenmesi

S. epidermidis suşları incelendiği takdirde; suşların %5'inin bütün antibiyotiklere karşı duyarlı oldukları saptanırken; 11 antibiyotiğe birden dirençli herhangi bir suş varlığına rastlanmadı. İlave olarak, 7 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren *S. epidermidis* suşları oranının en yüksek sıklıkta olduğu (%20) tespit edildi (Çizelge 4.7) ve bu suşlardan çoğunun; Kalp–Damar Cerrahisi ünitesinde yatmakta olan hastalardan izole edilmiş oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.1., Çizelge 4.4.).

P. mirabilis suşlarında, bütün 15 antibiyotiğe birden dirençli veya bu antibiyotiklerin hepsine birden hassas herhangi bir suş varlığına rastlanmamış olup, 2 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren suş oranının en yüksek sıklıkta olduğu (%33) saptandı (Çizelge 4.7). İlave olarak, 2 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren

suşların hepsinin; ANT2 profilinde oldukları ve 15 antibiyotik içerisinde sadece, Klindamisin (CC) ile Nitrofurantoin (F) antibiyotiklerine karşı dirençli oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.5). *C. albicans* suşlarında ise; suşların %76.7'sinin bütün antifungallere karşı duyarlı oldukları hesaplanırken, 6 antifungale birden dirençli herhangi bir suş varlığına rastlanmadı. Bütün suşların ise; maksimum 3 farklı sayıda antifungale karşı direnç geliştirebildikleri saptandı (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* Suşlarında Çoklu Antimikrobiyal Direnç

Antimikrobiyal Ajan Sayısı	Dirençli <i>S. epidermidis</i> Suşlarının Yüzde Değeri	Dirençli <i>P. mirabilis</i> Suşlarının Yüzde Değeri	Dirençli <i>C. albicans</i> Suşlarının Yüzde Değeri
0	5	0	76.7
1 Antimikrobiyal	5	0	10
2 Farklı Antimikrobiyal	20	33.3	3.33
3 Farklı Antimikrobiyal	10	13.3	10
4 Farklı Antimikrobiyal	0	6.7	0
5 Farklı Antimikrobiyal	15	0	0
6 Farklı Antimikrobiyal	10	13.3	0
7 Farklı Antimikrobiyal	20	20	-
8 Farklı Antimikrobiyal	5	13.3	-
9 Farklı Antimikrobiyal	10	0	-
10 Farklı Antimikrobiyal	0	0	-
11 Farklı Antimikrobiyal	0	0	-
12 Farklı Antimikrobiyal	-	0	-
13 Farklı Antimikrobiyal	-	0	-
14 Farklı Antimikrobiyal	-	0	-
15 Farklı Antimikrobiyal	-	0	-

*Çoklu antimikrobiyal dirence sahip suşlar Bölüm 3.9.2.'de açıklandığı şekilde hesaplandı.

4.10. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

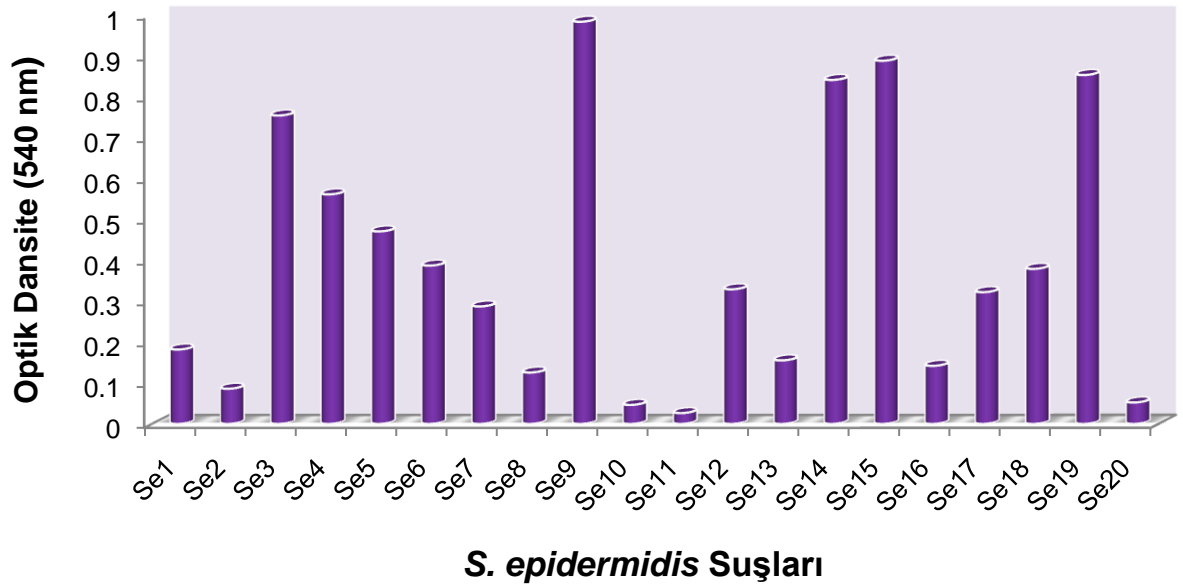
Farklı klinik materyallerden izole edilen; *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının; "Plak Üzerinde Kristal Viyole Boyamalı Biyofilm Ölçümü" tekniği kullanılarak biyofilm oluşumları incelendi ve elde edilen değerlere göre suşlar, farklı gruplar altında sınıflandırıldı.

4.10.1. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarında Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi

S. epidermidis suşlarının %25'inin; BF Tip2 grubunda olup, 0.7–1.0 OD aralığında biyofilm oluşturdukları saptandı (Çizelge 4.8.). Bu bağlamda BF Tip2 grubu suşların klinik bilgileri incelendi ve bu suşlardan %40'ının; Kalp Damar Cerrahisi ünitesinde bulunan hastaların, Kan kültürlerinden izole edilmiş oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.1.). Farklı servislerde yatan hastalara ait Yara Yeri kültüründen izole edilen *S. epidermidis* suşlarının çoğunun ise; orta düzeylerde biyofilm oluşturdukları gözlemlendi (Çizelge 4.1., Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. *Staphylococcus epidermidis* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

Biyofilm Oluşumu	OD (540 nm)	<i>S. epidermidis</i> Suşları	Suş Yüzdesi	Biyofilm Grubu
++++	1.0 – 1.3	-	0	BF Tip1
+++	0.7 – 1.0	Se3, Se9, Se14, Se15, Se19	25	BF Tip2
++	0.4 – 0.7	Se4, Se5	10	BF Tip3
+	0.1 – 0.4	Se1, Se6, Se7, Se8, Se12, Se13, Se16, Se17, Se18	45	BF Tip4
-	0 – 0.1	Se2, Se10, Se11, Se20	20	BF Tip5



Şekil 4.19. *S. epidermidis* suşlarında biyofilm oluşumu
*Biyofilm oluşumu; Bölüm 3.10.'da açıklandığı şekilde belirlendi.

Çalışmamızda kullanılan bütün *S. epidermidis* suşları arasında en yüksek biyofilm oluşturan suşun; Se9 suşu olduğu (Şekil 4.19.) ve bu suşun; Kalp–Damar Cerrahisi ünitesinde bulunan, 43 yaşındaki bir hastanın, Kan kültüründen izole edilmiş olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.1.).

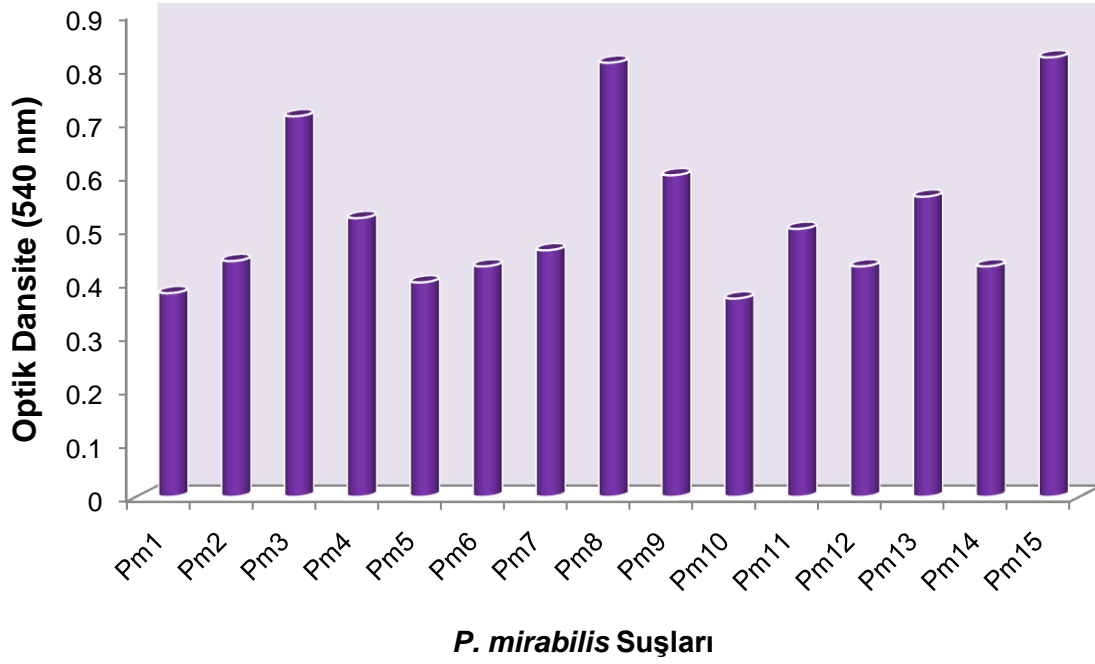
4.10.2. *Proteus mirabilis* Suşlarında Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi

P. mirabilis suşlarından, %10'unun; BF Tip2 grubunda olup 0.7–1.0 OD aralığında biyofilm oluşturdıkları saptandı (Çizelge 4.9.). Bu bağlamda BF Tip2 grubunda yer alan suşların klinik bilgileri incelendi ve bu suşların çoğunun; Acil Pediatri ünitesinde bulunan hastaların, İdrar kültürlerinden izole edilmiş oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.2.). Farklı servis ünitelerinde yatan hastalara ait Gaita ve Abse kültürlerinden izole edilen *P. mirabilis* suşlarının çoğunun ise; orta düzeylerde biyofilm oluşturdıkları gözlemlendi (Çizelge 4.2., Çizelge 4.9.).

Çizelge 4.9. *Proteus mirabilis* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

Biyofilm Oluşumu	OD (540 nm)	<i>P. mirabilis</i> Suşları	Suş Yüzdesi	Biyofilm Grubu
++++	1.0 – 1.3	-	0	BF Tip1
+++	0.7 – 1.0	Pm3, Pm8, Pm15	10	BF Tip2
++	0.4 – 0.7	Pm2, Pm4, Pm5, Pm6, Pm7, Pm9, Pm11, Pm12, Pm13, Pm14	33.3	BF Tip3
+	0.1 – 0.4	Pm1, Pm10	6.7	BF Tip4
-	0 – 0.1	-	0	BF Tip5

P. mirabilis suşları arasında en yüksek biyofilm oluşturan suşun; Pm15 suşu olduğu (Şekil 4.20.) ve bu suşun; Acil Pediatri ünitesinde bulunan, 2 yaşındaki bir hastanın İdrar kültüründen izole edilmiş olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.2.).



Şekil 4.20. *P. mirabilis* suşlarında biyofilm oluşumu

*Biyofilm oluşumu; Bölüm 3.10.'da açıklandığı şekilde belirlendi.

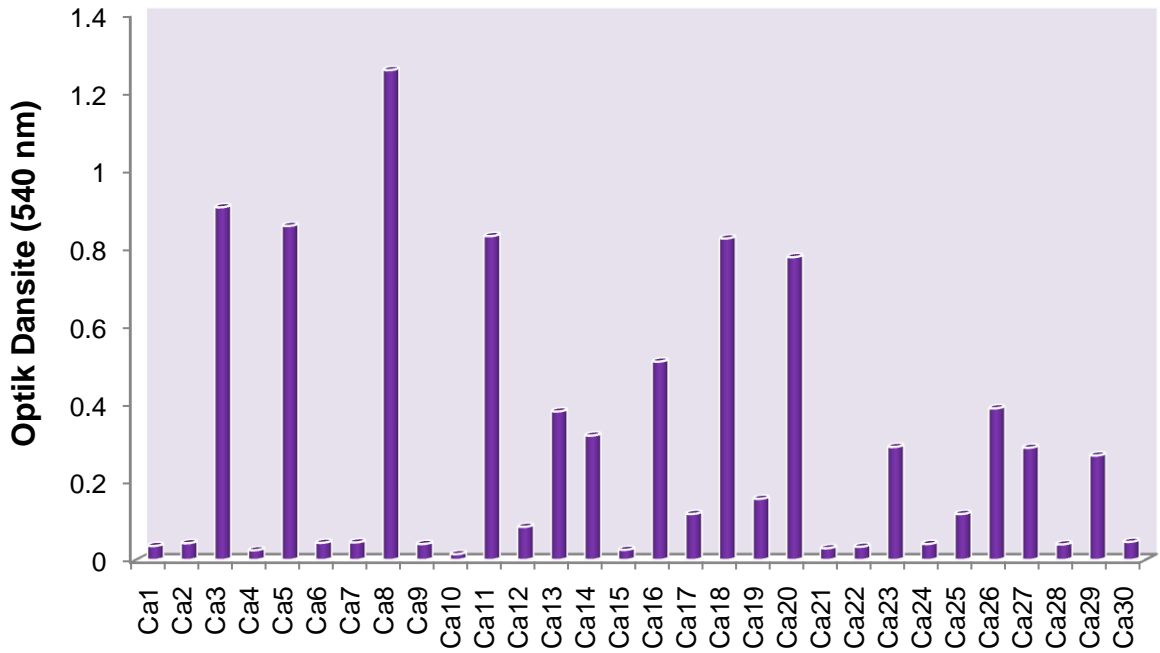
4.10.3. *Candida albicans* Suşlarında Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi

Çalışmamız kapsamında kullanılan *C. albicans* suşlarından %16.7'sinin; BF Tip2 grubunda olup 0.7–1.0 OD aralığında biyofilm oluşturdukları ve (Çizelge 4.10.) bu gruba dahil *C. albicans* suşlarından çoğunun; Kadın Hastalıkları ve Doğum ünitesinde bulunan, 31–45 yaş aralığındaki bayan hastaların Vajinal kültürlerinden izole edilmiş oldukları saptandı (Çizelge 4.3., Çizelge 4.10). Farklı servis ünitelerinde yatan hastalara ait Kan ve Trakeal Aspirasyon kültürlerinden izole edilen *C. albicans* suşlarının ise; minimum düzeylerde biyofilm oluşturdukları gözlemlendi (Çizelge 4.3., Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. *Candida albicans* Suşlarında Biyofilm Oluşumu

Biyofilm Oluşumu	OD (540 nm)	<i>C. albicans</i> Suşları	Suş Yüzdesi	Biyofilm Grubu
++++	1.0 – 1.3	Ca8	3.33	BF Tip1
+++	0.7 – 1.0	Ca3, Ca5, Ca11, Ca18, Ca20	16.7	BF Tip2

++	0.4 – 0.7	Ca16	3.33	BF Tip3
+	0.1 – 0.4	Ca13, Ca14, Ca17, Ca19, Ca23, Ca25, Ca26, Ca27, Ca29	30	BF Tip4
-	0 – 0.1	Ca1, Ca2, Ca4, Ca6, Ca7, Ca9, Ca10, Ca12, Ca15, Ca21, Ca22, Ca24, Ca28, Ca30	46.7	BF Tip5



C. albicans Suşları

Şekil 4.21. *C. albicans* suşlarında biyofilm oluşumu

*Biyofilm oluşumu; Bölüm 3.10.'da açıklandığı şekilde belirlendi.

Bütün *C. albicans* suşları arasında en yüksek biyofilm oluşturan suşun ise; Ca8 suşu olduğu (Şekil 4.21.) ve bu suşun; Genel Yoğun Bakım ünitesinde bulunan 78 yaşındaki bir hastanın Balgam kültüründen izole edildiği gözlemlendi (Çizelge 4.3.). İlave olarak, bu suşun; çalışmamız kapsamında kullanılan bütün suşlar arasında en yüksek Biyofilm OD değerine sahip olduğu ve BF Tip1 grubuna dahil olan tek suş olduğu görüldü (Çizelge 4.10.).

4.11. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının Biyofilm Oluşumlarıyla, Antimikrobiyal Ajanlara Karşı Dirençliliklerinin Karşılaştırılması

Çalışmamızın devamında, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* suşlarının; laboratuvar koşulları altında yapılan antimikrobiyal testi sonuçları ile, biyofilm oluşumları karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Bu bağlamda, *S. epidermidis* suşları içerisinde en yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu tespit edilen Se9 suşununun; 11 antibiyotik içerisinde 9'una karşı dirençli olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.11.). Benzer bir şekilde; antibiyotiklerden en az 5 tanesine dirençli oldukları saptanan; Se3, Se14, Se15 ve Se19 suşlarının da, yüksek miktarda biyofilm oluşturdukları ve BF Tip2 grubunda yer aldıkları saptandı (Çizelge 4.11).

Biyofilm oluşumu bakımından BF Tip5 grubunda yer alan ve minimum düzeyde biyofilm oluşturdukları tespit edilen *S. epidermidis* suşları incelendiği takdirde; Se2 suşunun, hiç bir antibiyotiğe karşı direnç geliştirmemiş olduğu gözlemlendi; fakat aynı biyofilm grubunda yer alan Se10 ve Se11 suşlarının, mevcut antibiyotiklerden çoğuna karşı dirençli oldukları belirlendi (Çizelge 4.11.).

Çizelge 4.11. *S. epidermidis* Suşlarının, Biyofilm Oluşumlarıyla Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması

<i>S. epidermidis</i> Suşları	Direnç Gözlenen Antibiyotikler	Direnç Gözlenen Antibiyotik Sayısı	Biyofilm Oluşumu	
Se1	P, TE	2	+	BF Tip4
Se2	-	0	-	BF Tip5
Se3	CN, P, OX, E, CC, AMC, SXT	7	+++	BF Tip2
Se4	P, E	2	++	BF Tip3
Se5	P, E	2	++	BF Tip3
Se6	P	1	+	BF Tip4

Se7	P, OX, TE, E, CC, AMC, SXT	7	+	BF Tip4
Se8	P, OX, E, CIP, AMC, SXT	6	+	BF Tip4
Se9	CN, P, OX, E, TE, CIP, CC, AMC, SXT	9	+++	BF Tip2
Se10	CN, P, OX, E, CIP, CC, AMC, SXT, F	9	-	BF Tip5
Se11	P, OX, E, TE, CIP, AMC, SXT, F	8	-	BF Tip5
Se12	P, OX, AMC	3	+	BF Tip4
Se13	P, OX, E, CIP, AMC, SXT	6	+	BF Tip4
Se14	OX, TE, CIP, CC, AMC	5	+++	BF Tip2
Se15	P, OX, TE, AMC, F	5	+++	BF Tip2
Se16	CN, P, OX, TE, CIP, AMC, SXT	7	+	BF Tip4
Se17	P, TE	2	+	BF Tip4
Se18	P, OX, CIP, AMC, SXT	5	+	BF Tip4
Se19	CN, P, OX, E, CIP, CC, AMC	7	+++	BF Tip2
Se20	P, OX, AMC	3	-	BF Tip5

P. mirabilis suşları incelendiği takdirde; maksimum miktarda biyofilm oluşturduğu tespit edilen Pm15 suşunun; 15 farklı antibiyotik içerisinde 7'sine karşı dirençli olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.12.). Benzer şekilde, 8 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olduğu tespit edilen Pm8 suşunun da; oldukça yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu görüldü; fakat yapılan incelemeler, 8 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olduğu gözlenen Pm2 ve Pm12 suşlarının; orta seviyelerde biyofilm oluşturmuş olduklarını göstermektedir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. *P. mirabilis* Suşlarının, Biyofilm Oluşumlarıyla Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması

<i>P. mirabilis</i> Suşları	Direnç Gözlenen Antibiyotikler	Direnç Gözlenen Antibiyotik Sayısı	Biyofilm Oluşumu	
Pm1	SXT, CC, F	3	+	BF Tip4
Pm2	SXT, AMC, CN, CC, NN, AM, CZ	7	++	BF Tip3
Pm3	CC, F	2	+++	BF Tip2
Pm4	SXT, CC, IPM, F	4	++	BF Tip3
Pm5	CC, F	2	++	BF Tip3
Pm6	SXT, CC, F	3	++	BF Tip3
Pm7	CC, F	2	++	BF Tip3
Pm8	SXT, AMC, CN, CC, NN, AM, F, CZ	8	+++	BF Tip2
Pm9	SXT, AMC, CC, AM, F, CZ	6	++	BF Tip3
Pm10	CC, F	2	+	BF Tip4
Pm11	CC, F	2	++	BF Tip3
Pm12	SXT, AMC, CN, CC, NN, AM, F, CZ	8	++	BF Tip3
Pm13	SXT, AMC, CC, AM, F, CZ	6	++	BF Tip3
Pm14	SXT, AMC, CC, NN, AM, F, CZ	7	++	BF Tip3
Pm15	CN, CIP, CC, NN, AM, F, CZ	7	+++	BF Tip2

İlave olarak; BF Tip2 grubunda yer aldığı ve yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu gözlenen Pm3 suşunun, sadece 2 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştirebildiği ve bu antibiyotiklerin; Klindamisin (CC) ile Nitrofurantoin (F) gibi son derece düşük etkinliği olan antibiyotikler oldukları belirlendi (Çizelge 4.12.).

C. albicans suşları incelendiği taktirde ise; çok yüksek biyofilm oluşturdukları tespit edilen Ca8 ve Ca11 suşlarında, farklı antifungallere karşı olan direncin de yüksek olduğu ve bu suşların; çalışmada kullanılan 6 antifungal içerisinden 3'üne karşı dirençli oldukları gözlemlendi; fakat çalışmamızda, 2. en yüksek biyofilm oluşturan Ca3 suşunun; sadece Flukonazol (FCA) antifungaline karşı dirençli olduğu görüldü (Çizelge 4.13.). Bütün antifungallere tamamen duyarlı oldukları saptanan; Ca5, Ca18 ve Ca20 suşlarının ise, yüksek miktarda biyofilm oluşturdıkları ve BF Tip2 grubunda buldukları gözlemlendi.

Çizelge 4.13. *C. albicans* Suşlarının, Biyofilm Oluşumlarıyla Antifungal Dirençliliklerinin Karşılaştırılması

<i>C. albicans</i> Suşları	Direnç Gözlenen Antifungaller	Direnç Gözlenen Antifungal Sayısı	Biyofilm Oluşumu	
Ca1	FCA	1	-	BF Tip5
Ca2	-	0	-	BF Tip5
Ca3	FCA	1	+++	BF Tip2
Ca4	-	0	-	BF Tip5
Ca5	-	0	+++	BF Tip2
Ca6	-	0	-	BF Tip5
Ca7	-	0	-	BF Tip5
Ca8	FCA, POS, VOR	3	++++	BF Tip1
Ca9	CAF, POS, VOR	3	-	BF Tip5
Ca10	-	0	-	BF Tip5
Ca11	FCA, POS, VOR	3	+++	BF Tip2

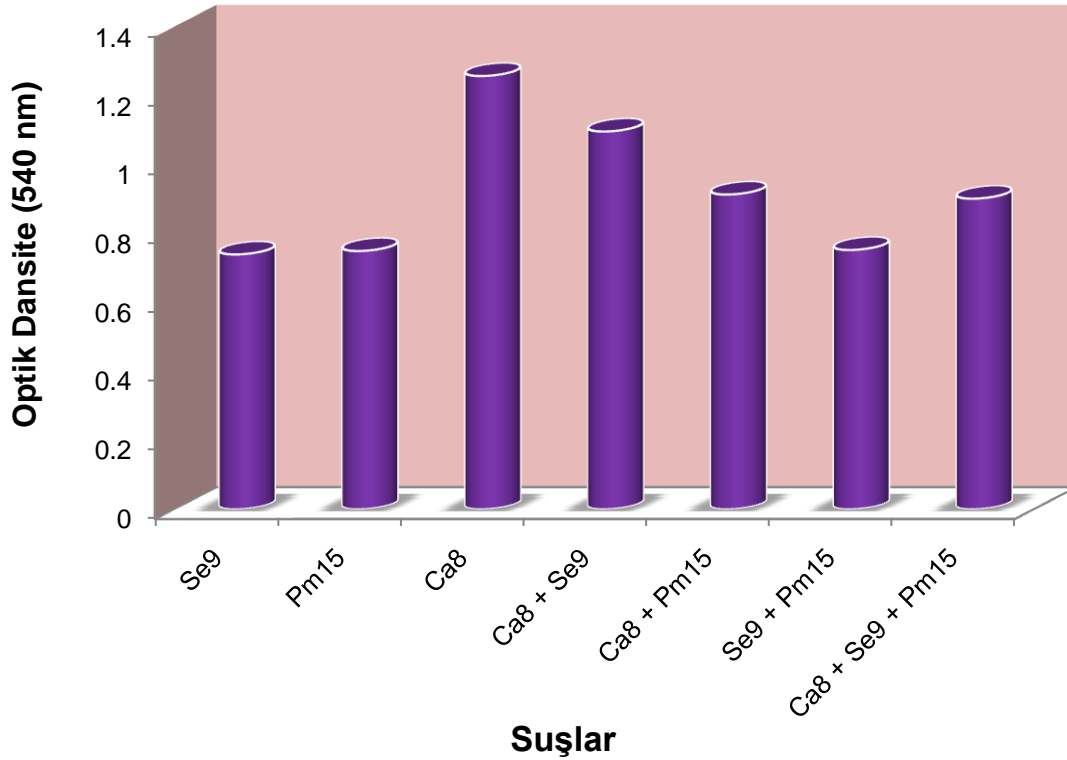
Ca12	-	0	-	BF Tip5
Ca13	-	0	+	BF Tip4
Ca14	-	0	+	BF Tip4
Ca15	-	0	-	BF Tip5
Ca16	-	0	++	BF Tip3
Ca17	-	0	+	BF Tip4
Ca18	-	0	+++	BF Tip2
Ca19	-	0	+	BF Tip4
Ca20	-	0	+++	BF Tip2
Ca21	-	0	-	BF Tip5
Ca22	FCY	1	-	BF Tip5
Ca23	-	0	+	BF Tip4
Ca24	APH	1	-	BF Tip5
Ca25	-	0	+	BF Tip4
Ca26	-	0	+	BF Tip4
Ca27	-	0	+	BF Tip4
Ca28	-	0	-	BF Tip5
Ca29	-	0	+	BF Tip4
Ca30	APH	1	-	BF Tip5

İlave olarak; 3 farklı antifungale birden dirençli olduğu gözlenen Ca9 suşunun, minimum seviyelerde biyofilm oluşturmuş olduğu ve BF Tip5 grubunda bulunduğu gözlemlendi (Çizelge 4.13.).

4.12. *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis* ve *Candida albicans* Suşlarının, Bir Arada Bulunmaları Durumunda Biyofilm Oluşumu Tayini

Çalışmamızın son aşamasında; kendi türleri içerisinde en yüksek biyofilm oluşturan; *Staphylococcus epidermidis* (Se9), *Proteus mirabilis* (Pm15) ve *Candida albicans* (Ca8) suşlarının aynı ortamda kolonize olmalarının, biyofilm

oluşumuna olan etkisi araştırıldı ve suşlar önce ikili olarak, ardından üçü bir arada olacak şekilde bir araya getirildi.



Şekil 4.22. *Staphylococcus epidermidis* (Se9), *Proteus mirabilis* (Pm15) ve *Candida albicans* (Ca8) suşlarının bir arada bulunmaları sonucu biyofilm oluşumu
*Biyofilm oluşumu; Bölüm 3.10. ve 3.11.'de açıklandığı şekilde belirlendi.

Elde edilen sonuçlar incelendiği taktirde; *S. epidermidis* (Se9) ile *P. mirabilis* (Pm15) suşlarının beraber kolonizasyonlarının; yüzeydeki biyofilm oluşumunu olumlu yönde etkilediği tespit edildi; çünkü bu iki suşun bir arada bulunması sonucunda oluşan biyofilm miktarının; *S. epidermidis* (Se9) ve *P. mirabilis* (Pm15) suşlarının tek başlarına oluşturdukları (0.74; 0.75) biyofilm miktarından daha fazla olduğu (0.85) tespit edildi (Şekil 4.22.); ancak aynı durum, *C. albicans* (Ca8) için geçerli değildi. Tek başına daha yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu gözlenen *C. albicans* (Ca8) suşunun diğer suşlarla olan kolonizasyonu, biyofilm miktarındaki düşüş ile sonuçlandı (Şekil 4.22.). Bu bağlamda; *C. albicans* (Ca8) suşunun *P. mirabilis* (Pm15) suşu ile olan kolonizasyonu sonucunda gözlenen düşüş, aynı suşun *S. epidermidis* (Se9) suşu ile olan kolonizasyonu sonucu gözlenen düşüşten daha fazlaydı.

İlave olarak; *S. epidermidis* (Se9), *P. mirabilis* (Pm15) ve *C. albicans* (Ca8) suşlarının üçünün bir arada bulunması sonucunda oluşan biyofilm miktarının; Ca8 suşunun tek başına oluşturduğu biyofilm miktarından daha düşük olduğu gözlenirken bu miktarın; Se9 ve Pm15 suşlarının tek başlarına oluşturdukları biyofilm miktarından daha fazla olduğu görüldü (Şekil 4.22.).

5. TARTIŞMA

Teknolojinin ilerlemesi, insan sağlığını olumlu yönde etkileyen gelişmelerin ortaya çıkması açısından çok önemli adımlar atılmasını doğurmuştur. Bu bağlamda, vücut içerisine yerleşimi söz konusu olan yabancı cisimlerin kullanımının yaygınlaşması ve enfeksiyona neden olan mikroorganizmalara karşı çeşitli antibiyotik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, bu olumlu gelişmelerden yalnızca bir kaçıdır. Tüm bu olumlu gelişmelere rağmen, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı her geçen gün artan oranlarda direnç geliştirmeleri, mortaliteyle sonuçlanan enfeksiyonlara ve büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu bağlamda; antibiyotik dirençliliğinde rol oynadığı düşünülen mekanizmaların araştırılması; morbiditeyle, mortaliteyle ve ekonomik kayıplarla olan mücadelelerde oldukça büyük bir önem teşkil etmektedir.

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların antibiyotik dirençliliğinde rol oynadığı bilinen önemli mekanizmalardan biridir. Belirli bir yüzey alana ve birbirlerine tutunmuş mikroorganizma toplulukları içerdiği bilinen bu yapılar; mikroorganizmaların da içerisinde gömülü olarak bulunduğu ekstraselüler polimerik maddeden oluşan bir matriks halinde yer almaktadır (O'Toole et al., 2000). Bu bağlamda; antibiyotiğin, biyofilm içerisine düşük oranlarda penetre olması ve biyofilm oluşumu olan bölgede sınırlı miktarda besin maddesi bulunuyor olması, bu hücrelerde çok aşamalı savunma sisteminin gelişmesine neden olmaktadır. Bu durum ise; mikroorganizmaları çevresel koşullara karşı daha dirençli hale getirmektedir (Altun ve Şener, 2008).

Biyofilmler; normal vücut dokusu üzerinde oluşabildikleri gibi; kataterler, kalp pilleri, protez kalp kapakçıkları, ortopedik protezler ve kontakt lensler gibi çeşitli vücut içi kullanımı olan yabancı cisimlerin yüzey alanında da oluşabilmekte ve ciddi rahatsızlıklara sebebiyet vererek, insan vücudu için avantajlı olan bir yapıyı, dezavantaj haline dönüştürebilmektedir (Altun ve Şener, 2008).

Yapılan çalışmalar; çeşitli enfeksiyonlara karşı kullanılan antibiyotik tedavilerinin, hastalık belirtilerini ortadan kaldırabildiğini; ama ortamda oluşmuş olan biyofilmi yok edemediğini göstermektedir (Marrie et al., 1982). Bu sebepten ötürü, biyofilm kaynaklı enfeksiyonların, antibiyotik terapilerinden sonra bile tekrarlayıcı nitelikte

oldukları (Costerton et al., 1995) ve biyofilm oluşturan hücrelerin antimikrobiyal ajanların etkilerine karşı, biyofilm oluşturmeyen planktonik hücrelere kıyasla çok daha dayanıklı oldukları tespit edilmiştir (Mah and O'Toole, 2001).

Günümüzde, biyofilm ilişkili nozokomiyal enfeksiyonların ve bu enfeksiyonlarda büyük rol oynayan antimikrobiyal dirençliliğin, günden güne artışı söz konusu olduğundan, biyofilm oluşturan ve aynı zamanında antibiyotik dirençliliği sergileyen türlere yönelik pek çok çalışma söz konusudur (Hawser and Douglas, 1995; Aiassa et al., 2010; Qu et al., 2010). Bu bağlamda bizim çalışmamız kapsamında; bir çok hastane enfeksiyonundan ve tekrarlayan enfeksiyonlardan sorumlu oldukları bilinen çeşitli klinik izolatların, biyofilm oluşumları ile antimikrobiyal dirençliliklerinin belirlenmesi ve bu iki farklı özelliğin karşılaştırılması hedeflendi.

Çalışmamızda kullanılan türlerin seçiminde ise; bu türlerin doğal flora elemanı olmalarına rağmen mortaliteye ve önemli ekonomik kayıplara sebebiyet veriyor olmalarının yanında; hücrelerin, ökaryot veya prokaryot olma özellikleri ile prokaryot olan hücrelerin; hücre duvar yapılarındaki farklılıklar da göz önünde bulunduruldu. Bu bağlamda, çalışmamız kapsamında; prokaryot gram pozitif *Staphylococcus epidermidis* suşları, prokaryot gram negatif *Proteus mirabilis* suşları ve ökaryot maya olan *Candida albicans* suşları ile çalışılması tercih edildi.

Çalışmamızda; normal koşullar altında insan vücudunda doğal flora elemanı olarak bulunan; fakat şartların uygun hale dönüşmesiyle, deri–yumuşak doku, kan dolaşımı ve yabancı cisim enfeksiyonlarına neden olan, gram pozitif özellikteki *Staphylococcus epidermidis* suşlarının; üriner sistem, kronik idrar yolları ile yara yeri enfeksiyonlarına, organ apselerine ve çeşitli hastane enfeksiyonlarına neden olan (Kurtoğlu et al., 2008) gram negatif özellikteki *Proteus mirabilis* suşlarının ve normal koşullar altında insan vücudunda doğal flora elemanı olarak bulunan; fakat şartların uygun hale dönüşmesiyle, vajinite, konjunktivite, özofajite ve çeşitli hastane enfeksiyonlarına neden olan ökaryot *Candida albicans* suşlarının; klinik dağılımlarının, biyofilm oluşumlarının ve antibiyotik dirençliliklerinin incelenmesi ile bu özelliklerin birbirleriyle karşılaştırılması amaçlandı. İlave olarak, çalışmamız kapsamında kullanılan üç farklı türün bir arada bulunmaları sonucu oluşan karışık kültürlerin, ortamdaki biyofilm oluşumunu ne şekilde etkilediğinin belirlenmesi hedeflendi.

Çalışmamızın ilk aşamasında suşların izolasyonları ve fenotipik identifikasyonları gerçekleştirildi. Kanlı agar üzerinde hemoliz yapmayan, beyaz renkli koloni morfolojisine sahip, gram pozitif, mannitol, DNaz, koagülaz negatif, katalaz pozitif ve novobiyosin antibiyotiğine karşı duyarlı olan suşlar; *Staphylococcus epidermidis* olarak tanımlandı (Çizelge 4.1). *Proteus mirabilis* suşları ise, kanlı agar üzerinde; bulut gibi dalga dalga yayılan, kirli beyaz renkli koloni morfolojisine sahip, gram negatif, metil kırmızısı, sitrat, glukoz, H₂S, üre hidrolizi pozitif ve laktoz, indol negatif olan suşlar olarak saptandı (Çizelge 4.2.). İlave olarak; ChromAgar'da yeşil renkli koloniler oluşturan ve Germ Tüp Testi'ne olumlu sonuç veren suşlar da *Candida albicans* suşları olarak tanımlandı (Çizelge 4.3).

Klinik materyal; enfeksiyon etkeni olan bir mikroorganizmanın izolasyonunun gerçekleştirildiği örnektir. Enfeksiyon etkeni olan bir suşun hangi klinik materyalden, ne kadar sıklıkla izole edildiği bilgisi, o suşun bulaşmasına ve enfeksiyona neden olmasına karşı ciddi önlemler alınmasını sağlaması bakımından büyük bir önem teşkil etmektedir. Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan suşların, klinik materyallere göre dağılımı incelendiği taktirde, *S. epidermidis* suşlarının en çok Yara Yeri kültüründen (%40) izole edildikleri, ikinci sırada ise; Kan kültürünün (%35) yer aldığı saptandı (Şekil 4.1.).

S. epidermidis suşları, hastanelerden sıklıkla izole edilmekte ve genellikle; damar yolu enfeksiyonları ile kardiyovasküler enfeksiyonlardan sorumlu tutulmaktadır (Villari et al., 2000; Vuong and Otto, 2002). İspanya'da yapılan bir araştırmada; *S. epidermidis* suşlarının en sık rastlandığı klinik materyalin; Kan kültürü olduğu, ikinci sırada ise; Yara Yeri kültürünün yer aldığı belirtilmektedir (Martin-De-Nicolas et al., 1999). Bu bağlamda yapılan araştırmalar, çalışmamız sonuçlarıyla benzerlik teşkil etmektedir.

P. mirabilis suşlarının klinik materyallere göre dağılımı incelendiğinde, bu suşların izolasyonlarının en sık gerçekleştirildiği örneğin; İdrar kültürü (%73.3) olduğu belirlendi (Şekil 4.2.). *P. mirabilis* suşları, idrar yollarında enfeksiyona sebebiyet veren birincil mikroorganizmalar olarak bilinmekte olup vücut içi kateterlerin de, *P. mirabilis* enfeksiyonlarında, hastalık etmeni olarak rol oynayabildikleri açıklanmaktadır (Warren et al., 1982; Mobley and Belas, 1995).

Çalışmamızda *P. mirabilis* suşlarının izole edildikleri diğer klinik materyallerin; Abse ve Gaita oldukları gözlemlendi (Şekil 4.2.). Ülkemizde 2009 yılında yapılan bir araştırmada çalışmamıza benzer olarak; *Proteus mirabilis* bakterilerinin, izole edildikleri klinik materyallerin başında İdrar ile Yara Yeri'nin yer aldığı ve bu suşlara; Trakeal Aspirat, Abse ve Kan kültürlerinde de rastlanabildiği belirtilmektedir (Çiftçi vd., 2009).

Çalışmamızda kullanılan *C. albicans* suşlarının en yüksek miktarda izolasyonun gerçekleştiği materyalin; Vajen kültürü (%86.7) olduğu gözlemlendi (Şekil 4.3.). Vajinal *C. albicans* enfeksiyonu; ülkemiz kadınlarının, sıklıkla karşılaşmakta olduğu bir enfeksiyon olarak bilinmektedir. Normal koşullar altında sağlıklı kadınların %20'sinde doğal flora elemanı olarak bulunan *C. albicans* suşları, çeşitli faktörler sonucunda, vajinal ortamdaki sayılarını artırmakta ve vajinit hastalığına neden olabilmektedir (Faro et al., 1998; Sobel, 2005). Bu bağlamda yapılan araştırmalar; gebelik, doğum kontrol hapı kullanımı, uzun süreli antibiyotik kullanımı gibi faktörlerin, vajinal *C. albicans* enfeksiyonlarında artışa sebebiyet verdiğini göstermektedir (Sobel, 2005).

Ülkemizde 2005 yılında yapılan bir araştırmada; *C. albicans* suşlarının, izole edildikleri klinik materyallerin başında; Vajinal kültür ile İdrar kültürünün yer aldığı bildirilmiştir (Koçoğlu vd., 2005). Pfaller ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer araştırmaya göre ise; *C. albicans* suşlarının en fazla izole edildikleri klinik materyalin; bizim çalışmamızdan farklı olarak, Kan kültürü olduğu ve *C. albicans* enfeksiyonlarına, Yoğun Bakım ünitesinde yatan direnci düşük hastalarda daha yüksek oranda rastlandığı bildirilmektedir (Pfaller et al., 1998).

Çalışmamız bulgularına ilave olarak literatürde, *C. albicans* suşlarının varlığına; orofarinks kültüründe de rastlanabildiği açıklanmış olup bu durum ile en sık; AIDS hastalarında karşılaşılacak olduğu bildirilmiştir (Vazquez et al., 1993; Koçoğlu vd., 2005).

Çalışmamızda kullanılan 3 farklı türe ait bütün suşların izole edilmiş oldukları klinik materyaller incelendiği takdirde, *S. epidermidis* suşları ile *P. mirabilis* suşlarının ikisinin birden Abse kültüründe yer alabildikleri ve *S. epidermidis* suşları ile

C. albicans suşlarının da aynı şekilde kanda yer alabildikleri gözlenmektedir (Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3.).

Bu bulgular, çalışmamız kapsamında kullanılan 3 farklı türün, aynı klinik materyalde bir araya gelebildiği gerçeğini göstermesi bakımından, büyük bir öneme sahiptir; çünkü farklı türlerin aynı klinik materyalde bir araya gelmeleri, biyofilm oluşumunun farklı şekillerde etkilenmesine yol açmaktadır. Bu bağlamda çalışmamızın devamında, farklı türden mikroorganizmaların aynı yüzey alanda bulunmalarının, ortamdaki biyofilm oluşumuna olan etkisi araştırıldı.

Enfeksiyon etkeni olan suşların izole edildikleri klinik materyaller, belirli servis ünitelerinde yatmakta olan hastalara aittir. Bu bağlamda aynı serviste bulunan hastalarda; aynı enfeksiyonun ve enfeksiyon sebebi olarak aynı tür mikroorganizmanın gözlenmesi, ünite hakkında bilgi vermesi bakımından büyük bir önem teşkil etmektedir. İlave olarak, enfeksiyon sebebi olan bir suşun hangi servis ünitesinden, ne kadar sıklıkla izole edildiği bilgisi; belirli servis ünitelerinde, mikroorganizmalara karşı alınacak önlemlerde dikkate alınmalıdır. Bu bağlamda çalışmamızda, *S. epidermidis* suşlarının; en çok Kalp–Damar Cerrahisi (%35) ünitesindeki hastalardan izole edildikleri, ikinci sırada ise; Genel Cerrahi (%15) ve Nöroloji (%15) ünitelerinin yer aldıkları saptandı (Şekil 4.4.). Çalışmamıza benzer bir şekilde, Brazilya’da yapılmış olan bir çalışmada da *S. epidermidis* suşlarının en sık; Kalp–Damar Cerrahisi ve Genel Cerrahi gibi, farklı Yoğun Bakım ünitelerinde bulunan hastalardan izole edildikleri belirtilmektedir (Michelim et al., 2005). *S. epidermidis* suşlarının en yüksek sıklıkta; Cerrahi Yoğun Bakım ünitelerinde bulunan hastalardan izole edildikleri bilgisi; bu türe ait suşların, genellikle direnci düşük hastalarda kolonize oldukları gerçeğini göstermekte olup çeşitli cerrahi müdahalelerde bulunan sağlık personellerinin, hijyen konusunda daha dikkatli olmaları gerekliliğini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda *Proteus mirabilis* suşlarının en sık rastlandıkları servis ünitesinin; Acil Pediatri ünitesi (%33.3) olduğu ve bu üniteyi, Çocuk Hastalıkları ünitesinin takip ettiği (%20) gözlemlendi (Şekil 4.5.). Çalışmamıza benzer olarak, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi’nde yapılan bir araştırmaya göre, örneklerin en büyük kısmının, Pediatri ünitesinden izole edildikleri (%37) belirtilmiştir (Çiftçi vd., 2009). Fransa’da yapılan bir diğer araştırmada ise; Cerrahi ünitelerinde yatan

hastalardan, Pediatri ünitesinde yatan hastalara nazaran daha fazla *P. mirabilis* izolasyonunun gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Champs et al., 2000). Farklı çalışmalar incelendiği takdirde; aynı tür mikroorganizmanın, servislere göre dağılım oranının ülkelere göre farklılık teşkil ettiği gözlenmekte ve buna neden olan etkenin; sosyolojik farklılıklar olduğu düşünülmektedir. Yetişkin bireylere nazaran daha düşük vücut direncine sahip olan çocukların; tuvalet alışkanlığından yoksun olmaları ve hijyenik koşullara dikkat edilmeyen bir ortamda yetiştiriliyor olmaları, bu enfeksiyonların ülkemiz çocuklarında daha sık gözleendiği gerçeğini, açıklar niteliktedir.

Candida albicans suşlarının en sık rastlandığı servis ünitesinin; Kadın Hastalıkları ve Doğum ünitesi olduğu (%63.3), Kardiyoloji (%6.8) ve Genel Yoğun Bakım (%6.8) ünitelerinin ise; bu bağlamda ikinci sırada yer aldıkları saptandı (Şekil 4.6.). Ülkemizde 2003–2005 yılları arasında çeşitli maya enfeksiyonları üzerine yapılmış olan bir araştırmaya göre; bizim bulgularımıza benzer olarak Kadın Hastalıkları ve Doğum ünitesinden izole edilen *C. albicans* suşları oranının; %62.5 olduğu açıklanmaktadır (Otağ vd., 2005).

Günümüzde yapılan araştırmalar; çoğunluğunu *C. albicans* suşlarının oluşturduğu bir çok *Candida* türünün; kadın hastalıklarına neden olmanın dışında, yoğun bakım ünitelerinde rastlanan nozokomiyal enfeksiyonlara ve ciddi kayıplara da sebebiyet verdiğini bildirmektedir (Spencer, 1996; Fluit et al., 2000; Marchetti et al., 2004). Bu bağlamda, çalışmamız kapsamında; Yoğun Bakım ünitesinde yatan bir hastadan izole edilen *C. albicans* suşunun, hastanın ölümüne neden olduğu bulgusu, bu gerçeği doğrulamaktadır. Polonya’da yapılan bir diğer çalışmada ise; en sık *C. albicans* izolasyonunun gözleendiği ünitenin; Kadın Hastalıkları ve Genel Yoğun Bakım ünitesinden farklı olarak; Dahiliye ünitesi olduğu (%44.5) açıklanmaktadır (Wroblewska et al., 2002).

Çalışmamızda kullanılan üç farklı türe ait bütün servis üniteleri incelendiği takdirde, üç farklı türe ait suşun birden; Acil Servis Ünitesi’nden izolasyonunun söz konusu olabildiği gözleendi. Bu bağlamda yapılan diğer incelemelere göre; *S. epidermidis* ve *C. albicans* suşlarının ikisinin birden; Göğüs Hastalıkları, Genel Yoğun Bakım ve Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon ünitelerinde yer alabildikleri; *S. epidermidis* ile *P. mirabilis* suşlarının ise, aynı şekilde Genel Cerrahi ile Çocuk Hastalıkları

ünitelerinde yer alabildikleri, Üroloji ile Kulak Burun Boğaz ünitelerinde bulunan hastalardan ise, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının izolasyonlarının söz konusu olabildiği gözlemlendi (Şekil 4.4., Şekil 4.5., Şekil 4.6.). Bu bulgular, çalışmamız kapsamında kullanılan suşların aynı servis ünitelerindeki hastalarda bir araya gelme olasılığını desteklemesi bakımından büyük bir önem teşkil etmektedir.

Fizyolojik ve genetik olarak bir çok açıdan farklı özelliklere sahip olan hastalarda cinsiyet, önemli bir ayırımdır; çünkü kadın ve erkeğin sahip olduğu belli başlı özellikler; onların, enfeksiyonlardan farklı şekillerde etkilenmelerine yol açar. Bazı tür mikroorganizmaların yol açtığı enfeksiyonlara, kadınlara göre erkeklerde veya erkeklere göre kadınlarda daha fazla rastlanması, tamamen cinsiyete bağlı gelişen fizyolojik özellikler ve sosyolojik koşullar ile açıklanmaktadır. Mikroorganizmanın hangi cinsiyetteki hastalarda daha sık enfeksiyona yol açtığını bilmek, o mikroorganizmaya karşı alınacak önlemlerin belirlenmesini kolaylaştıracığından, büyük bir önem teşkil etmektedir. Bu bağlamda, çalışmamız kapsamında; identifikasyonu tamamlanmış olan suşlar, izole edildikleri hastaların cinsiyet özelliklerine göre değerlendirildi. *S. epidermidis* suşlarının cinsiyete göre dağılım oranları incelendiği takdirde, bu suşların; erkek hastalarda (%75) kadın hastalara (%25) göre daha fazla enfeksiyona neden oldukları tespit edildi (Şekil 4.7.). Bizim çalışmamıza benzer olarak, İtalya'da yapılan bir araştırmada da; *S. epidermidis* enfeksiyonu gözlenen erkek hastaların, kadın hastalara göre daha fazla sayıda (%56.6) oldukları bulgusuna ulaşılmıştır (Villari et al., 2000). Yapılan araştırmalar; kataterler, kalp pilleri, protez kalp kapakçıkları ve ortopedik protezler gibi çeşitli vücut içi kullanımı olan biyomateryallerin, erkeklerdeki kullanım sıklığının kadınlara oranla daha fazla olduğunu göstermektedir (Cwoon et al., 2002). Bu durum ise; genellikle cihaz ilişkili enfeksiyonlardan sorumlu tutulan *S. epidermidis* suşlarının erkeklerde daha sık görülme nedenini açıklar niteliktedir.

P. mirabilis suşlarının cinsiyete göre dağılım oranları incelendiğinde; bu suşların da, *S. epidermidis* suşlarında olduğu gibi erkek hastalarda (%60) kadın hastalara (%40) göre daha fazla enfeksiyona neden oldukları belirlendi (Şekil 4.8.). Bu bağlamda, 2006 yılında, 2–12 yaş aralığında yer alan çocuklarla yapılan bir araştırmada da benzer bir sonuçla karşılaşıldığı ve çalışmada kullanılan

P. mirabilis suşlarından çoğunun, erkek hastalardan izole edildiği bildirilmektedir (Aldırmaz et al., 2006).

İngiltere’de, *P. mirabilis* suşları üzerine yapılan bir araştırmaya göre ise; kadın hastaların, erkek hastalara göre daha fazla *P. mirabilis* enfeksiyonu geçirdikleri saptanmıştır (Wilson et al., 1997). Sonuçlar arasındaki farklılığın, hasta profilleriyle ilgili olduğu düşünülmektedir; çünkü Türkiye’de *P. mirabilis* enfeksiyonlarının en sık görüldüğü hastalar; çocuk yaştaki hastalardır. İngiltere’de ise *P. mirabilis* enfeksiyonundan şikayetçi olan hastaların yaş ortalaması daha yukarılarda seyretmektedir.

C. albicans suşlarının izole edilmiş oldukları hastalar incelendiği takdirde, bu hastaların neredeyse tamamının kadın (%93.3) olduğu gözlemlendi (Şekil 4.9.). Ülkemizde, *C. albicans* kaynaklı vajinal enfeksiyonlara yüksek sıklıkta rastlanmaktadır. Bu bağlamda bu türe ait suşlar; erkeklere oranla, kadınlarda daha sık gözlenmektedir; çünkü kadınların vajinal bölgelerindeki kompozisyon, *C. albicans* kolonizasyonu için uygun koşullar içermektedir.

Hastaların sahip oldukları bazı fizyolojik ve hormonal özellikler; mevcut yaşlarına bağlı olarak şekillenmektedir. Örneğin, belirli bir yaşın çok üzerinde olan hastalarla, yetişkin yaştaki hastaların hormonal durumları aynı olmadığı gibi, vücut dirençleri de farklılık teşkil etmektedir. Bu bağlamda, mikroorganizmanın hangi yaş grubundaki hastalarda daha sık enfeksiyona yol açtığını bilmek; o yaş grubu hastaların enfeksiyon ile karşılaşmasına karşı daha fazla önlem alınmasını sağlayacağından önemlidir.

Çalışmamızda; en sık *S. epidermidis* izolasyonunun gözlemlendiği yaş aralığı; 31–45 (%25) ve 46–60 (%25) olarak belirlendi (Şekil 4.10.). Bu bağlamda, *S. epidermidis* suşlarının biyomateryal bağımlı enfeksiyonlardan sorumlu oldukları göz önünde bulunduruldu ve vücut içi biyomateryal bağımlı enfeksiyonlara uğrayan hastaların genel yaş ortalamaları incelendi. Bu konu üzerine yapılan bir araştırmada, protez kapak endokarditi tespit edilen hastaların yaş ortalamasının da; 36–61 aralığında seyrettiği gözlemlendi (Heper et al., 1997). Bu yaş aralığının; bizim sonucumuzdaki yaş aralığıyla benzer olması, *S. epidermidis* enfeksiyonlarının, biyomateryal kullanımı ile doğru orantılı olarak geliştiği tahminimizi kuvvetlendirdi.

Çalışmamızda *P. mirabilis* suşlarının izole edildikleri hastaların çoğunluğunun 0–15 yaş grubunda (%60); yani çocuk yaşlarda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.11.). Bizim bulgumuza benzer olarak; 2000 yılında Amerika’da yapılan bir çalışmada da; *P. mirabilis* suşlarının genellikle, yaşlı kişilerin ve çocuk yaşta hastaların idrar kültürlerinden izole edildikleri bilgilerine yer verilmiştir (Coker et al., 2000). İlave olarak; 2010 yılında tamamlanmış bir diğer güncel çalışmanın sonucuna göre de; *P. mirabilis* suşlarının en sık gözlemlendiği yaş aralığının; 1–9 olduğu tespit edilmiştir (Feglo et al., 2010). Bu bağlamda gözlenen sonuçlar; *P. mirabilis* enfeksiyonlarının çocuk yaşta hastalarda, yetişkin bireylere oranla daha sık görüldüğü gerçeğini destekler niteliktedir. Bu durumun ise; çocuklardaki vücut direncinin, yetişkinlere göre daha düşük olmasından ve tuvalet kullanımı ile hijyen kuralalarına uyma açısından, çocuk yaşta bireylerin yetişkinlere kıyasla daha dikkatsiz olmalarından, hatta 0-1 yaş arası çocuklarda tuvalet alışkanlığının henüz kazanılmamış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

C. albicans suşlarının izole edildikleri hastalar incelendiği takdirde ise, bu hastaların çoğunun; 31–45 yaşları arasında; yani orta yaşlarda yer aldıkları saptandı (Şekil 4.12.). Bizim çalışmamızda *C. albicans* izolasyonunun neredeyse tamamının, kadınların Vajen kültüründen izole edildikleri göz önünde bulundurulacak olursa, orta yaş kadınlardaki enfeksiyon sebebinin, mevcut hormonal durumları olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda araştırmacılar; genital floranın sürekli değişime uğrayan dinamik bir ekosistem olduğunu ve kadınlardaki alt genital floranın, mukozadaki östrojen konsantrasyonuna ve vajinal pH’ya göre şekillendiğini belirtmektedir (Yorgancıgil vd., 2000). Normal vajina florasının; patojen mikroorganizma kolonizasyonunu önlediği ve kişiyi enfeksiyonlara karşı koruduğu ise, bilinen bir gerçektir. Bir çok araştırmacı; östrojen hormonu konsantrasyonunun; yaşa bağımlı olarak değişmekte olduğunu ve bu konsantrasyonun değişmesine bağlı olarak farklılaşan vajina florasının ise; bir çok vajinal enfeksiyonun gelişimi kolaylaştırdığını vurgulamaktadır (Bal, 1993). Bu elde edilen bilgiler; orta yaş kadınlardaki enfeksiyon sebebinin, mevcut hormonal durumları ile ilgili olabileceği tahminimizi kuvvetlendirmektedir.

Bu bağlamda araştırmacılar; enfeksiyon oluşununun hormonal durum ile bağlantılı olduğunu ve bu hormonal durumun, yaşa bağlı olarak şekillendiğini bildirmekte olup tahminimizi doğrulamaktadır (Segal and Sandovsky–Losica, 1994).

Mikroorganizmaların önceden duyarlı oldukları antimikrobiyal ajanlara karşı zamanla direnç kazanmaları; antimikrobiyal dirençlilik olarak ifade edilmektedir. Bu durum; çeşitli servis ünitelerinde bulunan bir çok hastanın sağlığını ve iyileşmesini olumsuz yönde etkilediğinden; dirençli suşların neden oldukları enfeksiyonları önlemek amacıyla, baskın suşları ve onların antibiyotip profillerini belirlemek, çok önemlidir. Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan *S. epidermidis* suşlarının; 11, *P. mirabilis* suşlarının; 15, *C. albicans* suşlarının ise; 6 farklı antimikrobiyal ajana karşı olan duyarlılıkları araştırıldı.

Mikroorganizmalar, antimikrobiyal ajanlara karşı her geçen gün daha da dirençli hale gelmekte, ve bir çoğuna karşı, aynı anda direnç sergilemektedir. Çoklu antimikrobiyal dirence sahip olan bu suşlar ise; üniteler ile hastaneler arası enfeksiyonel yayılıma, tedavilerdeki başarısızlıklara, mortalitedeki artışa ve büyük ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir (Centers for Disease Control, 1992).

S. epidermidis suşlarında, en yüksek antibiyotik direnci; Penisilin G (P) antibiyotiğine karşı (%90) gözlendi (şekil 4.13.). B–laktamlar grubu içerisinde yer alan Penisilin G antibiyotiği, bakteri hücre duvarına zarar vermek suretiyle etki göstermektedir. Antibiyotik ile tedavili yılların başlangıcında, Stafilokok grubu mikroorganizmalar tarafından enfekte olmuş hastalar, Penisilin antibiyotiği ile tedavi edilmekteydi; fakat 1950’li yıllardan itibaren, Penisilin antibiyotiğinin kullanımının yaygınlaşması, patojenlerin bu antibiyotiğe karşı penisilinaz enzimi üretmelerine ve direnç geliştirmelerine neden oldu (Eraksoy, 1989). Bu bağlamda, penisilinaz enzimine dayanıklı sentetik Metisilin antibiyotiğinin üretimi gerçekleştirildi; ama kısa bir zaman sonunda, Stafilokokların Metisilin’e karşı da direnç geliştirdikleri anlaşıldı ve bu suşlarla mücadele edebilmek için, yeni antibiyotik arayışları içerisine girildi (Eraksoy, 1989).

Çalışmamız bulgularına paralel olarak, çeşitli yıllarda yapılmış olan araştırmalar; klinik materyallerden izole edilen *S. epidermidis* suşlarının tamamının veya tamamına yakın bir kısmının, Penisilin antibiyotiğine karşı dirençli olduklarını

göstermektedir (Schaefer, 1971; Archer and Tenenbaum,1980; Chaieb et al., 2005).

Çalışmamızdaki *S. epidermidis* suşlarının, diğer bir Penisilin türevi olan Oksasilin (OX) antibiyotiğine karşı da yüksek dirençlilik sergilediği; fakat Oksasilin direnci oranının, Penisilin G direnci oranına kıyasla, daha düşük değerde olduğu (%70) gözlemlendi. 2005 yılında yapılan bir araştırma da; *S. epidermidis* suşlarındaki Oksasilin direncinin çok yüksek oranda olduğu; bu oranın, bizim çalışmamıza benzer olarak, Penisilin G direnci oranından sonra geldiği bildirilmektedir (Michelim et al., 2005).

Oksasilin antibiyotiğinde olduğu gibi, *S. epidermidis* suşlarının Amoksisilin-Klavulonik Asit (AMC) antibiyotiğine karşı olan dirençliliklerinin de ikinci sırada yer aldığı (%70) saptandı (Şekil 4.13.). Amoksisilin–Klavulonik Asit antibiyotiği; Beta Laktamaz inhibitörü olan Klavulonik Asit antibiyotiği ile, hücre duvarı inhibitörü olan Amoksisilin antibiyotiğinin bir araya gelmesi sonucunda elde edilmektedir. Ülkemizde 2002 yılında tamamlanmış bir çalışmada; bizim çalışmamıza benzer şekilde, *S. epidermidis* suşlarının %67.2 'sinin, bu antibiyotiğe karşı dirençli olduğu bildirilmektedir (Hasbek et al., 2002).

S. epidermidis suşları, çok sayıda antibiyotiğe karşı direnç geliştirebilmekte ve bu yüzden bir çok nozokomiyal enfeksiyondan sorumlu tutulmaktadır. Dolayısıyla bu suşlarla olan mücadelede uygun antibiyotiğin, uygun dozlarda kullanılması çok önemlidir. Bu bağlamda; *S. epidermidis* enfeksiyonları için en etkin antibiyotiğin; diğer bir hücre duvarı inhibitörü olan; Vankomisin (VA) antibiyotiği olduğu ve in vitro koşullar altında yapılan çeşitli çalışmaların sonucuna göre; bu antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiği gözlenen *S. epidermidis* suşuna rastlanmadığı bildirilmektedir (Al vd., 2005; Chaieb et al., 2005). Yapılan çalışmalara paralel olarak, çalışmamızdaki bütün *S. epidermidis* suşlarının, Vankomisin'e karşı duyarlı oldukları tespit edildi (Şekil 4.13.).

Günümüzde yapılan çalışmalar ise; in vivo koşullar altında, özellikle biyomateryal ilişkili endokardit vakalarında, Vankomisin antibiyotiğinin, *S. epidermidis* suşları inhibisyonu için ideal bir antibiyotik olmadığını göstermektedir. Bu durumun başlıca nedeni olarak ise; *S. epidermidis* suşları tarafından yüksek miktarda oluşturulan

biyofilmler gösterilmektedir (Juárez-Verdayes, 2006). Biyofilm oluşmuş alanda; enfeksiyon etkenini tamamen ortadan kaldıracığı düşünülen antibiyotiğe karşı koruyucu bir tabaka varlığı söz konusudur. İlave olarak; biyofilm oluşmuş alandaki yüksek bakteri hücresi konsantrasyonu ve bu hücrelerin zamanla lizise uğramaları, mevcut bölgedeki ekstraselüler DNA miktarınının artışına da neden olmaktadır. DNA miktarındaki artış ise; hücreler arası horizontal gen transferini, özellikle de; transformasyonu tetiklemektedir (Parsek and Singh, 2003). Dolayısıyla, biyofilm içerisindeki *S. epidermidis* suşları mevcut durumlarından daha dirençli bir hale dönüşebilmekte ve en güçlü tedavi yöntemlerine bile yanıt vermeyerek, mortaliteye ve önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Çalışmamızda *P. mirabilis* suşlarının antibiyotik direnç oranları incelendiği takdirde; çalışmada kullanılan suşların tamamının, Seftriakson (CRO), Sefiksim (CFM), Seftazidim (CAZ), Amikasin (AK) ve Piperasilin/Tazobaktam (TZP) antibiyotiklerine karşı duyarlı oldukları saptandı. Bu suşların en yüksek direnç gösterdikleri ikinci antibiyotiğin ise; Nitrofurantoin (F) olduğu (%93) gözlemlendi (Şekil 4.14.).

Sefalosporinler, bakterisidal etkili olmakla beraber, peptidoglikan sentezini engelleyerek, hücre duvarı oluşumunu durdurmaktadır. Bu gruba ait antibiyotikler, sahip oldukları bir takım antimikrobiyal özelliklere göre farklı kuşaklar altında gruplandırılmıştır. Bu kuşaklar arasından; Üçüncü Kuşak Sefalosporin'ler, hastane kaynaklı *Enterobacteriaceae* familyasına ait mikroorganizmaların tedavisi için kullanılmaktadır (Pechere and Laverdiere, 1984; Quintiliani, 1984).

Çalışmamızda *P. mirabilis* suşları için; Üçüncü Kuşak Sefalosporin'ler arasından; Seftriakson (CRO), Sefiksim (CFM) ve Seftazidim (CAZ) antibiyotikleriyle çalışıldı ve bu antibiyotiklerden üçünün de, çalışmamızdaki bütün *P. mirabilis* suşları üzerinde %100 etkin olduğu saptandı. Bu bağlamda ülkemizde yapılan bir çalışma incelendiği takdirde; Üçüncü Kuşak Sefalosporin'ler grubundan, Seftriakson antibiyotiğinin; *Proteus* suşları üzerinde %87.1 oranında etkili olduğu bildirilmiştir (Çolak vd., 1987). 2003 yılında ülkemizde yapılmış olan bir diğer çalışmaya göre ise; poliklinik hastalarından izole edilen *P. mirabilis* suşlarının Seftazidim antibiyotiğine karşı duyarlılık oranı; %96 olarak, Seftriakson antibiyotiğine karşı duyarlılık oranı ise; %100 olarak hesaplanmıştır (Ay vd., 2003). İlave olarak, Baysallar ve arkadaşlarına göre; 2001 yılında Seftazidim antibiyotiğinin,

P. mirabilis suşları üzerindeki etkinliği; %83 olarak tespit edilmiştir (Baysallar vd., 2002). Bu bağlamda, farklı yıllarda uygulanmış olan değişik çalışmalar, bizim bulgularımızla benzerlikler teşkil etmekte ve *P. mirabilis* enfeksiyonlarının tedavi edilmesinde üçüncü kuşak sefalosporinlerin kullanılabilirliğini desteklemektedir; fakat bu gruba ait antibiyotiklerin, bilinçsizce ve gereğinden fazla kullanımı sonucunda, Sefotaksim ve Seftazidim antibiyotiklerine karşı sergilenen antibiyotik direncinde de son yıllarda artış gözlenmekte olduğu, saptanan bulgular arasında yer almaktadır (Luzzano et al., 1998).

Klindamisin (CC); bakterilerin 50S ribozomal alt birimlere bağlanarak protein sentezini inhibe eden ve bakteriyostatik etkinlik gösterdiği bilinen, Linkozamid türevi bir antibiyotiktir. Yapılan bir çalışmada; *P. mirabilis* suşlarının Linkozamid türevi antibiyotiklere karşı doğal dirençli oldukları bildirilmektedir (Stock, 2003). Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan *P. mirabilis* suşlarının tamamının Klindamisin antibiyotiğine karşı dirençli olması, bu bilgiler ile paralellik göstermektedir (Şekil 4.14.).

Bakteri ribozomlarının 30S ribozomal alt birimine geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanarak, protein sentezini inhibe eden Aminoglikozid türevi antibiyotikler, Gram negatif basillerin neden oldukları enfeksiyonların tedavisinde büyük rol oynamaktadır (Türkmen, 2002). Bu bağlamda, çalışmamızda *P. mirabilis* suşları için, Aminoglikozid türevi antibiyotikler arasından; Gentamisin (CN), Tobramisin (NN) ve Amikasin (AN) antibiyotikleriyle çalışıldı. Söz konusu antibiyotikler arasından en yüksek miktarda direnç gelişiminin; Tobramisin antibiyotiğine karşı sergilendiği gözlemlendi. Diğer iki antibiyotik içerisinde ise; Amikasin antibiyotiğine karşı dirençli herhangi bir suş varlığına rastlanmadı. Çeşitli Gram negatif basillerle ve poliklinik hastalarından izole edilen *P. mirabilis* suşları ile yapılan çalışmalarda, Gram negatif basillere ve *P. mirabilis* suşlarına en yüksek oranda etkili olan antibiyotiğin; Amikasin antibiyotiği olduğu (%96) bulunmuştur (Çolak vd., 1987; Ay vd., 2003).

Sadece çocuk yaştaki hastaların idrar kültüründen izole edilmiş *P. mirabilis* suşlarıyla yapılan bir çalışmada; *Proteus* türlerinin Amikasin antibiyotiğine karşı olan duyarlılıkları %90–95 olarak açıklanmaktadır (Lazarević et al., 1998). Farklı çalışmalarda gözlenen bulgular; çalışmamızda kullanılan *P. mirabilis* suşlarının

tamamının Amikasin antibiyotiğine karşı duyarlı olduğu bulgusuyla benzerlik teşkil etmekte ve *Proteus* türleri ile olan mücadelede Amikasin antibiyotiğinin etkin bir antibiyotik olduğu gerçeğini desteklemektedir.

Tazobaktam/Piperasilin (TZP); Beta–Laktam türevlerinden olmakla beraber, 2 farklı antibiyotiğin bir araya gelmesi sonucu elde edilmektedir. Tek başlarına antibakteriyal etkileri zayıf olan bu iki antibiyotiğin bir araya gelmesi sonucunda ise; güçlü bir Beta–Laktamaz inhibisyonu söz konusu olmaktadır (Sipahi, 2009). Çalışmamızda, bu antibiyotiğe karşı dirençli hiç bir suş varlığına rastlanmamıştır. Söz konusu bulgumuza paralel olarak; 2006 yılında yapılan bir çalışmada da 2001–2005 yılları arasında izole edilen 1008 adet *P. mirabilis* suşunun TZP direnci; %2.8 olarak açıklanmaktadır (Mahamat et al., 2006). Aynı çalışmada; *P. mirabilis* suşlarının 2000 yılına ait TZP direncinin %1.5 olduğu, 2004 yılında bu oranın %7.3'e yükseldiği, 2005 yılında ise; direnç oranının tekrar %2.7'lere düştüğü bildirilmektedir.

İn vitro koşullar altında belirli bir antibiyotiğe karşı duyarlı oldukları saptanan bazı *P. mirabilis* suşlarının; in vivo koşullar altında, aynı antibiyotiğe karşı dirençli olabildikleri gözlenmektedir. Bu gibi durumlarda, hastaya uygun doz ve özellikle olan antibiyotiğin verilmesi sonucunda; hastalık belirtilerinin sadece geçici bir süreliğine ortadan kalktığı, belirli bir zaman sonunda ise aynı belirtilerin tekrarlandığı gözlenmektedir. Yapılan incelemeler, bu durumdan; katater gibi vücut içi kullanımı söz konusu olan biyomateryallerin ve bu materyaller üzerinde oluşan biyofilmlerin sorumlu olduğunu göstermektedir (Morris et al., 1997).

Uzun süreli katater kullanımı söz konusu olan hastaların yarısından fazlasının kataterleri üzerinde biyofilm tabakası oluşmaktadır (Getliffe and Mulhall, 1991) ve enfeksiyona neden olan *P. mirabilis* suşlarının belirli bir kısmı, bu tabaka sayesinde antibiyotiklerden korunmaktadır. Çevresindeki olumsuz koşullardan korunma fırsatı bulan *P. mirabilis* suşları; kendileri için elverişli koşullar oluştuğu takdirde tekrar enfeksiyonlara sebebiyet vermektedir. Bu konuda çalışan araştırmacılar; tekrar eden *P. mirabilis* enfeksiyonlarının önüne geçebilmek için, uzun süre kullanımı söz konusu olan kataterin veya mevcut herhangi başka bir malzemenin, hasta vücudundan uzaklaştırılması gerekliliğini vurgulamaktadır (Getliffe, 1994). Bu durum ise; ekonomik kayıpları beraberinde getirmektedir.

Çalışmamızda *C. albicans* suşlarının antifungal direnç oranları incelendiğinde; kullanılan bütün antibiyotiklerin yüksek düzeylerde etkili oldukları gözlemlendi. Flukanazol antifungaline karşı geliştirilen *C. albicans* direncinin ise; %13.7 olup diğer antifungallere kıyasla daha fazla olduğu belirlendi. Çalışmamız kapsamında; *C. albicans* suşlarında; Kaspofungin (CAF) ve 5-Florositozin (FCY) antifungallerine karşı olan dirençliliğin çok düşük olduğu (%3.3); Amfoterisin B (APH) dirençliliğinin ise; Kaspofungin ve 5-Florositozin dirençliliğinden daha fazla olduğu (%7) gözlemlendi (Şekil 4.15.).

Antibakteriyel ajanların kullanımında olduğu gibi, antifungal ajanların kullanımındaki artış da antifungal ilaç direncine neden olmaktadır. Bu bağlamda, antifungal direnç; Primer (intrinsik), Sekonder (kazanılmış) ve Klinik olmak üzere, üç başlık altında incelenmektedir.

Primer direnç; kalıtımla gelen bir özellik iken, sekonder direnç; antifungalın uzun süreli kullanımı sonucunda ortaya çıkmaktadır; çünkü belirli bir antifungale karşı önceden duyarlı olan bir suş, antifungalın uzun süreli kullanımı sonucunda, o antifungale karşı dirençli bir fenotip geliştirmektedir. Klinik direnç ise; laboratuvar testlerine göre belirli bir antifungale karşı hassas olduğu saptanan suşun, aynı antifungal ile tedavi edilememesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Bu durumla ise; kalıcı rahatsızlıklarda, derin immün yetmezlik durumlarında (AIDS hastalığı gibi) ve enfekteprostatik materyal varlığında karşılaşıldığı bildirilmiştir (Alexander and Perfect, 1997).

Amfoterisin B; hücre membranındaki sterollere bağlanmak suretiyle membran geçirgenliğini değiştirir ve çeşitli küçük moleküllerin membrandan sızmasına neden olur. 2005 yılında, *Candida* türleriyle yapılan bir çalışmada; Amfoterisin B antifungalının; çalışmada kullanılan *Candida* türlerinden çoğunun üzerinde yüksek etkinlikte bulunduğu, aynı izolatların Flukonazol antibiyotiğine karşı gösterdikleri direnç oranının ise; %28 olduğu bildirilmiştir (Demirbilek vd., 2007).

5-Florositozin; nükleik asit inhibisyonu yaparak etkili olan bir antifungal ajandır ve genellikle invaziv *Aspergillus* vakalarının tedavisinde, Amfoterisin B ile beraber kullanılmaktadır (Burch et al., 1985; Karp et al., 1988). Çünkü bu antifungalın, Amfoterisin B ile beraber kullanılması; ağır mantar enfeksiyonu geçiren hastalarda

daha iyi sonuç vermektedir. Bu bağlamda; bu antifungalın; Flukonazol direnci gözlenen suşların inhibisyonunda ve mantar enfeksiyonu yüzünden durumu ağırlaşmış hastaların tedavisinde tercih edilmesi önerilmektedir.

Kaspofungin (CAS); Ekinokandin türevi bir antifungal olup glukon sentezini engellemek suretiyle, mantar hücre duvarı oluşumunu inhibe ederek etki göstermektedir (Keating and Jarwis, 2001). Genellikle, *Aspergillus* ve *Candida* türlerinde etkili olduğu bildirilen bu grup antifungallerin tedavide ilk sırada kullanılmaları, FDA tarafından önerilmemektedir (Keating and Jarwis, 2001; Maertens et al., 2002); çünkü yapılan araştırmalar, Kaspofungin etkinliğinin oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda bu antibiyotiğin; ancak çok ağır mantar enfeksiyonu geçiren ve Flukonazol antifungaline yanıt vermeyen hastaların tedavisinde kullanılması önerilmektedir (Hernandez et al., 2003).

1994 yılında yapılan bir çalışmada; 5-Florositozin antifungalinin, *C. albicans* suşları üzerinde; %97.5 oranında etkili olduğu (Ruhnke et al., 1994), 2004 yılında yapılmış olan bir diğer çalışmada ise, 5-Florositozin ve Amfoterisin B antifungallerine karşı bütün suşların duyarlı oldukları saptanmıştır (Adiloğlu vd., 2004). Bütün bu sonuçlar; Amfoterisin B, Kaspofungin ve 5-Florositozin antifungallerinin, *C. albicans* enfeksiyonlarını ortadan kaldırmada, etkin rol oynadıklarını göstermektedir.

Antimikrobiyal duyarlılık testleri sonucunda elde edilen duyarlılık profilleri, mikroorganizmaların fenotipik olarak tiplendirilmelerinde büyük bir önem teşkil etmektedir; fakat mikroorganizmalar tarafından yapılan gen alış verişleri mikroorganizmaların duyarlılık profillerinde değişkenliklere neden olacağından; “Antibiyotipleme” olarak da ifade edilen “Antimikrobiyal Duyarlılık Profillerine Bağlı Tiplendirme” nin ayırım gücü, her zaman yeterli olamamaktadır.

Çalışmamızda; *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* türlerinin, duyarlılık profillerine göre oluşturulan antibiyotip grupları incelendi. Bu bağlamda, *S. epidermidis* suşlarında 11 antibiyotiğe karşı 16 farklı antibiyotip profili gözlemlendi (Çizelge 4.4.). 2000 yılında Tokyo’da yapılan bir çalışmada, 35 hastadan izole edilen *S. epidermidis* suşlarının; 7 farklı antibiyotip profili sergiledikleri (Nakamura et al., 2000), 2008 yılında Tunus’da yapılan bir diğer araştırmada ise;

S. epidermidis suşlarının; 17 farklı antibiyotip profili sergiledikleri saptanmıştır (Salah et al., 2008).

P. mirabilis suşları incelendiğinde; bu suşların 15 antibiyotiğe karşı 8 farklı antibiyotip profili oluşturdukları belirlendi (Çizelge 4.5). *C. albicans* suşlarında ise; 30 farklı suş tarafından; 6 antifungale karşı 7 farklı antibiyotip profili elde edildi (Çizelge 4.6). 1995 yılında, 482 farklı *C. albicans* suşu ile yapılan bir çalışmada; 6 antifungale karşı 26 farklı antibiyotip saptandığı bildirilmektedir (Quindós et al., 1996).

S. epidermidis suşlarında; en sık gözlenen antibiyotip profillerinin; ANT3, ANT4, ANT5 ve ANT9 oldukları belirlendi (Şekil 4.16.). Aynı antibiyotip profiline sahip olan suşların, birbirleriyle ilişkili olup olmadıklarını saptayabilmek amacıyla; suşların klinik bilgileri incelendi ve 4 farklı antibiyotip profili içerisinde; sadece ANT9 profiline sahip olan suşların bilgilerinde benzerlikler gözlemlendi. Çalışmamız sonucunda elde edilen bilgilere göre; ANT9 profiline sahip suşların aynı servis ünitesinde bulunan hastaların (Kalp–Damar Cerrahisi) Yara Yeri'nden izole edilmiş oldukları saptandı. Bu suşların benzer klinik bilgilere sahip olmaları, nozokomiyal bir yayılıma sebebiyet verebilecekleri gerçeğini düşündürdü; fakat ANT9 profiline sahip suş sayısının, az bir oran ile sınırlı olması, bu olasılığın düşük olduğunu göstermektedir.

P. mirabilis suşlarında; 8 farklı antibiyotip arasından en sık karşılaşılan antibiyotip profilinin; ANT2 olduğu gözlemlendi (Şekil 4.17.). Yapılan incelemelerde, ANT2 grubuna dahil olan suşların %60'ının, Çocuk Hastalıkları ünitesinden izole edildikleri gözlemlendi (Şekil 4.17., Çizelge 4.2.). İlave olarak, bu suşların izole edildikleri klinik materyallerden çoğunun; İdrar Kültürü olduğu görüldü.

C. albicans suşlarında ise, en sık karşılaşılan antibiyotip profilinin ANT1 olduğu saptandı (%76.7) (Şekil 4.18.). Bu gruba dahil olan *C. albicans* suşlarının antifungal dirençlilikleri incelendiği takdirde ise; tüm suşların 6 farklı antifungalın hepsine birden duyarlı oldukları gözlemlendi. Bu bağlamda, *C. albicans* suşlarında, *P. mirabilis* ve *S. epidermidis* suşlarından farklı olarak, antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılığın daha fazla olduğu ve Flukonazol dışında bütün antifungallere

karşı duyarlı olan suşlardan oluşan ANT2 grubunun, en sık karşılaşılan ikinci antibiyotip grubu olduğu görüldü (Şekil 4.18.).

Ülkemizde ve tüm dünya genelinde, antimikrobiyal dirençlilik üzerine yapılan araştırmalar her geçen gün daha da fazla önem kazanmaktadır; çünkü mikroorganizmaların direnç kazandıkları ilaç sayısında, son zamanlarda önemli bir artış söz konusudur. Birden fazla sayıda antimikrobiyal ajana karşı direnç sergileyen mikroorganizmalar ise; çoklu antimikrobiyal dirence sahip olmaları bakımından tedavilere yanıt vermemekte ve bir çok anlamda ciddi kayıplara neden olmaktadır. Bu bağlamda çalışmamızın devamında; *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının farklı sayıda antimikrobiyal ajanlara karşı olan dirençleri incelendi. Öncelikle *S. epidermidis* suşları incelendiği takdirde; suşların %5'inin bütün antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu, 7 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren *S. epidermidis* suşları oranının ise en yüksek sıklıkta olduğu (%20) bulundu (Çizelge 4.7) ve bu suşlardan çoğunun; Kalp–Damar cerrahisi ünitesinde yatmakta olan hastalardan izole edilmiş oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.1.). Bir diğer çalışmada ise; çoklu antibiyotik direnci sergiledikleri tespit edilen *S. epidermidis* suşlarının; Yoğun Bakım ünitelerinden izole edildikleri açıklanmaktadır (Michelim, 2005).

Çalışmamızda, birden fazla sayıda antibiyotik direncine sahip olduğu saptanan *S. epidermidis* suşlarının; hepsinin, Vankomisin'e karşı duyarlı oldukları sonucu, pek çok çalışma ile paralellik göstermektedir (Wenzel, 1997; Jarlow and Hoiby, 1998; Özkan, 2000; Tolun et al., 2001; Voung and Otto, 2002) (Çizelge 4.4.).

P. mirabilis suşlarında, bütün 15 antibiyotiğe birden dirençli veya bu antibiyotiklerin hepsine birden duyarlı herhangi bir suş varlığına rastlanmazken, iki farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren suş oranının en yüksek sıklıkta olduğu (%33) saptandı (Çizelge 4.7). İki farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren bu suşların hepsinin; ANT2 profilinde oldukları ve 15 antibiyotik içerisinde sadece, Klindamisin ile Nitrofurantoin antibiyotiklerine karşı dirençli oldukları gözlemlendi. Bu bağlamda 2010 yılında *Proteus* suşları üzerine yapılan bir araştırmada, 2 ve daha fazla sayıda antibiyotiğe direnç gösteren suş oranının; %88.5 olduğu açıklanmaktadır (Feglo et al., 2010).

C. albicans suşlarında, tüm antifungallere karşı hassasiyet %83.3 olarak hesaplanırken, bütün 6 antifungale birden dirençli herhangi bir suş varlığına rastlanmadı. Bütün suşların ise; maksimum 3 farklı sayıda antifungale karşı direnç geliştirebildikleri saptandı (Çizelge 4.7). 3 farklı antifungale karşı direnç geliştiren suşlardan Ca8 suşunun; Yoğun Bakım ünitesinde yatmakta olan bir hastadan izole edildiği ve aynı suşun; hastada mortaliteye sebebiyet verdiği gözlemlendi (Çizelge 4.7.).

Geçmişte yapılmış olan çalışmaların çoğunda; mikroorganizmalardaki çoklu antimikrobiyal dirence neden olan bir çok farklı mekanizma üzerinde durulmuştur. Bu bağlamda bir çok çalışmada, bilinçsiz ilaç kullanımı yüzünden günden güne artmakta olan antimikrobiyal direncin önemi vurgulanmaktadır; çünkü, bilinçsiz ilaç kullanımının; mikroorganizmalardaki gen alış verişi mekanizmasını artırdığı ve suşların, eskiden duyarlı oldukları antimikrobiyal ajanlara karşı zamanla direnç kazanmalarına neden olduğu bilinen bir gerçektir (Öztürk, 2008). Günümüzde yapılan araştırmalar ise; biyofilm oluşumunun da, antimikrobiyal dirence neden olan mekanizmalardan biri olduğunu ve bu mekanizma yüzünden, bir çok enfeksiyonun ilaç ile tedavi edilemediğini göstermektedir. 2010 yılında Belçika'da yapılan bir araştırmada; ciddi ekonomik kayıplara ve mortaliteye neden olan enfeksiyonların; %65–80 kadarının biyofilm ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Coenye and Nelis, 2010).

Mikroorganizmaların, buldukları yüzey alana iyice sabitlenmelerini ve bir arada kalmalarını sağlayan biyofilm; hücreleri başta klor olmak üzere dezenfektanlara, besinsizliğe, kuruluğa, pH dalgalanmalarına, toksinlere ve virüslere karşı da korumakta ve onlara bir sürü avantaj sağlamaktadır (Türetgen, 2006). Bu bağlamda önceki bölümlerde de açıklandığı gibi; antimikrobiyal ajanın, biyofilm içerisine düşük oranlarda penetre olması, ve biyofilm oluşmuş bölgenin sınırlı miktarda besin maddesi içeriyor olması, mikroorganizmaları çevresel koşullara karşı daha dirençli hale getirmekte (Altun ve Şener, 2008) ve biyofilm oluşturan hücrelerin antimikrobiyal ajanlara karşı olan dirençliliğini, 10–1000 kez artırmaktadır (Mah and O'Toole, 2001).

Çalışmamızın bu aşamasında, çalışmada incelenen tüm mikroorganizmaların biyofilm oluşumları araştırıldı. Elde edilen absorbans verilerine göre ise; 5 farklı

biyofilm grubu (BF Tip1, BF Tip2, BF Tip3, BF Tip4, BF Tip5) oluşturuldu. Bu gruplar içerisinde; 1.0–1.3 OD aralığında biyofilm oluşturduğu gözlenen suşlar; en yüksek biyofilm grubu olan BF Tip1'e dahil edilirken, 0–0.1 OD aralığında biyofilm oluşturduğu gözlenen suşlar; en düşük biyofilm grubu olan, BF Tip5'e dahil edildi.

S. epidermidis suşlarının %25'inin; biyofilm oluşumu bakımından 2. en yüksek sırada olan; BF Tip2 grubunda olduğu saptandı (Çizelge 4.8.). Bu bağlamda BF Tip2 grubu suşların %40 kadarının; Kalp Damar Cerrahisi ünitesinde bulunan hastaların, Kan kültürlerinden izole edilmiş oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.1).

S. epidermidis suşları; insan derisi üzerinde doğal flora elemanı olarak bulunmaktadır; fakat çeşitli biyomateryallerin vücut içerisine yerleştirilmeleri sırasında, bu türe ait suşlar da vücut içerisine girebilmekte ve enfeksiyonlara sebebiyet verebilmektedir (Eiff et al., 2002). Yapılan araştırmalar; son 20 yılda, intravasküler kataterler, santral kataterler, yapay kalp kapakçıkları, endotrakeal tüpler ve ortopedik araçlar gibi çeşitli vücut içi kullanımı olan biyomateryallerin kullanımının yaygınlaştığını göstermektedir. Bu tür malzemelerin kullanımının yaygınlaşması ise; *S. epidermidis* kolonizasyonuna fırsat sağlaması bakımından, biyomateryal ilişkili enfeksiyonların artması ile sonuçlanmaktadır (Costerton et al., 1999).

Bizim çalışmamız kapsamında BF Tip2 grubunda yer alan *S. epidermidis* suşlarından çoğunun, Kalp Damar Cerrahisi ünitesinde yer alıyor olmaları; bu hastaların kalp ve damar yolları tedavilerinde biyomateryal uygulamanının söz konusu olabileceği gerçeğini akıllara getirdi; çünkü 2001 yılında Amerika'da yapılan bir çalışmada; yapay kalp kapakçıklarının, biyofilm oluşumları için oldukça uygun bir yüzey yapısına sahip olduğu, bu yüzey alanda yüksek sıklıkta *S. epidermidis* kolonizasyonu gözlemlendiği, bu kolonizasyonun ise; endokardit ile sonuçlandığı açıklanmıştır (Donlan, 2001). Çalışmamızda kullanılan *S. epidermidis* suşları arasında en yüksek biyofilm oluşturduğu gözlenen Se9 suşunun da, Kalp Damar Cerrahisi ünitesinde yer alan bir hastanın Kan kültüründen izole edilmiş olduğu bulgusu, yukarıdaki bilgiler ile paralellik teşkil etmesi bakımından, tahminimizin doğruluğunu kuvvetlendirmektedir (Çizelge 4.1.)

P. mirabilis suşlarının ise; %10'unun; biyofilm oluşumu bakımından 2. en yüksek sırada olan; BF Tip2 grubunda oldukları saptandı (Çizelge 4.9). Bu bağlamda BF Tip2 grubu suşların çoğunun; Acil Pediatri Ünite'sinde bulunan hastaların, İdrar kültürlerinden izole edilmiş oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.2.).

Normal koşullar altında steril olması beklenen idrarda, mikroorganizma varlığına rastlanması, idrar yollarında enfeksiyon olduğunun bir göstergesidir. *P. mirabilis* türü mikroorganizmaların ise; idrar yollarına kateter yerleştirilmiş olan hastalarda sıklıkla enfeksiyona neden oldukları bilinmektedir (Liaw et al., 2000). Bu bağlamda yapılan araştırmalar; idrar yolu enfeksiyonlarının çoğuna kateterlerin neden olduğunu ve nozokomiyal enfeksiyonların %40 kadarını kateter ilişkili enfeksiyonların oluşturduğunu göstermektedir (Warren, 1991).

Son yıllarda yapılan araştırmalar incelendiği takdirde ise; kateterler üzerinde mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilmin, enfeksiyon gelişiminde en önemli rolü üstlendiği vurgulanmaktadır. Bu bağlamda günümüzde, kateter yüzeyindeki biyofilm oluşumunu engelleyici stratejiler geliştirilmektedir (Teke vd., 2010).

Çalışmamız kapsamında kullanılan *C. albicans* suşları incelendiği takdirde ise; bu suşlar arasından yalnızca tek bir tane suşun (Ca8), biyofilm oluşumu bakımından en yüksek sırada yer alan; BF Tip1 grubunda olduğu saptandı (Çizelge 4.10.). Bu suş, çalışmamızda kullanılan bütün suşlar arasında en yüksek OD değerine sahip olması ve çalışmamız kapsamında BF Tip1 grubuna dahil olan tek suş olması bakımından dikkat çekmektedir. Bu bağlamda bu suşun; Genel Yoğun Bakım ünitesinde bulunan 78 yaşında bir hastanın Balgam'ından izole edildiği ve hastanın bu enfeksiyon sonrasında vefat ettiği bulgularına ulaşıldı (Çizelge 4.3.).

Ülkemizde yapılan bir araştırmada da; *Candida* türlerinin hastanelerde, yüksek morbidite ve mortalite nedeni oldukları açıklanmaktadır (Douglas, 2003). Aynı çalışmada, bir çok *Candida* enfeksiyonunun; kateter, prostetik kalp kapakçığı, endotrakeal tüp ve eklem protezi gibi biyomateryal kaynaklı olduğu bildirilmekte olup, *Candida* türlerince, bu materyaller üzerinde oluşturulan biyofilmler enfeksiyon etkeni olarak gösterilmektedir (Dolin, 1995).

Bizim çalışmamız kapsamında kullanılan *C. albicans* suşlarından çoğunun; kadınlarda vajinite neden oldukları ve bu enfeksiyonlardan hiç birinin mortaliteyle sonuçlanmadığı gözlemlendi. Yurt dışında yapılan çalışmalar incelendiği takdirde ise; *Candida* türlerinin, nozokomiyal kan yolu enfeksiyonu etmeni olarak Amerika'da 4. sırada yer aldıkları, Avrupa'da ise 10. sırada yer aldıkları bildirilmektedir (Marchetti et al., 1996; Nolla – Salas et al., 1997; Fluit et al., 2000).

Ülkemizde ve yurt dışında yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar; *C. albicans* suşlarının neden oldukları biyofilm ilişkili nozokomiyal enfeksiyonların, yurt dışında daha yaygın olduğu gerçeğini ortaya koymaktadır. Ülkemizde ise; Kan kültüründen izole edilen ve nozokomiyal enfeksiyon etmeni olarak saptanan *C. albicans* suşları sayısının, yurt dışına oranla daha düşük seviyelerde seyrettiği gözlenmektedir. Bu sonucun altında ise; vücut içi kullanımı söz konusu olan biyomateryallerin, yurt dışında daha yaygın kullanılıyor olduğu gerçeğinin yattığı düşünülmektedir. İlave olarak, *C. albicans* suşlarının, vücut direnci düşük olan AIDS hastalarında da mortaliteye sebebiyet verici enfeksiyonlara neden oldukları bilinen bir gerçektir (Satılmış vd., 2011). Bu bağlamda, ülkemizde yurt dışına kıyasla daha az sayıda AIDS vakası gözlenmektedir. Dolayısıyla AIDS hastalığının ve vücut içi kullanımı söz konusu olan biyomateryal kullanımının yaygın olduğu ülkelerde *C. albicans* kaynaklı biyofilm oluşumunun da yüksek olduğu; bu durumun ise; nozokomiyal *C. albicans* enfeksiyonlarında artışa neden olduğu düşünülmektedir.

Biyofilm oluşturan mikroorganizmaların, antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençli olmalarında çeşitli fizyolojik koşullar rol oynamaktadır. Antimikrobiyal ajanların, biyofilm tabakasına etkin bir şekilde penetre olamadıkları gerçeği, bu koşullardan bir tanesidir (Baillie and Douglas, 1998) ve bu durum, vücut içerisinde tekrarlayan enfeksiyonlara neden olmaktadır.

Biyofilm tabakası, mikroorganizmaların genetik olarak antimikrobiyal direnç kazanmalarında da etkin rol oynamaktadır; çünkü biyofilm yapısı yüzünden belirli bir yüzey alan üzerinde sabit kalan mikroorganizmalar; diğer mikroorganizmalara kıyasla daha fazla gen alışverişi yapma fırsatı elde etmektedir (Parsek and Singh, 2003). Bu bağlamda, çalışmamızda, suşların antimikrobiyal duyarlılıkları ile, biyofilm oluşumu sonuçları karşılaştırmalı olarak değerlendirildi ve yüksek miktarda

biyofilm oluşturdukları gözlenen suşlarda, çoklu antimikrobiyal dirençlilik kontrol edildi.

S. epidermidis suşları incelendiğinde; en yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu belirlenen Se9 suşununun, dirençli olduğu antibiyotik sayısının da fazla olduğu ve bu suşun; çalışmada kullanılan 11 antibiyotik içerisinde 9'una karşı dirençli olduğu gözlemlendi (Çizelge 4.11.). Benzer bir şekilde; antibiyotiklerden en az 5 tanesine dirençli oldukları saptanan; Se3, Se14, Se15 ve Se19 suşlarının da, yüksek miktarda biyofilm oluşturdukları ve BF Tip2 grubunda yer aldıkları saptandı. İlave olarak, bütün antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu saptanan Se2 suşunun, biyofilm oluşumu bakımından da çok zayıf olduğu ve BF Tip5 grubunda yer aldığı gözlemlendi (Çizelge 4.11.).

Bu bulgular; *S. epidermidis* suşlarında biyofilm oluşturma özelliğinin, antibiyotik dirençliliğini olumlu yönde etkilediğini göstermekte ve literatürdeki bulgularla benzerlik teşkil etmektedir. Yüksek biyofilm oluşturma yeteneği olan *S. epidermidis* suşlarında yüksek antibiyotik dirençliliği sonucuna rastlanılmasının; yukarıda da belirtildiği gibi, gen alış verişi ilkesine bağlı olarak geliştiği (Donlan, 2001) düşük biyofilm oluşturan suşlarda ise; böyle bir durum söz konusu olmayacağından, söz konusu iki özelliğın birbirinden bağımsız olarak geliştikleri sonuçlarına varıldı.

Çalışmamız kapsamında, yüksek biyofilm oluşturan suşlarda genetik olarak yüksek antibiyotik dirençliliği gözlemlendiği gibi, biyofilm oluşumu bakımından çok zayıf oldukları bilinen bazı suşların da, yüksek sayıda antibiyotiklere karşı (Se10 suşu; 9 farklı, Se11 suşu; 8 farklı) direnç geliştirebilmiş oldukları gözlemlendi. Bu durum ise; biyofilm oluşumu düşük olan suşlarda, antibiyotik direnci özelliği ile biyofilm oluşturma özelliklerinin birbirinden bağımsız olarak geliştikleri sonucunu desteleyici niteliktedir.

2004 yılında farklı klinik materyallerden izole edilen *S. epidermidis* suşları ile yapılan bir çalışmada; bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu bağlamda, Kan kültüründen izole edilen suşlarda; Gentamisin ve Oksasilin antibiyotiklerine karşı yüksek direnç sergilendiği ve bu suşlardaki biyofilm oluşumunun da; suşların antibiyotik dirençliliklerini takiben yüksek seviyelerde seyrettiği gözlenmektedir; fakat aynı çalışmada idrar yollarından izole edilen

S. epidermidis suşları incelendiği takdirde; bu suşların Oksasilin dirençlilikleri ile biyofilm oluşumlarının birbirinden bağımsız olarak seyrettikleri gözlenmektedir (Kozitskaya et al., 2004).

2011 yılında Mısır'da yapılmış olan bir diğer güncel çalışmada ise; kanser hastalarına ait çeşitli klinik materyallerden izole edilmiş *Staphylococcus* türleri içerisinde; yüksek biyofilm oluşturma yeteneği olduğu gözlenen suşların, antibiyotiklere karşı daha dirençli özellikte oldukları açıklanmaktadır (El – din et al., 2011).

P. mirabilis suşları incelendiği takdirde; en yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu tespit edilen Pm15 suşunun, dirençli olduğu antibiyotik sayısının da yüksek olduğu ve bu suşun; çalışmada kullanılan 15 antibiyotik içerisinde 8'ine karşı dirençli olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde, 8 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olduğu tespit edilen Pm8 suşunun da; oldukça yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu ve BF Tip2 grubunda yer aldığı görüldü; fakat yapılan incelemeler, 8 farklı antibiyotiğe karşı dirençli olduğu gözlenen Pm2 ve Pm12 suşlarının; orta seviyelerde biyofilm oluşturmuş olup BF Tip3 grubuna dahil edimemiş olduklarını göstermektedir (Çizelge 4.12.).

İlave olarak; BF Tip2 grubunda yer aldığı ve yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu gözlenen Pm3 suşunun, sadece iki farklı antibiyotiğe karşı direnç gösterebildiği ve bu antibiyotiklerin; Klindamisin ile Nitrofurantoin gibi, son derece düşük etkinliği olan antibiyotikler oldukları belirlendi (Çizelge 4.12.).

2010 yılında yapılan bir çalışmada; β -laktamaz enzimi içeren *P. mirabilis* suşlarının biyofilm oluşumları incelenmiş olup, β -laktamaz enzimi üretimi ile biyofilm oluşumu arasında direkt bir ilişki söz konusu olmadığı anlaşılmıştır; fakat her iki mekanizmaya birden sahip olan *P. mirabilis* suşlarının, diğer *P. mirabilis* suşlarına göre daha patojen oldukları tespit edilmiştir. Bu bağlamda bu suşlar; kronik ve kalıcı pek çok idrar yolları enfeksiyonlarından da sorumlu tutulmaktadır (Nucleo et al., 2010).

C. albicans suşları incelendiği takdirde; yüksek biyofilm oluşturdıkları gözlenen Ca8 ve Ca11 suşlarında, farklı antifungallere karşı olan direncin de yüksek olduğu ve bu suşların; çalışmada kullanılan 6 antifungal içerisinde 3'üne karşı dirençli

oldukları gözlemlendi (Çizelge 4.13.); fakat çalışmamızda, ikinci en yüksek biyofilm oluşturduğu tespit edilen Ca3 suşunun; sadece Flukonazol antifungaline karşı dirençli olduğu görüldü. İlave olarak; 3 farklı antifungale birden dirençli olduğu gözlenen Ca9 suşunun, minimum seviyelerde biyofilm oluşturmuş olduğu; bütün antifungallere karşı tamamen duyarlı oldukları saptanan Ca5, Ca18 ve Ca20 suşlarının ise; yüksek miktarlarda biyofilm oluşturup BF Tip2 grubunda yer aldıkları gözlemlendi (Çizelge 4.13.).

Bu bağlamda; *C. albicans* suşlarında, antifungal dirençliliği ile biyofilm oluşturma özelliklerinin doğru orantılı olarak gelişebildikleri gibi, birbirlerinden bağımsız olarak da gelişebilmekte oldukları ve her iki özelliğe birden sahip olduğu gözlenen Ca8 suşunun, diğer suşlara kıyasla daha patojen olup, hastanın mortalitesinden sorumlu olduğu belirlendi.

Yapılan araştırmaların çoğu; *C. albicans* suşlarının, normal koşullar altında duyarlı oldukları antifungallere karşı; biyofilm oluşturmaya başladıktan sonra direnç geliştirebildiklerini göstermekte olup bu dirençliliğin; antifungal penetrasyonundaki düşüşten, biyofilm ortamındaki besin miktarının azalmasından veya aynı ortamda antifungal parçalayıcı enzimlerin üretilmesinden kaynaklandığı açıklanmaktadır (Brown and Gilbert, 1993).

Günümüzde yapılan araştırmalarda ise; mikroorganizmalar tarafından “Persister Cells” adı verilen inatçı hücrelerin gelişiminin söz konusu olduğundan bahsedilmektedir. Bu hücrelerin; çeşitli mikroorganizmalardaki çoklu antimikrobiyal dirençten sorumlu oldukları bildirilmektedir; çünkü “Persister” Hücreler, dormant halde bulunarak hiç bir antimikrobiyal ajandan etkilenmemekte ve her türlü olumsuz koşula karşı direnç göstermektedir (Lewis, 2010).

2006 yılında *C. albicans* suşlarıyla yapılan bir çalışmada, “Persister” olarak adlandırılan çoklu ilaç direncine sahip inatçı hücrelerin, sadece biyofilm oluşturmuş *C. albicans* suşlarında geliştiği bildirilmiştir (La Fleur et al., 2006). Bu durum ise; biyofilm oluşturma özelliği olan *C. albicans* suşlarında, “Persister” hücrelere dönüşme olasılığının, oluşturmayan suşlara kıyasla daha yüksek olduğunu, hatta biyofilm oluşturma özelliği olmayan *C. albicans* suşlarında “Persister” hücrelere olan dönüşümün gerçekleşmemekte olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla,

C. albicans suşlarındaki çoklu antifungal dirençliliğinin, biyofilm oluşturma özelliği ile ilişkili olabileceği gerçeği söz konusudur.

Çalışmamız kapsamında en yüksek biyofilm oluşumunun gözleendiği Se9, Pm15 ve Ca8 suşlarının üçünün de antimikrobiyal ajanlara karşı oldukça yüksek derecelerde dirençli oldukları görülmektedir ve yapılan araştırmalar, en yüksek biyofilm oluşumunun gözleendiği suşlarda, çoklu antimikrobiyal dirençliliğinin beklenen bir özellik olduğunu göstermektedir; çünkü biyofilm tabakası içerisindeki mevcut ortam, mikroorganizmalar arası gen alış verişini destekleyici niteliktedir. Bu durum ise; dirençli suşların oluşmasına neden olmaktadır. Geçmişten günümüze kadar, biyofilm oluşumları üzerine yürütülen çalışmalar neticesinde; biyofilmlerin canlı veya cansız bir çok yüzey alanda oluşabilme özelliğinde oldukları bildirilmiştir (Donlan, 2001). İlave olarak; biyofilmlerin vücut içerisinde, iki ana durum sonucunda oluşmakta olduğu anlaşılmıştır. Bunlardan bir tanesini; cerrahi işlemlerle vücut içerisine yerleştirilen biyomateryallerin kullanımı oluşturmakta, diğer durum ise; kişinin vücut direncinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Her iki durumun da, mikroorganizmaların kolonizasyonları ve biyofilm oluşturmaları için oldukça elverişli olduğu sonucuna varılmıştır. Biyofilm oluşumu; AIDS hastaları ve Kistik Fibroz hastaları gibi vücut direnci düşük kimselerde mortalitelere sebebiyet verirken, vücudu içerisine biyomateryal yerleştirilmiş kimselerde; tekrarlayan enfeksiyonlara neden olmakta ve büyük ekonomik kayıpları da, beraberinde getirmektedir.

Vücut içerisine yerleştirilen çeşitli biyomateryallerin yüzeyinde veya belirli bir genetik rahatsızlıktan ötürü vücut direnci düşük kimselerin bazı dokularının üzerinde (Kistik Fibroz hastalarının akciğer dokularında olduğu gibi) birden fazla mikroorganizma türünün kolonize olabildiğini göstermektedir (Donlan, 2001; Özçelik, 2004). Bu durum ise, farklı türden mikroorganizmaların aynı ortamda kolonize olmalarının, ortamdaki biyofilm oluşumunu ne şekilde etkileyeceği sorusunu aklımıza getirmiş bulunmaktadır.

Günümüzde, tek bir türün biyofilm oluşumu üzerine bir çok araştırma varlığından söz edilebilirken, karışık kültürlerin biyofilm oluşumları ile aynı yüzey alanda bulunan farklı türlerin birbirlerini ne şekilde etkiledikleri üzerine yapılan araştırma sayısı oldukça azınlıktadır (Burmølle et al., 2006).

Bu bağlamda, çalışmamızın son aşamasında; direnci düşük hastaların çeşitli dokularında veya idrar sondaları, yapay kalp kapakçıkları, kataterler gibi vücut içi kullanımı olan çeşitli yabancı cisimler üzerinde biyofilm oluşturdıkları bilinen *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının aynı ortamda kolonize olmaları durumunun, biyofilm oluşumuna olan etkisi araştırıldı ve suşlar önce ikili olarak, ardından üçü aynı alanda olacak şekilde bir araya getirildi.

Elde edilen sonuçlar incelendiği takdirde; *S. epidermidis* (Se9) ile *P. mirabilis* (Pm15) suşlarının beraber kolonizasyonlarının; yüzeydeki biyofilm oluşumunu olumlu yönde etkilediği gözlemlendi; çünkü bu iki suşun bir arada bulunması sonucunda oluşan biyofilm miktarının; *S. epidermidis* (Se9) ve *P. mirabilis* (Pm15) suşlarının tek başlarına oluşturdıkları biyofilm miktarından daha fazla olduğu saptandı (Şekil 4.22.); ancak aynı durum, *C. albicans* (Ca8) suşu için geçerli değildi. Tek başına yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu gözlenen *C. albicans* (Ca8) suşunun diğer suşlarla olan kolonizasyonu, biyofilm miktarındaki düşüş ile sonuçlandı (Şekil 4.22.).

Bu bağlamda çalışmamız sonuçlarına göre; belirli bir yüzey alan üzerinde *C. albicans* türünün tek başına kolonize olması ile aynı yüzey alanda *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* türlerinin beraber kolonize olmaları durumlarının, ortamdaki biyofilm miktarını artıracak ve hasta tedavilerinde zorluklara neden olacağı tahmin edilmektedir.

Karışık kültürlerde biyofilm oluşumu üzerine yapılan çalışmalar; aynı ortamda kolonize olmuş farklı mikroorganizma türlerinin; birbirlerini olumlu yönde etkileyebildikleri gibi olumsuz yönde de etkileyebilecekleri gerçeğini ortaya koymaktadır (Burmølle et al., 2006).

Araştırmacılar tarafından; bazı suşların belirli nedenlerden ötürü (çeşitli enzim komplekslerine sahip olmamaları veya kümeleşme özelliğinden yoksun olmaları gibi) tek başlarına biyofilm oluşturmamaları açıklanmaktadır. Bu tür mikroorganizmaların, farklı türden mikroorganizmalarla bir arada ve aynı alanda kolonize olmaları durumunun ise, ortamdaki biyofilm oluşumunu artırıcı etkide bulunduğu tespit edilmiştir (Ghigo, 2001; Palmer et al., 2001; Filoche et al., 2004). Bakteriyotoksin üretimi ile ortamdaki pH düşüşünün ise; mikroorganizmaların

birbirlerini olumsuz yönde etkilemelerine neden olduğu ve bu durumun; biyofilm oluşumunu da olumsuz yönde etkilediği açıklanmaktadır (Tait and Sutherland, 2002; Rao et al., 2005). Bu bağlamda, çalışmamız kapsamında, *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* türlerinin, *C. albicans* türünü yukarıda anlatılanlara benzer şekilde olumsuz etkiledikleri tahmin edilmektedir.

Türkiye’de yapılan bir araştırmada; mekanik kalp kapaklarının, *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ve *C. albicans* türü mikroorganizmaların üçünün birden kolonize olup biyofilm oluşturdukları alanlardan biri olduğu açıklanmaktadır (Öztürk vd., 2008). Aynı çalışmada; üriner sondalarda *S. epidermidis* ve *P. mirabilis* türlerinin beraber kolonizasyonlarının söz konusu olduğundan da bahsedilmektedir. Bu bağlamda yapılan diğer çalışmalara göre, santral venöz kataterlerde; *S. epidermidis* ve *C. albicans* türlerinin kolonizasyonlarının söz konusu olduğu açıklanmaktadır (Raad et al., 1992; Montanaro et al., 1999).

Çalışmamız boyunca yapılan araştırmalar; biyofilm oluşumunun, mikroorganizmalara bir çok anlamda avantaj sağlaması ve onları çevresel bir çok etmene karşı koruması bakımından, insan hayatını tehdit edici nitelikte olduğunu göstermektedir. Özellikle; vücut direnci düşük hastaları ve vücudu içerisinde yabancı cisim kullanmak zorunda olan kişileri mortaliteyle karşı karşıya getiren bu tabakalaşma yüzünden hastalar, en güçlü antimikrobiyal ajanlarla bile tedavi edilememektedir. İlave olarak; biyofilmler, tek bir mikroorganizma tarafından oluşturulabildiği gibi birden fazla sayıda türün bir araya gelmesiyle de oluşabilmekte ve aynı anda bir çok farklı enfeksiyona sebebiyet verebilmektedir. Bu durumun ise; sağlık kurumlarında büyük endişelere neden olduğu ve tedavileri daha da zorlaştırdığı bilinen bir gerçektir.

Sonuç olarak çalışmamızda bu amaçla; Ankara’daki bir hastanenin farklı servis ve klinik materyallerinden izole edilen *S. epidermidis*, *P. mirabilis* ile *C. albicans* suşlarının; klinik verilere göre dağılımları, antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlilikleri ve biyofilm oluşumları belirlenerek elde edilen bulgular birbirleriyle karşılaştırıldı. Bu üç farklı türün bir arada bulunmaları sonucunda gelişen biyofilm miktarı incelendi. Bu bağlamda elde edilen bulgular; bir kaç defa kullanılması gereken materyallerin ne olursa olsun; biyofilm oluşumu açısından da kontrol edilmeleri gerektiği göstermektedir. Dolayısıyla, suşların biyofilm oluşturma özelliğine sahip

olup olmadıklarına dair uygulanan testlerin, rutin laboratuvar testleri içerisine dahil edilmeleri; hastane enfeksiyonlarıyla ve ekonomik kayıplarla olan mücadelelerde büyük bir avantaj sağlayacaktır.

S. epidermidis suşlarının en sık izole edildikleri klinik materyal ile servis ünitesinin; Yara Yeri kültürü ve Kalp Damar Cerrahisi olduğu; *S. epidermidis* enfeksiyonlarıyla en sık karşılaşan hastaların ise; 31–60 yaş aralığında oldukları ve bu enfeksiyonların erkeklerde, kadınlara oranla daha fazla sıklıkta görüldüğü sonuçlarına varıldı. Bu bağlamda *P. mirabilis* suşları incelendiğinde; en sık izole edildikleri klinik materyal ile servis ünitesinin; İdrar kültürü ile Acil Pediatri olduğu; *P. mirabilis* enfeksiyonlarıyla en sık karşılaşan hastaların ise; 0–15 yaş aralığında oldukları ve bu enfeksiyonların da *S. epidermidis* suşlarında olduğu gibi; erkeklerde, kadınlara oranla daha fazla sıklıkta görüldüğü sonuçlarına varıldı. *C. albicans* suşlarında ise; en sık karşılaşılan klinik materyalin, Vajen kültürü olduğu ve bu suşların neredeyse tamamının Kadın Hastalıkları ve Doğum ünitesinden izole edilmiş olup 31–45 yaş aralığındaki kadınlarda enfeksiyona sebebiyet verdiği saptandı.

Yüksek biyofilm oluşturdıkları belirlenen *S. epidermidis* suşlarının, genellikle Kan kültüründen izole edilmiş oldukları, en yüksek miktarda biyofilm oluşturduğu saptanan *C. albicans* suşunun da, diğer *C. albicans* suşlarından farklı olarak, Yoğun Bakım ünitesinde yatan bir hastadan izole edilmiş olduğu gözlemlendi. Yüksek biyofilm oluşturan suşların Kan kültüründen ve Yoğun Bakım ünitesinden izole edilmeleri ise; biyofilm ilişkili bu mikroorganizmaların nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumlu olabileceklerini göstermektedir.

S. epidermidis suşlarının %90'ının Penisilin G (P) antibiyotiğine karşı dirençli olduğu ve Vankomisin (VA) antibiyotiğinin; tüm *S. epidermidis* suşları üzerinde %100 etkin olduğu; bütün *S. epidermidis* suşlarının 11 farklı antibiyotiğe karşı, 16 farklı antibiyotip profili sergiledikleri ve bu suşlarda en sık karşılaşılan antibiyotip profillerinin ANT3, ANT4, ANT5 ve ANT9 oldukları; tüm *S. epidermidis* suşlarından %5'inin, bütün antibiyotiklere karşı duyarlı olduğu ve 11 antibiyotiğe birden dirençli herhangi bir suş varlığına rastlanmadığı; ama 7 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren *S. epidermidis* suşları oranının en yüksek değerinde olduğu (%20) sonuçlarına varıldı.

P. mirabilis suşlarının tamamının Klindamisin (CC) antibiyotiğine karşı dirençli, Seftriakson (CRO), Sefiksim (CFM), Seftazidim (CAZ), Amikasin (AK) ve Piperasilin/Tazobaktam (TZP) antibiyotiklerine karşı ise duyarlı oldukları; çalışmamız kapsamında kullanılan 15 farklı antibiyotiğe karşı, 8 farklı antibiyotip profili sergiledikleri ve bu suşlarda en sık karşılaşılan antibiyotip profilinin, ANT2 olduğu; bütün 15 antibiyotiğe birden dirençli veya bu antibiyotiklerin hepsine birden duyarlı herhangi bir suş varlığına rastlanmadığı; ama 2 farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştiren suş oranının en yüksek sıklıkta olduğu (%33) ve bu suşların hepsinin; ANT2 profilinde olup sadece, Klindamisin ve Nitrofurantoin antibiyotiklerine karşı dirençli oldukları sonuçlarına varıldı.

C. albicans suşlarının %13.3'ünün Flukonazol antifungaline karşı dirençli olduğu ve Kaspofungin ile 5-Florositozin antifungallerinin, tüm *C. albicans* suşları üzerinde %100 etkin oldukları; çalışma kapsamında kullanılan bütün *C. albicans* suşlarının 6 farklı antifungale karşı, 7 farklı antibiyotip profili sergiledikleri ve bu suşlarda en sık karşılaşılan antibiyotip profilinin, ANT1 profili olduğu; tüm *C. albicans* suşlarından %83.3'ünün, bütün antifungallere karşı duyarlı oldukları ve 6 antifungale birden dirençli herhangi bir suş varlığına rastlanmadığı; ama maksimum 3 farklı sayıda antifungale karşı direnç geliştirebildikleri sonuçlarına varıldı.

S. epidermidis, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının antimikrobiyal duyarlılıkları ile biyofilm oluşumları karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde, genel olarak tüm suşlarda; biyofilm oluşturma özelliğinin, antimikrobiyal direnci kazanımını tetiklediği ve dirençliliği artırdığı sonucuna varıldı; çünkü en yüksek biyofilm oluşturan 3 farklı türe ait suşun oldukça fazla sayıda antimikrobiyal ajana karşı dirençlilik sergiledikleri gözlemlendi. Yüksek biyofilm oluşturma ile çoklu antimikrobiyal direnç özelliklerinin her ikisine birden sahip olan suşların ise; diğer suşlara göre çok daha patojen oldukları ve *C. albicans* (Ca8) suşunda olduğu gibi hastanın mortalitesinden sorumlu olabildikleri gözlemlendi.

S. epidermidis ve *P. mirabilis* suşlarının bir arada kolonize olmaları biyofilm artışı ile sonuçlanırken, *C. albicans* suşu ile birliktelikleri biyofilm miktarındaki düşüş ile sonuçlandı. Bu bağlamda bakteri hücrelerinin, maya hücreleri üzerinde biyofilm oluşumu bakımından olumsuz bir etkiye sahip olduğu sonucuna varıldı.

S. epidermidis, *P. mirabilis* ve *C. albicans* suşlarının üçünün birden aynı ortamda kolonize olmalarıyla oluşan biyofilm miktarının araştırıldığı başka herhangi bir çalışmaya rastlanmaması; çalışmamızın özgün nitelikte olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, çalışmamızda elde edilen bulgular, biyofilm oluşumlarının önlenmesine, biyofilm oluşturan patojen suşlara karşı geliştirilecek kontrol stratejilerinin belirlenmesine ve önemli kayıpların önüne geçilmesine katkılar sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Adiloglu, A.K., Şirin, M.C., Arıdoğan, B.C., Can, R., Demirci, M., 2004, Klinik Arastırma Çesıtlı Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida* Kökenlerinin İdentifikasyonu ve Antifungal Duyarlılıklarının Arastırılması, Adü Tıp Fakültesi Dergisi, 5(3), 33 – 36.
- Ağartan, C.A., Kaya, A.D., Yücel, M., 2006, Çocuklarda İdrar Yolu İnfeksiyonu Etkenleri İle Yaş Ve Cinsiyet İlişkisinin Araştırılması - Evaluation of relationship between the agents of urinary tract infections with age and sex in children, 20 (2), 89 – 93.
- Aiassa, V., Barnes, A.I., Albesa, I., 2010, Resistance to ciprofloxacin by enhancement of antioxidant defenses in biofilm and planktonic *Proteus mirabilis* Biochemical and Biophysical Research Communications, 393, 84–88.
- Al, F.D., Akça G., Sipahi, B., Sultan, N., 2005, Kan Örneklerinden Soyutlanan Stafilokok Suşlarının Antibiyotiklere Direnç Durumları, ANKEM Derg 19(1), 14-16.
- Alexander, B.D., Perfect, J.R., 1997, Antifungal resistance trends towards the year 2000. Implication for therapy and new approaches, Drugs, 54, 657-78.
- Allen, K.E.W., S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn, W.C., 1997, The non fermentative Gram – negative bacilli, Konoman’s Colour Atlas and the Textbook of Diagnostic Microbiology, sixth edition, 253 – 321.
- Allison, D., Gilbert, P., Lappin-Scott, H.M., Wilson, M., 2000 SGM Symposium Series Cambridge University Press; 59: 87-105.

- Allison, D.G., Ruiz, B., Sanjose, C., Jaspe, A., Gilbert, P., 1998, Extracellular products and mediators of the formation and detachment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms, FEMS Microbiol Lett, 167, 179-84.
- Allison, DG., 2003, The biofilm matrix, Biofouling, 19 (2), 139 - 150.
- Altun, H.U., Şener, B., 2008, Biofilms and Antimicrobial Resistance, Hacettepe Tıp Dergisi, 39, 82 – 88.
- Andrutiş, K.A., Riggle, P.J., Kumamoto, C.A., Tzipori, S., 2000, Intestinal Lesions Associated with Disseminated Candidiasis in an Experimental Animal Model, Journal of Clinical Microbiology. 38, No.6, 2317-2323.
- Archer, GL., 1995, *Staphylococcus epidermidis* and other coagulase – negative *Staphylococci*, In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of infectious diseases, 1777 – 1784.
- Archer, G. L. and Tenenbaum, M.J., 1971, Antibiotic-Resistant *Staphylococcus epidermidis* in Patients Undergoing Cardiac Surgery, Applied Microbiol., 22(4), 693-699.
- Archibald, LK., Gaynes, RP., 1997, Hospital acquired infections in the United States: The Importance of Interhospital Comparisons, Nosocom. Infect, 11 (2), 245 – 255.
- Ay, S., İşeri, L.A., Duman, Bennur., 2003, İdrar Örneklerinden İzole Edilen Gram Olumsuz Mikroorganizmaların Antibiyotiklere Duyarlılıkları, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 10(2), 56-92.
- Aydın, M., 2004, *Candida* cinsi mantarlar, Tıp ve Diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji, 133, 1109 – 1118.

- Baillie, G. S., Douglas, L. J., 1999, Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilms, *J. Med. Microbiol.*, 48, 671–679.
- Baillie, G.S., Douglas, L.J., 1998, Iron-limited of *Candida albicans* and their susceptibility to amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother*, 42, 2146-2149.
- Baillie, G.S., Douglas, L.J., 2000, Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents, 46, 397 – 403.
- Bainton, N.J., Stead, P., Chhabra, S.R., et al., 1992, N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone regulates carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora*, *Biochem J.* 15, 997-1004.
- Bakter, L.P., Simpson, W.A., Christensen, D.G., 1990, Differential production of slime under: aerobic and anaerobic conditions, *J. Clin. Mic.*, 28 (11), 2578 – 2579.
- Bal Ç., 1993, Vajinal sekresyonların bakteriyolojik açıdan değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 23: 172-180.
- Baldassari, L., Donelli, G., Gelosia, A., Simpson, A.W., Christensen, G.D., 1997, Expression of Slime interferes with in vitro detection of host – protein receptors of *Staphylococcus epidermidis*, *Infect Immun.*, 65, 1522 – 1526.
- Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H., 1999, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Ed, Washington DC, ASM Press, 264-277.
- Baysallar, M., Küçükaraşlan, A., Aydoğan, H., Hamasha, A., Başustaoğlu, A.C., 2002, İdrar Örneklerinden İzole edilen *Proteus* türlerinin, antibiyotik duyarlılık test sonuçları, kısıtlı bildirim ve retrospektif değerlendirmenin yorumlanması 16, No.1, 48 – 51.

- Bayston, R., Rodgers, J., 1990, Production of extracellular slime by *Staphylococcus epidermidis* during stationary phase of growth: Its association with adherence to implantable devices, *J. Clin. Pathol.*, 43, 866 – 870.
- Beaudoin, DL., Bryers, JD., Cunningham, AB., Peretti, SW., 1998, Mobilization of broad host range plasmid from *Pseudomonas putida* to established biofilm of *Bacillus azotoformans*, I. Experiments. *Biotechnol. Bioeng.*, 57, 272 – 279.
- Beech, IB., Sunner, J., 2004, Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals, *Curr. Opin. Biotechnol.*, Vol.15, 181 – 186.
- Belas, R., Schneider, R., Melch, M., 1998, Characterization of *Proteus mirabilis* Precocious Swarming Mutants: Identification of *rsbA*, Encoding a Regulator of Swarming Behavior *Journal of Bacteriology*, 180(23), 6126–6139.
- Bijlsma, I.G., Van Dijk, L., Kusters, J.G., Gaastra, W., 1995, Nucleotide sequences of two fimbrial major subunit genes, *pmpA* and *ucaA*, from canine-uropathogenic *Proteus mirabilis* strains, *Microbiol.*, 141, 1349–1357.
- Bilgehan, H., 2000, *Staphylococcus* Klinik Mikrobiyoloji 10. Baskı, 240-266.
- Bjarnsholt, T., Givskov, M., 2007, The role of quorum sensing in the pathogenicity of the cunning aggressor *Pseudomonas aeruginosa*, *Anal Bioanal Chem.*, 387 (2), 409-414.
- Braun, V., Focareta, T., 1991, Pore-forming bacterial protein hemolysins (cytolosins), *Crit. Rev. Microbiol.*, 18, 115–158.

- Braunwald, E., 1997, Valvular Heart Disease, Heart Disease, 5th ed., 2, 1007 – 1066.
- Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition, Volume Two, The *Proteobacteria* Part B The *Gammaproteobacteria* Springer.
- Brooun, A. et al., 2000, A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms, Antimicrob. Agents Chemother, 44, 640–646.
- Brown, M.R.W., Gilbert, p., 2010, Sensitivity to biofilms of antimicrobial agents. J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl. 74:87S–97S, Persister Cells Annual Review of Microbiology, 64, 357-372.
- Burmølle, M., Webb, J.S., Rao, D., Hansen, L.H., Sørensen, S.J., Kjelleberg, S., 2006, Enhanced Biofilm Formation and Increased Resistance to Antimicrobial Agents and Bacterial Invasion Are Caused by Synergistic Interactions in Multispecies Biofilms, 72(6), 3916–3923.
- Busscher, HJ., Weerkamp, AH., 1987, Specific and non-specific interactions in bacterial adhesion to solid substrata, FEMS Microbiol Rev, 46, 165–173.
- Calderone, R.A., Fonzi, W.A., 2001, Virulence factors of *Candida albicans*, Trends in Microbiology, Vol. 9, No. 7, 327-335.
- Carpentier, B., Cerf, O., 1993, Biofilms and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry, J Appl Bacteriol, 75, 499–51.
- Chaieb, K., Abbasi, S., Touati, A., Hassen, A.B., Mahdouani K., Bakhrouf, A., 2005, Molecular characterization of *S.epidermidis* isolated from biomaterials in a dialysis service, Annals of Microbiology 55(4), 307-312.

- Chamberlain, N.R., Brueggemann, S.A., 1997, Characterisation and expression of fatty acid modifying enzyme produced by *Staphylococcus epidermidis*, J. Med. Microbiol., 46, 693–697.
- Chandra, J., Kuhn, D.M., Mukherjee, P.K., Hoyer, L.L., McCormick, T., Ghannoum, M. A., 2001, Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance, J. Bacteriol., 183, 5385–5394.
- Characlijs, W.G., Widerer, P. A., 1989, Structure and Fuction of Biofilms.
- Chen, X., Schauder, S., 2002, Structural Identification of a Quorum Sensing Signal Containing Boron, Natura 2002, 415, 545-9.
- Chilukuri, DM., Shah, JC., 2005, Local delivery of Vancomycin for the prophylaxis of prosthetic device – related infections. Pharm Res., 22(4), 563 – 572.
- Christensen, BB., Stenberg, C., Andersen, JB., Eberl, L., Moeller, S., et al., 1998, Establishment of new genetic traits in a microbial biofilm community, Appl. Environ. Microbiol., 64, 2247 – 2255.
- Çiftçi, İ.H., Aşık, G., Çalışkan, K., Çetinkaya, Z., Aktepe, O.C., 2009, Klinik Örneklerden İzole Edilen *Proteus* suşlarının antimikrobiyal ajanlara duyarlılıkları, 2009 Ankem 23 (3), 106 – 109.
- Cochran, W.L. et al., 2000, Reduced susceptibility of thin *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to hydrogen peroxide and monochloramine, J. Appl. Microbiol., 88, 22–30.

- Coenye, T., Nelis, H.J., 2002, Review In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation Laboratory of Pharmaceutical Microbiology, Belgium Journal of Microbiological Methods Infect Dis, 2, 677-685.
- Coker, C., Poore, C.A., Li, X., Mobley, H.L.T., 2000, Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection Microbes and Infection, 2, 1497–1505.
- Çolak, H., Akgün, Y., Çaprak, S., 1988, Türkiye’de yaygın olarak kullanılan bazı yeni antibiyotiklerin, klinik materyallerden soyutlanan Gram negatif basillere etkisi, Türkiye klinikleri tıp bilimleri Araştırma Dergisi, 6(6), 429 – 433.
- Corpe, W.A., 1974, Periphytic marine bacteria on the formation of microbial film on solid surfaces. In: Colwell R, Morita R (eds) Effect of the ocean environment on microbial activity, 397–417.
- Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., Marrie, T. J., 1987, Bacterial biofilms in nature and disease, Annu. Rev. Microbiol, 41, 435 – 464.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., Lappin-Scott, H. M., 1995, Microbial Biofilms. Annual Review of Microbiology, Vol. 49, 711 – 745.
- Costerton, JW., Stewart, PS., Greenberg, EP., 1999, Bacterial Biofilms: a common cause of persistent infections, Science, 284, 1318 – 1322.
- Dalton, HM., March, PE., 1998, Molecular genetics of bacterial attachment and biofouling, Curr. Opin. Biotechnol., 9, 252 – 255.

- Davenport, DS., ve ark., 1986, Usefulness of a test for slime production as a marker for clinically significant infections with coagulase – negative *Staphylococci*, J. In. Dis, 153 (2), 332 – 338.
- Davies, DG., 2000, Physiological events in biofilm formation. In: Allison D, Gilbert P, Lappin-Scott M, Wilson M (eds), Community structure and co-operation in biofilms, 37–51.
- Deighton, MA., Balkau, B., 1990, Adherence measured by microtiter assay as a virulence marker for *Staphylococcus epidermidis* infections, J. Clin. Mic, 28 (11), 2242.
- Demirbilek, M., Timurkaynak, F., Azap, F.C.A., Arslan, H., 2007, Biofilm production and antifungal susceptibility patterns of *Candida* species isolated from hospitalized patients. Mikrobiyol. Bult., 41(2), 261-269.
- Demirbilek, M., Timurkaynak, F., Can, F., Azap, Ö., Arslan, H., 2007, Hastane Kaynaklı *Candida* Türlerinde Biyofilm Oluşumu ve Antifungal Duyarlılık Paternleri, Mikrobiyal Bült., 41, 261-269.
- Deziel, E., Comeau, Y., Villemur, R., 2001, Initiation of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* 57RP correlates with emergence of hyperpiliated and highly adherent phenotypic variants deficient in swimming, swarming and twitching motilities, J. Bacteriol., 183, 1195 – 1204.
- Dickson, JS., Koohmarare, M., 1989, Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surfaces, Appl Environ Microbiol., 55, 832–836.
- Donabedian, H., 2003, Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. J Infect, 46, 207-214.

- Donlan, R.M., Costerton, J.W., 2002, Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms, *Clin. Microbiol. Rev*, 15 (2), 167 – 193.
- Donlan, RM., 2001, Biofilm and Device Associated Infections, *Emerg. Infect. Dis.*, 7(2), 277 – 281.
- Donlan, RM., 2001, Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process, *Clin Infect Dis*, 33, 1387–1392.
- Donlan, RM., 2002, Biofilm: Microbial life on Surfaces, *Emerg. Infect. Dis*, 8, 881 – 890.
- Dougherty, S. H., 1988, Pathobiology of infection in prosthetic devices, *Rev. Infect. Dis.* 10, 1102 – 1117.
- Douglas, L. J., 2003, *Candida* biofilms and their role in infection, *Trends Microbiol.*, 11. 30–36.
- Drenkard, E., 2003, Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes Infect.*, 5, 1213 – 1219.
- Dunne, MW., 2002, Bacterial adhesion—seen any good biofilms lately?, *Clin Microbiol Rev*, 15, 155–166.
- Dworkin, M., 1991, in *Microbial Cell – Cell Interactions*, (M. Dworkin Ed.), American Society for Microbiology, 179 – 216.
- Eberhard, A., 1972, Inhibition and activation of bacterial luciferase synthesis, *J Bacteriol*, 109, 1101-1105.

- Eberhard, A., Burlingame, AL., Eberhard, C., Kenyon, GL., Nealson, KH., Oppenheimer, NJ., 1981, Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase, *Biochemistry*, 20, 2444-2449.
- ED Jr. J., 1995, *Candida* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Infectious Diseases*, Churchill Livingstone, 2289-306.
- Egland, K. A., Greenberg, E. P., 1999, Quorum sensing in *Vibrio fischeri*: Elements of the luxI promoter, *Mol. Microbiol*, 31, 1197-1204.
- Elçi, S., Atmaca, S., Gül, K., 1995, Effect of iron limitation on the amount of slime produced by strains of *Staphylococcus epidermidis*, *Cytobios*, 84, 141 – 146.
- Elliot, T. S. J., 1988, Intravascular - Device Infections, *J. Med. Microbiol*, 27, 161 – 167.
- Engbrecht, J., Nealson, K., Silverman, M., 1983, Bacterial bioluminescence: isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*, *Cell*. 32, 773 - 781.
- Ernst, J.F., 2000, Transcription factors in *Candida albicans*-environmental control of morphogenesis, *Microbiology*, 146, 1763-1774.
- Feglo, P.K., Gbedema, S.Y., Quay, S.N.I., Adu-Sarkodie, Y., Opoku-Okrah, C., Occurrence, species distribution and antibiotic resistance of *Proteus* isolates: A case study at the Komfo Anokye Teaching Hospital (KATH) in Ghana, 2010, *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(9), 347–352.

- Fidan, I., Yuksel, S., Gurelik, F.C., 2005, Biofilm Production of Coagulase – negative *Staphylococci* and Effects of Ciprofloxacin on Biofilm Production, Journal of the Turkish Microbiological Society, 35, 149 – 152.
- Filoche, S.K., Anderson, S.A., Sissons, C.H., 2004, Biofilm growth of *Lactobacillus* species is promoted by *Actinomyces* species and *Streptococcus mutans*, Oral Microbiol. Immunol., 19, 322–326.
- Flemming, HC., Wingender, J., Mayer, C., Korstgens, V., Borchard, W., 2000. Cohesiveness in biofilm matrix polymers, In “Community Structure and Cooperation in Biofilms, SGM Symposium Series, 59. ed.
- Fletcher, M., 1976, The effect of proteins on bacterial attachment to polystyrene, J. Gen. Microbiol., 94, 400 – 404.
- Fletcher, M., Pringle, JH., 1986, Influence of substratum hydration and absorbed macromolecules on bacterial attachment to surfaces, Appl. Environ. Microbiol, 51(6), 1321–25.
- Fluit, A.C., Jones, M.E., Schmitz, F.J., Acar, J., Gupta, R., Verhoef, J., 2000, Antimicrobial susceptibility and frequency of occurrence of clinical blood isolates in Europe from the sentry antimicrobial surveillance program, 1997 and 1998, Clin Infect Dis, 30, 454-460.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S., 2002, Gram – negative *Bacilli* and *Coccobacilli*, In: Diagnostic Microbiology, 11th edition, 384 – 398.
- Fridkin, SK., Welbel. SF., Weinstein. RA., 1997, Magnitude and prevention of nosocomial infections in the intensive care unit, Nosocom. Infect, 11(2), 479 – 496.

- Fuquo, WC., Winans, SC., Greenberg, EP., 1994, Quorum Sensing in Bacteria: The Lux R – Lux I Family of Cell Density – Resonsive Transcriptional Regulators, *J. Bacteriol*, 176, 269 – 275.
- Fux, C. A., Costerton, J. W., Stewart, P. S., Stoodley, P., 2005, Survival strategies of infectious biofilms, *Trends Microbiol.*, 13, 34–40.
- Galdbart, JO., Allignet, J., Tung, HS., Ryden, C., El solh, N., 2000, Screening for *Staphylococcus epidermidis* markers discriminating between skin – flora strains and those responsible for infections of joint prostheses, *J. Infect. Dis.*, 182, 351- 355.
- Gambello, M.J., Iglewski, B.H., 1991, Cloning and characterisation of the *Pseudomonas aeruginosa* lasR gene, a transcriptional activator of elastase expression, *J. Bacteriol*, 173, 3000-3009.
- Gegal, E., Sandovsky – Losica, H., 1994, Adhesion and Interaction of *Candida albicans* with Mammalian Tissues in Vitro and In Vivo, *Methods in Enzymology*, 253, 439 – 452.
- Getliffe, K.A., Mulhall, A.B., 1991, The encrustation of indwelling catheters, *Br J Urol*, 67, 337 – 341.
- Getliffe, K.A., 1994, The characteristics and management of patients with recurrent blockage of long term urinary catheters, *J Adv Nursing*, 20, 140 – 149.
- Ghigo, J.M., 2001, Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development, *Nature*, 412, 442 – 445.
- Gilbert, P. et al., 1997, Biofilms susceptibility to antimicrobials, *Adv. Dent. Res.*, 11, 160–167.

- Gilbert, P., Evans, DJ., Evans, E., Duguid, IG., Brown, MRW., 1991, Surface characteristics and adhesion of *E. coli* and *Staphylococcus epidermidis*, J Appl Bacteriol, 71, 72–77.
- Gill, S.R., ve ark., Insights on Evolution of Virulence and Resistance from the Complete Genome Analysis of an Early Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* Strain and a Biofilm – Producing Methicillin – Resistant *Staphylococcus epidermidis* Strain, Journal of Bacteriology, 187 (7), 2426 – 2438.
- Goldman, D. A., Pier, G. B., 1993, Pathogenesis of Infections related to introvasculer catheterization, Clin. Microbiol, Rev. 6, 176 – 192.
- Goldmann, DA., Huskins, WC., 1997, Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide, Clin. Infect. Dis, 24 (Suppl. 1), 139 – 145.
- Griffith, D.P., Musher, D.M., Itin, C., 1976, Urease: the primary cause of infection-induced urinary stones, Invest. Urol., 13, 346–350.
- Gümüşderelioğlu, M., 2004, Mikrobiyal Biyofilmler ve İnsan Sağlığı Açışından Önemleri, 31.Türk Mikrobiyoloji Kongresi Tutanaklar Kitabı, 206.
- Haluk Eraksoy 1989. Stafilokoklarda antibiyotik direnci, Ankem Dergi 3(3), 457 – 463.
- Hasbek, M., Hakgüdenler, Y., Kaya, S., Bakıcı, M.Z., 2002, Stafilokoklarda Metisilin Direncinin Farklı Yöntemlerle Belirlenmesi ve Çoğul Antibiyotik Direnci, C.Ü. Tıp Fakültesi Derneği, 24 (4),179 – 184.

- Hausner, M., Wuertz, S., 1999, High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 3710 – 3713.
- Hawser, S. P., Douglas, L. J., 1995, Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 39, 2128–2131.
- Hawser, S. P., Douglas, L. J., 1994, Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro, *Infect. Immun.*, 62, 915–921.
- Heilmann, C., Schweitzer, O., Gerke, C., Vanittanakon, N., Mack, D., Götz, F., 1996, Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm – forming *Staphylococcus epidermidis*, *Mol. Microbiol.*, 20, 1083 – 1091.
- Henrici, AT., 1993, Studies of freshwater bacteria. I.A direct microscopic technique, *J. Bacteriol.*, 25, 277 – 287.
- Heper, G., Özdemir, M., Polat, K., Tezcan, U.K., Göksel, S., 1997, Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi Kardiyoloji Kliniğinde Ocak 1990-Aralık 1995 arasında izlenen infektif endokardit vakalarının klinik, bakteriyolojik ve ekokardiyografik değerlendirilmesi, *Ankara üniversitesi Tıp Fakültesi mecmuası*, 50, 19-25.
- Hernandez, S., Lo´pez-Ribot, J.L., Najvar, L.K., McCarthy, D.I., Bocanegra, R., and Graybill, J.R., 2004, Caspofungin Resistance in *Candida albicans*: Correlating Clinical Outcome with Laboratory Susceptibility Testing of Three Isogenic Isolates Serially Obtained from a Patient with Progressive *Candida* Esophagitis, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48 (4), 1382–1383.
- Hoffman, L.R., D’Argenio, D.A., MacCoss, M.J., Zhang, Z., Jones, R.A., Miller, S.I., 2005, Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation, *Nature*, 436, 1171 – 1175.

- Hornby, JM., Jensen, EC., Lisec, AD., et al., 2001, Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by Farnesol, *Appl Environ Microbiol.*, 67, 2982-2992.
- Hoyer, L.L., 2001, The ALS gene family of *Candida albicans*, *Trends in Microbiology*, Vol.9, No.4.
- Hselm, E., Etherden., IL., 1991, Slime production by *Staphylococcus saprophyticus*, *Infection and Immunity*, (59)1, 445 – 448.
- Huebner, J., Goldmann, DA., 1999, Coagulase negative *Staphylococci*: role as pathogens, *Annu Rev Med.* 50, 223 – 236.
- Huebner, J., Pier, GB., Maslow, JN., Muller, E., Shiro, H., et al, 1994, Endemic nosocomial transmission of *Staphylococcus epidermidis* bacteremia isolates in a neonatal intensive care unit over 10 years, *J. Infect. Dis.*, 169, 526 – 531.
- Hukins, D.W.L., Hickey, D.S., Kennedy A.P., 1983, Catheter encrustation by struvite, *Br J Urol*, 55, 304 – 305.
- Ing, MB., Baddour, LM., Bayer, AS., 1995, Bacteremia and infective endocarditis: pathogenesis, diagnosis and complications, In: Crossley KB, Archer GL (eds) *The staphylococci in human disease*, 331 – 334.
- Jarlov, J.O., Hoiby, N., 1998, Coagulase-negative *staphylococci* in a major Danish university hospital diversity in antibiotic susceptibility between wards, *APMIS*, 106, 411.
- Jefferson, K. K., 2004, What drives bacteria to produce a biofilm?, *FEMS Microbiol. Lett.*, 236,163–173.

- Jefferson, K.K., Pier, D.B., Goldman, D.A., 2004, The teicoplanin - associated locus regulator (TcaR) and the Intercellular adhesion locus regulator (IcaR) and transcriptional inhibitors of the ica locus in *Staphylococcus aureus*, *J. Bacteriol*, 186 (8), 2449-2456.
- Jenkinson, H.F., Douglas, L.J., 2002, Interactions between *Candida* Species and Bacteria in Mixed Infections, *Polymicrobial Diseases*.
- Jones, R., Vincent, B.A., Saunders, W.B., 2003, Bacteraemia, England, Wales and Northern Ireland: *Commun Dis Rep CDR*.
- Juárez-Verdayes., M.A., Reyes-López, M.A., Cancino-Díaz, M.E., Muñoz-Salas, S., Rodríguez-Martínez, S., de la Serna, F.J., Hernández-Rodríguez, C.H., Cancino-Díaz, J.C., 2006, Isolation, vancomycin resistance and biofilm production of *Staphylococcus epidermidis* from patients with conjunctivitis, corneal ulcers, and endophthalmitis. *Rev Latinoam Microbiol*. 48(3-4), 238-46.
- Keating, G.M., Jarvis, B., 2001, Caspofungin, *Drugs*, 61,1121-1129.
- Kempner, E. S., Hanson, F. E., 1968, Aspects of light production by *Photobacterium fischeri*, *J. Bacteriol*, 95, 975-979.
- Khoury, A.E., Lam, K., Ellis, B., Costerton, J.W., 1992, Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices., *Am. Soc. Artif. Intern. Organs J*, 38(3), M174 – 178.
- Kiraz, N., 1993, Koagülaz negatif stafilokokların slaym oluşumuna etkileri, *Türk Mik. Cem. Derg*, 23, 219 – 225.

- Kloos, W. E., and D. W. Lambe, Jr., 1991, *Staphylococcus*, In A. Balows, W. J. Hausler, Jr., K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C 222-237.
- Kloos, W.E., Bannerman, T.L., 1999, *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology, 7th Ed, 264-277.
- Kojic, E. M., Darouiche, R. O., 2004, *Candida* infections of medical devices, Clin. Microbiol., 17, 255–267.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Winn W,C., 1997, The Gram Positive cocci Part I: *Staphylococci* and Related Organisms. In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. eds. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th Ed, 405 - 446.
- Kong, K.F., Vuong, C., Otto, M., 2006, *Staphylococcus* quorum sensing in biofilm formation and infection, 296, 133 – 139.
- Korber, DR., Lawrence, JR., Lappin – Scott, HM., Costerton, JW., 1995, Growth of microorganisms on surfaces, In microbial Biofilms, ed. HM Lappin – Scott, JW Costerton, 15 – 45.
- Kozitskaya, S., Cho, S.H., Dietrich, K., Marre, R., Naber, K., Ziebuhr, W., 2004, The Bacterial Insertion Sequence Element IS256 Occurs Preferentially in Nosocomial *Staphylococcus epidermidis* Isolates: Association with Biofilm Formation and Resistance to Aminoglycosides, Infection and Immunity, 72, 1210–1215.

- Kruppa, M., Krom, B.P., Chauhan, N., Bambach, A. V., Cihlar, R. L., Calderone, R.A., 2004, The two-component signal transduction protein Chk1p regulates quorum sensing in *Candida albicans*. *Eukaryot. Cell* 3, 1062–1065.
- Kumamoto, C. A., 2002, *Candida* biofilms, *Curr. Opin. Microbiol.*, 5, 608–611.
- Kumar, CG., Anand, SK., 1998, Significance of microbial biofilms in food industry: a review, *Int J Food Microbiol*, 42, 9 – 27.
- LaFleur, M.D., Kumamoto, C.A., Lewis, K., 2006, *Candida albicans* Biofilms Produce Antifungal-Tolerant Persister Cells, *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 50 (11), 3839-3846.
- Lazarević, G., Petreska, D., Pavlović, S., 1998, Antibiotic sensitivity of bacteria isolated from the urine of children with urinary tract infections from 1986 to 1995, *International Journal of Antimicrobial Agents Spread of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* isolates producing an AmpC-type β -lactamase: epidemiology and clinical management*, 126 (11-12), 423-9.
- Levin, J. F., 1987, Vancomycin: A Review *Med Clin North Am*, 71, 1135.
- Lewis, K., 2001, Riddle of biofilm resistance, *Antimicrobial Agents Chemother*, 45, 999-1007.
- Lewis, L., 2006, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Department of Biology and Antimicrobial Discovery Center, 50(11), 3839–3846.
- Li, DQ., Lundberg, F., Ljung, A., 2000, Binding of von Willebrand factor by coagulase – negative *Staphylococci*, *J. Med. Microbiol.*, 49, 217 – 225.

- Lindsay, D., Von Holy, A., 2006, Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know?, *J. Hosp. Infect.*, 64, 313–325.
- Liu, H., 2001, Transcriptional control of dimorphism in *Candida albicans*, *Current Opinion in Microbiology*, 4, 728-735.
- Loomes, L.M., Senior, B.W., Kerr, M.A., 1992, Proteinases of *Proteus* spp.: purification, properties and detection in urine of infected patients, *Infect. Immun.*, 60, 2267–2273.
- Losick, R., and Kaiser, D., 1997 Why and how bacteria communicate. *Sci. Am.* 276, 68-73.
- Luzzaro, F., Brigante, G., D'Andrea, M.M., Giani, B.P.T., Mantengoli, E., Rossolini, G.M., Toniolo, A. 2009, Spread of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* isolates producing an AmpC-type beta-lactamase: epidemiology and clinical management. *Int J Antimicrob Agents.* 33(4), 328-33.
- MacFaddin, J.F., 1980, "Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria." Williams & Wilkins, 173 - 183.
- Mack, D., Nedelmann, M., Krokotsch, A., Schwarzkopf, A., Heesemann, J., Laufs, R., 1994, Characterization of transposon mutants of biofilm – producing *Staphylococcus epidermidis* impaired in the accumulative phase of biofilm production: genetic identification of a hexosamine – containing polysaccharide intercellular adhesin, *Infect Immun.*, 62, 3244 – 3253.
- Mack, D., Siemssen, N., Laufs, R., 1992, Parallel induction by glucose of adherence and polysaccharide antigen specific for plastic adherent *Staphylococcus epidermidis*: evidence for functional relation to intercellular adhesion, *Infect Immun.*, 60, 2048 – 2057.

- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D., Clark, D.P., Brock Biology of Microorganisms, 13th Edition.
- Magued, A., ve ark., 1985, Association of slime with pathogenicity of coagulase – negative *staphylococci* causing nosocomial septicemia, Journal of clinical microbiology, (22) 6, 1025 – 1029.
- Mah, T.F., O’Toole, G. A., 2001, Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents, Trends Microbiol., 9, 34–39.
- Mahamata, A., Lavignec, J.P., Bouzigesc, N., Daurès, J.-P., Sottob, A., 2006, Antimicrobial susceptibility of *Proteus mirabilis* urinary tract isolates from 1999 to 2005 at Nîmes university hospital, Pathologie Biologie, 54, 456–461.
- Maira-Litran, T. et al., 2000, An evaluation of the potential of the multiple antibiotic resistance operon (*mar*) and the multidrug efflux pump *acrAB* to moderate resistance towards ciprofloxacin in *Escherichia coli* biofilms, J. Antimicrob. Chemother, 45, 789–795.
- Marchetti, O., Bille, J., Fluckiger, U., Eggimann, P., Ruef, C., Garbino, J., Calandra, T., Glauser, M.P., Tauber, M.G., Pittet, D., 2004, Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000, Clin Infect Dis 2004, 38, 311-320.
- Marrie, T.J., Nelligan, J., Costerton, J. W., 1982, A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead, Circulation, 66, 1339 – 1341.
- Marshall, K.C., 1976, Interfaces in Microbial Ecology, 123 (5), 344.

- Marshall, K.C., Stout, R., Mitchell, R., 1971, Mechanisms of the initial events in the absorption of marine bacteria to surfaces, *J Gen Micro*, 68, 337–348.
- Martins, M., Henriques, M., Azeredo, J., Rocha, S.M., Coimbra, M.A., Oliveira, R., 2007, Morphogenesis control in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* through signaling molecules produced by planktonic and biofilm cells, *Eukaryot Cell*, 6(12), 2429-2436.
- Matthews, R., Burnie, J., 1998, The epidemiology and pathogenesis of candidiasis: applications in prevention and treatment, *Bull Ins. Pasteur*, 96, 249-25.
- Matz, C., Kjelleberg, S., 2005, Off the hook—how bacteria survive protozoan grazing, *Trends Microbiol.*, 13, 302–307.
- McKenney, D., Hübner, J., Mueller, E., Wang, Y., Goldmann, D.A., Pier, G.B., 1998, The *ica* locus of *Staphylococcus epidermidis* encodes production of the capsular polysaccharide / adhesin, *Infect Immun.*, 66, 4711 – 4720.
- McKevitt, A.I., Bjornson, G.L., Mauracher, C.A., Scheifele, D.W., 1990, Amino acid sequence of a deltalike toxin from *Staphylococcus epidermidis*, *Infect. Immun.*, 58, 1473–1475.
- Meadows, P.S., 1971, The attachment of bacteria to solid surfaces, *Arch. Microbiol.* 75, 374 – 381.
- Mehlin, C., Headley, C.M., Klebanoff, S.J., 1999, An inflammatory polypeptide complex from *Staphylococcus epidermidis*: isolation and characterization, *J. Exp. Med.*, 189, 907–918.

- Michelim, L., Lahude, M., Araújo, P.R., Giovanaz, D.S.H., Müller, G., Delamare, A.P.L., Costa, S.O.P., Echeverrigaray, S., Pathogenicity factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* associated with nosocomial infections occurring in intensive care units, 2005, Brazilian Journal of Microbiology 36,17-23.
- Michelim, L., Lahude, M., Araújo, P.R., Giovanaz, D.S.H., Müller, G., Delamare, A.P.L., Costa, S.O.P., Echeverrigaray, S., 2005, Pathogenicity factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* associated with nosocomial infections occurring in intensive care units, Brazilian Journal of Microbiol., 36, 17-23.
- Miller, M.B., Bassler B.L., 2001, Quorum Sensing in Bacteria, Annu. Rev. Microbiol, 55, 165–99.
- Mobley, H.L.T., Belas, R., 1995, Swarming and pathogenicity of *Proteus mirabilis* in the urinary tract, Trends Microbiol., 3, 280 – 284.
- Mobley, HLT., 1994, Virulence of *Proteus mirabilis* in urinary tract infections, Molecular pathogenesis and clinical management, 245–269.
- Molero, G., Diez-Orejas, R., Navarro-Garcia, F., Monteoliva, L., Gil, C., Sanchez-Perez, M., Nombela, C.,1998, *Candida albicans*: genetics, dimorphism and pathogenicity, Internatl. Microbiol., 1, 95-106.
- Montanaro, L., Arciola, C.R., Baldassarri, L., Borsetti, E., 1999, Presence and expression of collagen adhesin gene (cna) and slime production in *Staphylococcus aureus* strains from orthopaedic prosthesis infections, Biomaterials, 20(20), 1945-9.
- Montesinos, I., Salido, E., Delgado, T., Cuervo, M., Sierra, A., 2002, Epidemiologic genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed field gel electrophoresis at a University Hospital and

comparison with antibiotyping and protein A and coagulase gene polymorphisms, *J. Clin. Microbiol.*, 40, 2119-2125.

Morris, N.S., Stickler, D.J., Winters, C., 1997, Which indwelling urethral catheters resist encrustation by *Proteus mirabilis* biofilms, *Br J Urol*, 80, 58 – 63.

Morris, NS., Stickler, DJ., 1998, Encrustation of indwelling urethral catheters by *Proteus mirabilis* biofilms growing in human urine, *J. Hosp Infect.*, 39 (3), 227 – 234.

Morschhauser, J., 2002, The genetic basis of fluconazole resistance development in *Candida albicans*, *Biochim Biophys Acta.*, 1587, 240 – 248.

Nakamura, A., Oguri, T., Tabe, Y., Igari, J., A new method of antibiotyping yeasts for subspecies discrimination and distribution in human clinical specimens, *European Journal of Epidemiology*, Volume 12, Number 1, 55-62.

Navarro – Garcia, F., Sanchez, M., Nombela, C., Pla, J., 2001, Virulence genes in the pathogenic yeast *Candida albicans*, *FEMS Microbiology Reviews*, 25, 248 – 268.

Nealson, KH., Platt, T., Hastings, JW., 1970, Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescence system, *J Bacteriol*, 104, 313-322.

Nolla-Salas, J., Sitges-Serra, A., Leon-Gil, C., Martinez-Gonzalez, J., Leon-Regidor, M.A., Ibanez-Lucia, P., Torres-Rodriguez, J.M., 1997, Candidemia in non-neutropenic critically ill patients: analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy, *Study Group of Fungal Infection in the ICU, Intensive Care Med*, 23, 23-30.

- Novick, RP., Muir, WM., 1999, Virulence gene regulation by peptides in *staphylococci* and other Gram-positive bacteria, *Curr Opin Microbiol*, 2, 40-45.
- Nucleo, E., Fugazza, G., Migliavacca, R., Spalla, M., Comelli, M., Pagani, L., Debiaggi, M., 2010, Differences in biofilm formation and aggregative adherence between β -lactam susceptible and β -lactamases producing *P. mirabilis* clinical isolates, *New Microbiologia*, 33, 37-45.
- O’Gara, J.P., Humphreys, H., 2001, *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications, *J. Med. Microbiol.*, 50, 582 – 587.
- O’May, G.A., Jacobsen, M., Longwell, M., Stoodley, P., Mobley, H. L. T. and Shirtliff, M. E., 2009, The high-affinity phosphate transporter Pst in *Proteus mirabilis* HI4320 and its importance in biofilm formation. 155(5), 1523-1535.
- O’Toole, G., Gibbs, KA., Hager, PW., Phibbs, PV Jr., Kolter, R., 2000, The global carbon metabolism regulator Crc is a component of a signal transduction pathway required for biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*, *J. Bacteriol*, 182, 425–31.
- O’Toole, G., Kaplan, H.B., Kolter, R., 2000, Biofilm Formation as Microbial Development, *Annu. Rev. Microbiol*, 54, 49–79.
- O’Toole, GA., Kolter, R., 1998, Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development, *Mol. Microbiol.*, 30, 295 – 304.
- O’Toole, GA., Kolter, R., 1998, The initiation of biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis, *Mol. Microbiol*, 28, 449–61.

- Odds, F.C., Bernaets, R., 1994, J.Clin. Microbiol., 32,1923-1929.
- O'Toole, G. A., Pratt L. A., Watnick P. I., Newman D. K., Weaver V. B. and Kolter R., 1999, Genetic approaches to study of biofilms. Methods Enzymol. 310, 91-109.
- Otto, M., 2002, *Staphylococcus epidermidis* infections Cuong Vuong, Microbes and Infection, 4, 481– 489.
- Otto, M., 2009 *Staphylococcus epidermidis* — the 'accidental' pathogen 7; 555 – 567.
- Otto, M., Sumuth, R., Jung, G., Gotz. F., 1998, Structure of the pheromone peptide of the *Staphylococcus epidermidis* agr system, FEBS Letters, 424, 89-94.
- Özçelik, U., 2004, Derleme Kistik fibrozis akciğer hastalığında patogenezi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 47, 299-302.
- Özkan, F., 2002, Hastane infeksiyonları ve metisillin dirençli *Staphylococcus aureus*, Antibiyotik Bülteni, 1(4), 106.
- Öztürk, R., 2008, Akılcı antibiyotik kullanımı ve ülkemizde antimikrobik maddelere direnç sorunu, Toplumdan edinilmiş enfeksiyonlara pratik yaklaşımlar sempozyum dizisi, 61, 1-16.
- Öztürk, S. B., Sarıkaya, S., Öncü, S., Ertuğrul M. B., 2008, Biofilms and device – associated Infections, Klinik Journal, 3, 79 – 86.
- Padera, RF., 2006, Infection in ventricular assist devices: the role of biofilm, Cardiovasc Pathol., 15, 264 – 270.

- Palmer, J., Flint, S., Brooks, J., 2007, Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm, *J Ind Microbiol Biotechnol*, 34, 577–588.
- Palmer, R Jr., White, DC., 1997, Developmental biology of biofilms: implications for treatment and control, *Trends Microbiol*, 5(11), 435–440.
- Palmer, R.J., Kazmerzak, K., Hansen, M.C., Kolenbrander, P.E., 2001, Mutualism versus independence: strategies of mixed-species oral biofilms in vitro using saliva as the sole nutrient source, *Infect. Immun.*, 69, 5794–5804.
- Parsek, M.P., Singh P.K., 2003, Bacterial Biofilms: An Emerging Link to Disease Pathogenesis, *Annu. Rev. Microbiol*, 57, 677 – 701.
- Patrick, CC., ve ark., 1992, Role of *Staphylococcus epidermidis* slime layer in experimental tunnel tract infections, *Infection and Immunity*, 60(4), 1363 – 1367.
- Patti, J.M., Allen, B.L., Mc Gavin, M.J., Hook. M., 1994, Mediated adherence of microorganisms to host tissues, *Annu Rev Microbiol*, 48, 585-617.
- Pechere, J.C., Laverdierc, M., 1984, Bacteremia and Septicemia, In *Infections*, edited by Pechere JC Lea anil Febiger, 171.
- Pfaller, M.A., Messer, S.A., Houston, A., Rangel – Frausto, M.S., Wiblin, T., Blumberg, H.M., Edwards, J.E., Jarvis, W., Martin, M.A., Neu, H.C., Saiman, L., Patterson, J.E., Dibb, J.C., Roldan, C.M., Rinaldi, M.G., Wenzel, R.P., 1998, National epidemiology of mycoses survey: a multicenter study of strain variation and antifungal susceptibility among isolates of *Candida* species, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 31, 289 – 296.

- Piper, KR., Farrand, SK., 1999, Conjugal Transfer but not quorum – dependent tra gene induction of pTiC58 requires a solid surface, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 2798 – 2801.
- Pratt, LA., Kolter, R., 1998, Genetic analysis of *E. coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I Pili, *Mol Microbiol*, 30, 285–293.
- Pratt, LA., Kolter, R., 1998, Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: defining the roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili, *Mol. Microbiol*, 30(2), 285–294.
- Projan, S.J., Novick, R.P., 1997, The molecular basis of pathogenicity, In K. B. a. A. Crossley, G.L.(ed.), *The Staphylococci in human disease*, 55 – 82.
- Qu, Y., Daley, A.J., Istivan, T.S., Rouch, D.A., and Deighton, M.A., 2010, Densely adherent growth mode, rather than extracellular polymer substance matrix build-up ability, contributes to high resistance of *Staphylococcus epidermidis* biofilms to antibiotics, *Antimicrob Chemother*, 65: 1405–1411.
- Quindós, G., Lipperheide, V., Barturen, B., Alonso, R., Bikandi, J., San Millán, R., Tellaetxe, M., Ribacoba, L., Feglo, J.P.P.K., et. al., 2010, *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*,1 (9), 347-352.
- Quindós, G., Lipperheide, V., Barturen, B., Alonso, R., Bikandi, J., San Millán, R., Tellaetxe, M., Ribacoba, L., Pontón, J., 1996, A new method of antibiotyping yeasts for subspecies discrimination and distribution in human clinical specimens, *European Journal of Epidemiology*, 12(1), 55-62.
- Quintiliani, R., Nightingale, C., Rossi, J.G., Ristuccia, A.M., 1984, Cephalosporins: An Overview. In *Antimicrobial Therapy*, edited by Ristuccia A M, BA Cunha, 289.

- Raad, II., Sabbagh, M.F., Rand, K.H., Sherertz, R.J., 1993, Quantitative tip culture methods and the diagnosis of central venous catheter- related infections, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 15(4), 13-20.
- Raffa, RB., Iannuzzo, JR., Levine, DR., et al., 2005, Bacterial communication ("Quorum Sensing") via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs, *J Pharmacol Exp Ther*, 312, 417-423.
- Ramage, G., Bachmann, S., Patterson, T. F., Wickes, B. L., Lopez- Ribot, J. L., 2002, Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms, *J. Antimicrob. Chemother*, 49, 973–980.
- Ramage, G., Vande Walle, K., Wickes, B.L., Lopez-Ribot, J.L., 2001, Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms, *Antimicrob. Agents Chemother*, 45, 2475–2479.
- Ramage, G., VandeWalle, K., Lopez-Ribot, J.L., Wickes, B.L., 2002, The filamentation pathway controlled by the Efg1 regulator protein is required for normal biofilm formation and development in *Candida albicans*, *FEMS Microbiol. Lett.*, 214, 95–100.
- Rao, D., Webb, J.S., Kjelleberg, S., 2005, Competitive interactions in mixed-species biofilms containing the marine bacterium *Pseudoalteromonas tunicata*, *Appl. Environ. Microbiol*, 71, 1729–1736.
- Reagan, D.R., Pfaller, M. A., Hollis, R. J., Wenzel, R. P., 1990, Characterization of the sequence of colonization and nosocomial candidemia using DNA fingerprinting and a DNA probe, *J. Clin. Microbiol.*, 28, 2733–2738.

- Richardson, MD., Warnock, D.W., 1997, Deep Candidosis, In: Fungal Infection, Diagnosis and management, 2nd Ed, Blackwell Science, 131.
- Ruhnke, M, Eigler, A., Tennagen, I., Geiseler, B., Engelmann, E., and Trautmann, M., 1994, Emergence of fluconazole-resistant strains of *Candida albicans* in patients with recurrent oropharyngeal candidosis and human immunodeficiency virus infection. J Clin Microbiol. 32(9), 2092–2098.
- Ruiz, B., Jaspe, A., SanJose, C., Gilbert, P. & Allison, D. G., 1999, Compositional diversity among exopolysaccharides from planktonic and biofilm populations of *Pseudomonas fluorescens*, In Biofilms: the Good, the Bad and the Ugly, (Wimpenny, J., Gilbert, P., Walker, J., Brading, M. & Bayston, R., Eds), 269 – 277.
- Rupp, ME., Ulphani, JS., Fey, PD., Mack, D., 1999, Characterization of *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin / hemagglutinin in the pathogenesis of intravascular catheter – associated infection in a rat model, Infect. Immun., 67, 2656 – 2659.
- Saraçlı M.A., 2006, “Quorum sensing”: mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor?, Gülhane Tıp Dergisi, 48, 244-250.
- Sasahara, KC., Zottaloo, EH., 1993, Biofilm formation by *Listeria monocytogenes* utilizes a primary colonizing microorganisms in flowing systems, J Food Prot, 56, 1022–1028.
- Satılmış, Ö.K., Akkaya, Y., Ergin, Ç., Kaleli, İ., 2011, Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Candida* sp kökenlerinde slime faktör üretimi - Slime factor production in *Candida* species isolated from various clinical materials, Pam Med J. , 4(1), 25-29.

- Sauer. K., Camper, AK., Ehrlich, GD., Costerton, JW., Davies, DG., 2002, *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm, J. Bacteriol., 184, 1140–1154.
- Schaeffler, S., *Staphylococcus epidermidis* BV: Antibiotic Resistance Patterns, Physiological Characteristics, and Bacteriophage Susceptibility, 1971, 22(4): 693-699.
- Seif El-Din, S.S., El-Rehewy, M.S., Ghazaly, M.M., Abd-Elhamid, M.H., 2011, Biofilm Formation by Blood Stream *Staphylococcal* Isolates from Febrile Pediatric Cancer Patients at South Egypt Cancer Institute, Journal of American Science, 7(1), 674-686.
- Senior, B.W., Loomes, L.M., Kerr, M.A., 1991, The production and activity in vivo of *Proteus mirabilis* IgA protease in infections of the urinary tract, J. Med. Microbiol., 35, 203–207.
- Shchepin, R., Hornby, JM., Burger, E., Niessen, T., Dussault, P., Nickerson, KW., 2003, Quorum sensing in *Candida albicans*: probing farnesol's mode of action with 40 natural and synthetic farnesol analogs, Chem Biol., 10, 743-750.
- Shiro, H., Mueller, E., Gutierrez, N., Boisot, S., Grout, M., Tosteson, T.D., Goldmann, D., Pier, G.B., 1994, Transposon mutants of *Staphylococcus epidermidis* deficient in elaboration of capsular polysaccharide / adhesin and slime are avirulent in a rabbit model of endocarditis, J.Infect.Dis, 169, 1042–1049.
- Sipahi, O.R., 2009, İnterabdominal infeksiyonların Tedavisinde Piperasilin-Tazobaktamın Yeri, İnsizyon ve infeksiyon, 1, 45–50.

- Sloot, N., Thomas, M., Marre, R., Gatermann, S., 1992, Purification and characterisation of elastase from *Staphylococcus epidermidis*, J. Med. Microbiol., 37, 201–205.
- Sobel, J.D., Faro, S., et al., 1998, "Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations.", American Journal of Obstetrics & Gynecology, 178(2), 203-11.
- Soll, D.R., 2002, *Candida* commensalism and virulence: the evolution of phenotypic plasticity, Acta Tropica. 81, 101-110.
- Songur, M., ve ark., 1998, Association of slime production and different incubation conditions of coagulase – negative *staphylococci*, Turkish Journal of Infection, 12 (1), 29–33.
- Spencer, R.C., 1996, Predominant pathogens found in the European Prevalence of Infection in Intensive Care Study, Eur J Clin Microbiol Infect, 15, 281-285.
- Srikantha, T., Chandrasekhar, A., Soll. R., 1995, Functional Analysis of the Promoter of the Phage-Specific WH11 Gene of *Candida albicans*, Molecular and Cellular Biology, 15, No. 3, 1797-1805.
- Staib, P., Kretschmar, M., Nichterlein, T., Hof, H., Morschhauser, J., 2000, Differential activation of a *Candida albicans* virulence gene family during infection, PNAS, 97(11), 6102-6107.
- Stanley, PM., 1983, Factors affecting the irreversible attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel, Can. J. Microbiol, 29, 1493–99.

- Stewart, P.S., 1996, Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms, *Antimicrob. Agents Chemother*, 40, 2517–2522.
- Stickler, DJ., 1996, Bacterial Biofilms and the encrustation of urethral catheters, *Biofouling*, 94, 293–305.
- Stock I. 2003, Natural antibiotic susceptibility of *Proteus* spp., with special reference to *P. mirabilis* and *P. penneri* strains. *J Chemother*. 15(1), 12-26.
- Stoodley, P., Boyle, JD., Dodds, I., HM, Lappin-Scott., 1999, Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure, *J. Appl. Microbiol. Symp. Ser.*, 85, 195–285.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J. W., 2002, Biofilm As Complex Differentiated Communities, *Annu. Rev. Microbiol.*, 56, 187–209.
- Sutherland, I., 2001, Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework, *Microbiology*, 147, 3–9.
- Sutherland, I.W., 1995, Biofilm – specific polysaccharides – Do they exist? In: *The Life and Death of Biofilm*. Wimpenny, J., Handley, P., Gilbert, P. & Lappin – Scott, H., Eds, 103–106.
- Sutherland, IW., 2001, The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment, *Trends Microbiol.*, 9, 222 – 227.
- Tait, K., Sutherland, I. W., 2002, Antagonistic interactions amongst bacteriocin-producing enteric bacteria in dual species biofilms, *J Appl. Microbiol*, 93, 345–352.

- Teke, T., Yavuz, Z., Atalay, H., Maden, E., Solak, Y., Uzun, K., 2010, Yoğun Bakımda Kateter Nedenli İdrar Yolu Enfeksiyonlarını Önlemede Gümüş Kaplı İdrar Sondasının Etkinliği , Yoğun Bakım Derg, 2, 45-47.
- Tenenbaum, M.J., Archer, G.L., Antibiotic-Resistant *Staphylococcus epidermidis* in Patients Undergoing Cardiac Surgery, 1980, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 17(2), 269-272.
- Tenke, P., Kovacs, B., Jackel, M., Nagy, E., 2006, The role of biofilm infection in urology, World J Urol, 24 (1), 13 - 20.
- Teufel, P., Gotz, F., 1993, Characterization of an extracellular metalloprotease with elastase activity from *S. epidermidis*, J. Bacteriol., 175, 4218–4224.
- Timmerman, CP. ve ark., 1991, Characterization of a proteinaceous adhesin of *Staphylococcus epidermidis* which mediates attachment to polystyrene, Infect. Immun, 59, 4187 – 4192.
- Tolson, D.L., Barrigar, D.L., McLean, R.J., Altman, E., 1995, Expression of a non-agglutinating fimbria by *Proteus mirabilis*, Infect. Immun, 63, 1127–1129.
- Tolun, V., Torumkürey, D., Susever, S., Katracı, H., Derbentli, Ş., Anđ, M., Anđ, Ö., 2001, Metisiline dirençli (MRSA) stafilokok suşlarının faj tipleri, siderofor sentez yetenekleri, antibiyotiklere ve ağır metallere duyarlılıkları, Türk Mikrobiyol Cem Derg., 31(3-4), 143.
- Tsuchimori, N., Sharkey, L.L., Fonzi, W.A., French, S.W., Edwards, J.E., Filler, S.G., 2000, Reduced Virulence of HWP1-Deficient Mutants of *Candida albicans* and Their Interactions with Host Cells, Infection and Immunity, 68 (4), 1997-2002.

- Tuomanen, E. et al., 1986, Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria, *Antimicrob. Agents Chemother*, 30, 521–527.
- Tuomanen, E. et al., 1986, The rate of killing of *Escherichia coli* by β -lactam antibiotics is strictly proportional to the rate of bacterial growth, *J. Gen. Microbiol.*, 132, 1297–1304.
- Türetgen, A., 2006, Su şebeke sistemlerinde mikrobiyal biyofilm tabakası, *Tesisat Mühendisliği Dergisi*, 92, 29-32.
- Türkmen, L., 2002, İdrar Örneklerinden İzole Edilen Gram Negatif Bakterilerin Değişik Antibiyotiklere Duyarlılığı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9(3), 185-189.
- Van Loosdrecht, M.C.M., Lyklema, J., Norde, W., Schroa, G., Zehnder, A.J.B., 1987, Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion, *Appl Environ Microbiol*, 53, 1898–1901.
- Vazquez, J.A., Sanchez, V., Dmuchowski, C., Dembry, L.M., Sobel, J.D., Zervos, M.J., 1993, Nosocomial Acquisition of *Candida albicans*: An Epidemiologic Study *The Journal of Infectious Diseases*, 168, 195-201.
- Villari, P., Sarnataro, C., Iacuzo, L., 2000, Molecular Epidemiology of *Staphylococcus epidermidis* in a Neonatal Intensive Care Unit over a Three-Year Period, *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (5), 1740–1746.
- Vogel, L., Sloos, JH., Spaargaren, J., Suiker, I.D., 2000, Biofilm production by *Staphylococcus epidermidis* isolates associated with cateter related bacteremia, *Diagn Microbiol. Infect. Dis.*, 36, 139.

- Von Eiff, C., Peters, G., Heilmann, C., 2002, Pathogenesis of infections due to coagulase-negative *staphylococci*. *Infectious Diseases*. 2(11), 677-685.
- Voss, A., Hollis, R. J., Pfaller, M. A., Wenzel, R. P., Doebbeling, B. N., 1994, Investigation of the sequence of colonization and candidemia in nonneutropenic patients, *J. Clin. Microbiol.*, 32, 975–980.
- Vuong, C., Otto. M., 2002, *Staphylococcus epidermidis* infections, *Microbes and Infection*, 4, 481– 489.
- Walker, K.E., Moghaddame-Jafari, S., Lockett, C.V., Johnson, D., Belas, R., 1999, ZapA, the IgA-degrading metalloprotease of *Proteus mirabilis*, is a virulence factor expressed specifically in swarmer cells, *Mol. Microbiol.*, 32, 825–836.
- Wang, J., Lory, S., Ramphal, R., Jin, S., 1996, Isolation and characterization of *Pseudomonas aeruginosa* genes inducible by respiratory mucus derived from cystic fibrosis patients, *Mol. Microbiol*, 22(5), 1005–1012.
- Warren, J.W., 1991, The catheter and urinary tract infection, *Med Clin North*, 75, 481-493.
- Warren, J.W., Tenney, J.H., Hoopes, J.M., Muncie, H.L., Anthony, W.C., 1982, A prospective microbiologic study of bacteriuria in patients with chronic indwelling catheters, *J. Infect. Dis.*, 146: 719 – 723.
- Watnick, P.I., Kolter, R., 1999, Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm, *Mol. Microbiol*, 34(3): 586–95.
- Wenzel, P.R., 1997, *Prevention and Control of Nosocomial Infections*. 4th Ed.

- Whitchurch, CB., Tolker – Nielsen, T., Ragas, PC., Mattick, JS., 2002, Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation, *Science*, 295 (5559): 1487.
- Whiteley, M., Banger, M.G., Bumgarner, R.E., Parsek, M.R., Teitzel, G.M., Lory, S., Greenberg, E.P., 2001, Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms, *Nature*, 413, 860-864.
- Whittaker, L.J., Klier, C.M., 1996, Mechanisms of adhesion by oral bacteria, *Annu. Rev. Microbiol.*, 50, 513 – 552.
- Williams, P., Bainton, N. J., Swift, S., Chabra, S. R., Winson, M. K., Stewart, G. S. A. B., Salmond, G. P. C., Bycroft, B. W., 1992, Small molecule-mediated density-dependent control of gene expression in prokaryotes: Bioluminescence and the biosynthesis of carbapenem antibiotics, *FEMS Microbiol. Lett.*, 100, 161-168.
- Wimpenny, JWT., Colasanti, R., 1997, A unifying hypothesis for the structure of microbial biofilms based on cellular automaton models, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 22: 1–16.
- Wolz, C., Goerke, C., Landmann, R., Zimmerli, W., 2002, Transcription of clumping factor A in attached and unattached *Staphylococcus aureus* in vitro and during device-related, *Infect Immun*, 70, 2758-62.
- Wolz, C., Goerke, C., Landmann, R., Zimmerli, W., Fluckiger, U., 2002, Transcription of clumping factor A in attached and unattached *Staphylococcus aureus* in vitro and during device – related infection, *Infect Immun*, 70(6), 2758 – 2762.

- Wroblewska, M.M., Swoboda-Kopec, E., Rokosz, A., E. Marchel, K.H., Luczak, M., 2002, Epidemiology of clinical isolates of *Candida albicans* and their susceptibility to triazoles International Journal of Antimicrobial Agents 20, 472-475.
- Xu, L., Li, H., Vuong, C., Vadyvaloo, V., Wang, J., Yao, Y., Otto M., Gao, Q., 2006, Role of luxS Quorum – Sensing System in Biofilm Formation and Virulence of *Staphylococcus epidermidis*, Infection and Immunity, 74(1): 488 – 496.
- Yap, H.Y., Kwok, K.M., Gomersall, C.D., Fung, S.C., Lam, T.C., Leung, P.N., Hui, M., Joynt, G.M., 2009, Epidemiology and outcome of *Candida* bloodstream infection in an intensive care unit in Hong Kong, Hong Kong Med J.15: 255-261.
- Yasuha, H., Ajiki, Y., Koga, T., Yokota, T., 1994, Interaction between clarithromycin and biofilms formed by *Staphylococcus epidermidis*, Antimic Sgents Chemoter, 38, 138.
- Yorgancıgil, B., Demirci, M., Taşkın, P., Ağalar, C., Gençgönül, N., Demir, İ., Bal, Ç., 2000, Vajinal örnek ile kontrasepsiyon yöntemleri arasındaki ilişki Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi mecmuası 53 (2): 121-126.
- Zasshi, K., 2000, Epidemiological study on *Staphylococcus epidermidis* isolated from bloodstream and blood vessel catheter, 74(2): 96-103.
- Zhang, LH., 2003, Quorum quenching and proactive host defense, Trends Plant Sci, 8(5), 238 – 244.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı: Gülcan ÖZBAKIR

Doğum Yeri: ERZURUM

Doğum Yılı: 01.01.1987

Medeni Hali: Bekar

Adresi:

Ev: Elvankent Konutları (Banka Blokları) A-35 No:15,
Etimesgut / ANKARA

İş: Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji
Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı 06532 Beytepe /
ANKARA

Telefon: 0312 297 80 24

E-mail: gozbakir@hacettepe.edu.tr

Yabancı Dil:

İngilizce: KPDS 84 / TOEFL 74

Almanca: Ankara Üniversitesi TÖMER kurumunda, Orta Kur
tamamlandı.

Eğitim Durumu:

1997 - 2004: TED Ankara Koleji

Mezuniyet Derecesi: 4.52

2004 - 2008: Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Lisans Eğitimi

Mezuniyet Derecesi:	3.03
2008 – 2011:	Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bilim Uzmanlığı
İlgi Alanları:	Tıbbi Mikrobiyoloji, Biyoteknoloji, İmmünoloji, Biyofilmler
Eğitimler:	
23 – 27 Haziran 2008	TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından düzenlenen; “Temel Biyoinformatik Yöntemleri” Konulu Uygulamalı Eğitim Programı.
07 – 11 Haziran 2010	TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü tarafından düzenlenen; “Hibridoma Teknolojisi ve Antikora Dayalı Tanı Sistemlerinin Geliştirilmesi” Konulu Uygulamalı Eğitim Programı.
Ulusal Kongreler:	
27 Mart 2009	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından düzenlenen; “Doku Mühendisliği Uygulamalarında: Biyomalzeme – Doku Uyumu” Konulu Eğitim Programı
26 – 27 Haziran 2009	Türkiye Bilimler Akademisi tarafından düzenlenen “4. Kök Hücre Sempozyumu”
21 – 25 Haziran 2010	Pamukkale Üniversitesi, Biyoloji Bölümü tarafından düzenlenen Uluslararası katılımlı; “20. Ulusal Biyoloji Kongresi”

Uluslararası Kongreler:

31 Ocak-1 Şubat 2011

Paris, Pasteur Enstitüsü'nde düzenlenen "Biofilms in Nosocomial Fungal Infections"

Ulusal Bildiriler:

"İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarının Antibiyotik Dirençliliği ve Plazmid Profillerinin Belirlenerek Karşılaştırılması." 13–16 Aralık 2009 (Antalya). XVI. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi (Poster Bildirisi).

"Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen *Candida albicans* Suşlarının, Antibiyotik Dirençliliklerinin ve Biyofilm Oluşumlarının Belirlenerek Karşılaştırılması." 21–25 Haziran 2010 (Denizli). 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Poster Bildirisi).

Uluslararası Bildiriler:

"Determination of Biofilm Formation and Antifungal Resistance in *Candida albicans* and *Candida glabrata*." 31 Ocak - 01 Şubat 2011 (Paris / Fransa)
"Biofilms in Nosocomial Fungal Infections"

Uluslararası Yayınlar:

Ozbakır G., Avcioglu N.H., Bilkay Seyis, I;
Determination of Antibiotic Resistance and Plasmid DNA Profiles of *Escherichia coli* Strains Isolated from Clinical Materials. *INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY*, 2010. 12 (5); 724-728.

Projeler:

“Biyoloji Olimpiyatları Türkiye Seçmelerine Katılan Öğrencilerin Hazırlanmasına Yönelik, 2229 No’lu, 21 Haziran–3 Temmuz Tarihli Biyoloji Bilim Danışmanlığı 2. Kademe Uygulama Ağırlıklı Eğitimi. Mikrobiyoloji Eğitmeni, 2011.