



T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HASTANEDE YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN
MİKROORGANİZMALARIN BİYOFİLM FORMASYON
AKTİVİTELERİ

BİO. ABDULHAMİT ÇALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

SİVAS-2017

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HASTANEDE YATAN HASTALARDAN İZOLE
EDİLEN MİKROORGANİZMALARIN BİYOFİLM
FORMASYON AKTİVİTELERİ**

BİO. ABDULHAMİT ÇALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MİKROBİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
YRD. DOÇ. DR. CEM ÇELİK**

SİVAS-2017

“Hastanede Yatan Hastalardan İzole Edilen Mikroorganizmaların Biyofilm Formasyon Aktiviteleri” adlı yüksek lisans tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Yasemin ÖZTOP

Üye Yrd. Doç. Dr. Umut Safiye ŞAY COŞKUN

Üye (Danışman) Yrd. Doç. Dr. Cem ÇELİK

ONAY

Bu tez çalışması, 27.03.2017 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Cem ÇELİK'e, çalışmamı destekleyen Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına (CÜBAP) müteşekkirim. Çalışmalarım sırasında sabır gösterip bana katlanan aileme ve motivasyon desteği için Muhammet ÇALI'ya, çalışmalarım sırasında ümit verdiği ve destek olduğu için Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda çalışan iş arkadaşlarıma ve gerekli tüm kolaylıkları gösteren Laboratuvar Sorumlusu Prof. Dr. M. Zahir BAKICI'ya, sağladığı mükemmel çalışma ortamı ve destekleri nedeniyle Yrd. Doç. Dr. Uğur TUTAR'a, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda öğretim üyesi olan Prof. Dr. Yasemin ÖZTOP, Prof. Dr. Ömer POYRAZ ve çalışmam sırasında küçük veya büyük yardımını esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Abdulhamit ÇALI

ÖZET

HASTANEDE YATAN HASTALARDAN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALARIN BİYOFİLM FORMASYON AKTİVİTELERİ

Abdulhamit ÇALI
Yüksek Lisans Tezi
Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Cem ÇELİK
2017, 85 sayfa

Hastanede gelişen enfeksiyonlar; oluşturduğu ekonomik maliyet, morbidite ve mortalite oranlarındaki yükseklik nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur.

Antimikrobiyallere dirençli mikroorganizmaların giderek yayılması sonucunda bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır. Antimikrobiyal maddelere karşı direncin önemli nedenlerinden birisi de biyofilmlerdir. Biyofilm tabakası, içinde mikroorganizmaları barındıran korunaklı bir yapıdır. Biyofilmi oluşturan mikroorganizmalar antimikrobiyal ajanlara ve dezenfektanlara karşı planktonik şekillerine oranla 200 - 500 kat daha dirençlidir.

Bu araştırmada, yüksek ekonomik maliyet, morbidite ve mortaliteye neden olan hastane enfeksiyonlarından sıklıkla izole edilen *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*'ın biyofilm formasyon aktivitelerinin değerlendirilmesi ve antimikrobiyallere direnç durumları ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırma, tanımlayıcı araştırma özelliğindedir. Bu araştırmada kullanılan örneklem büyüklüğü güç analizi kullanılarak hesaplanmıştır. Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi'nde gerçekleştirilen araştırmanın örneklemini ($\alpha = 0,05$, $\beta = 0,10$ ve $(1 - \beta) = 0,90$ olarak alındığında) hastaların çeşitli örneklerinden izole edilen 25'er adet *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* oluşturmaktadır. İzolatların biyofilm üretim kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla mikrotitre plak yöntemi kullanılmıştır. Biyofilm formasyonları negatif kontrol değeri baz alınarak; biyofilm oluşturmayan = 0, zayıf biyofilm = I, orta dereceli biyofilm = II ve güçlü biyofilm = III olarak değerlendirilmiştir. Araştırmadan elde edilen veriler SPSS (ver 22.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde Khi-Kare testi kullanılmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* suşlarının sırası ile % 100, % 88, % 92 ve % 76 oranlarında biyofilm oluşturdukları görülmüştür ($p < 0,05$). Biyofilm oluşturan *P. aeruginosa* suşlarının siprofloksasin, gentamisin, amikasin, imipenem, meropenem, aztreonam karşı dirençlilik oranları sırası ile % 22,7, % 9,1, % 4,5, % 45,5, % 50, % 95,5 olarak bulunmuştur. Biyofilm oluşturan *A. baumannii* suşlarının siprofloksasin, gentamisin, amikasin, imipenem ve meropenem karşı dirençlilik oranları sırası ile % 92, % 88, % 84, % 92 ve % 92 olarak bulunmuştur. Biyofilm oluşturan *S. aureus* suşlarının gentamisin, metisilin, tobramisin, sefoksitin, eritromisin, klindamisin karşı dirençlilik oranları sırası ile % 8,7, % 26, % 8,7, % 8,7, % 8,7, % 8,7 olarak bulunmuştur. Biyofilm oluşturan *C. albicans* suşlarının amfoterisin B, ketokonazol, itrakonazole karşı dirençlilik oranları ise sırası ile %10,5, %5,3, %26,3 olarak bulunmuştur.

Suşların bir kısmında antimikrobiyallere karşı direnç oranlarında artışlar olabilmesine rağmen birçoğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Sonuç olarak, hastane kaynaklı *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus* ve *C. albicans* mikroorganizmalarının önemli oranlarda biyofilmler oluşturduğu görülmüştür. Biyofilm formasyon aktivitelerinin artışına bağlı olarak antibiyotik dirençliliği de kısmen artış göstermektedir. Çalışmamızda yüksek biyofilm formasyonuna sahip mikroorganizmaların bazı antimikrobiyallere karşı düşük direnç oranlarına sahip olmalarının, antimikrobiyal dirençlilik testlerinin in-vitro koşullarda mikroorganizmaların planktonik formları ile yapılması ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda elde edilen verilerin bu konuda yapılacak daha ileri çalışmalar için literatüre veri sunacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, antibiyotik direnci, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*

ABSTRACT

BIOFILM FORMATION ACTIVITIES OF ISOLATED MICROORGANISMS FROM HOSPITALIZED PATIENTS

Abdulhamit ÇALI

Thesis

Department of Microbiology

Supervisor: Assistant Prof. Dr. Cem ÇELİK,

2017, 85 pages

Hospital infections are an important health problem in our country as it is in the whole world due to its high economic cost, morbidity and mortality rates.

As a result of the spread of antimicrobial-resistant microorganisms, there are serious problems in the treatment of bacterial infections. One of the major causes of resistance to antimicrobials is biofilms. The biofilm layer is a sheltered structure containing microorganisms. Biofilm-forming microorganisms are 200 - 500 times more resistant to antimicrobial agents and disinfectants than their planktonic forms.

In this study, it was aimed to evaluate the biofilm formation activities of *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* microorganisms which are frequently isolated from hospital infections causing high economic cost, morbidity and mortality as well as to investigate the relationship with resistance status to antimicrobials.

Research is descriptive research. The sample size used in this study was calculated using power analysis. The sample of the study consisted of 25 *A. baumannii*, 25 *P. aeruginosa*, 25 *S. aureus* and 25 *C. albicans* isolated from various samples of the patients in Cumhuriyet University Research and Practice Hospital ($\alpha = 0,05$, $\beta = 0,10$ and $(1 - \beta) = 0,90$). Microtiter plate method was used to determine biofilm production capacities of isolates. Biofilm formations were evaluated based on negative control value how non-biofilm = 0, weak biofilm = I, moderate biofilm = II and strong biofilm = III. The data obtained from the study were uploaded to the SPSS (ver. 22.0) program and the Chi-square test was used in the evaluation of the data and the level of error was taken as 0,05.

According to the results obtained, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *C. albicans* isolates were found to produce biofilms 100 %, 88 %, 92 % and 76 % respectively ($p < 0,05$). Resistance rates to ciprofloxacin, gentamycin, amikacin, imipenem, meropenem and aztreonam of biofilm-forming *P. aeruginosa*

isolates to were found to be 22.7 %, 9.1 %, 4.5 %, 45.5 %, 50 %, 95.5 % respectively. Resistance rates to Ciprofloxacin, gentamycin, amikacin, imipenem, meropenem of biofilm-forming *A. baumannii* isolates to were found to be 92 %, 88 %, 84 %, 92 %, 92 % respectively. Resistance rates to gentamycin, methicillin, tobramycin, cefoxitin, erythromycin, clindamycin of biofilm-forming *S. aureus* isolates to were found to be 8.7 %, 26 %, 8.7 %, 8.7 %, 8.7 %, 8.7 % respectively. Resistance rates to amphotericin B, ketoconazole, itraconazole of biofilm-forming *C. albicans* isolates to were found to be 10,5 %, 5,3 %, 26,3 % respectively.

Although a majority of the isolates may have increased relative resistance to antimicrobials, most of them are not statistically significant ($p > 0,05$).

As a result, hospital-borne *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus* and *C. albicans* microorganisms were found to form biofilms at significant proportions. Antibiotic resistance also increases partially due to increased biofilm formation activities. In our study, we think that microorganisms, which have high biofilm formation, have low resistant rate against some antimicrobials is related to making antimicrobial resistant tests with microorganisms' planktonic forms in-vitro conditions. We think that the data obtained in our study will provide literature data for further studies in this regard.

Key words: Biofilm, antibiotic resistance, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa No</u> |
|--|-----------------|
| İÇ KAPAK | i |
| ONAY | ii |
| YÖNERGE | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| ÖZET | v |
| ABSTRACT | vii |
| İÇİNDEKİLER DİZİNİ | ix |
| TABLolar DİZİNİ | xiii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xv |
| KISALTMALAR DİZİNİ | xvi |
| | |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Problemin Tanımı ve Önemi..... | 1 |
| 1.2. Araştırmanın Amacı..... | 3 |
| | |
| 2. GENEL BİLGİLER | 4 |
| 2.1. Hastanede Gelişen Enfeksiyonlar..... | 4 |
| 2.2. Hastanede Gelişen Enfeksiyonların Antimikrobiyaller ile Tedavisinde Karşılaşılan Direnç Sorunu | 4 |
| 2.3. Mikroorganizmaların Oluşturduğu Biyofilmlerin Antibiyotiklerle Etkileşimi..... | 5 |
| 2.3.1. Biyofilmin Bariyer Oluşturulması ve Biyofilm İçine Düşük Penetrasyon..... | 6 |
| 2.3.2. Biyofilm Nedeni ile Mikroorganizmaların Çoğalma Oranlarının Değişmesi..... | 7 |
| 2.3.3. Mikroçevrenin Antimikrobiyal Dirence Etkisi..... | 7 |
| 2.3.4. Biyofilme Özgül Dirençli Fenotip Oluşumu..... | 8 |
| 2.4. Biyofilmin Tarihçesi ve Tanımı..... | 8 |
| 2.5. Biyofilm | 9 |
| 2.6. Biyofilmin Yapısı | 10 |

| | |
|---|----|
| 2.7. Biyofilm Oluşumu | 12 |
| 2.7.1. Biyofilm Oluşumunu Etkileyen Faktörler..... | 12 |
| 2.7.2. Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma | |
| Nedenleri..... | 12 |
| 2.7.2.1. Savunma | 12 |
| 2.7.2.2. Yaşanabilir Çevre Oluşturma..... | 12 |
| 2.7.2.3. Adezyon | 13 |
| 2.7.2.4. Topluluk Oluşturmak | 13 |
| 2.7.3. Biyofilm Oluşum Basamakları | 14 |
| 2.7.3.1. Mikroorganizmaların Yüze Dönüşümlü | |
| Tutunması..... | 14 |
| 2.7.3.2. Yüze Dönüşümsüz Tutunma..... | 15 |
| 2.7.3.3. Koloni Oluşumu..... | 16 |
| 2.7.3.4. Mikroorganizmaların Biyofilm İçinde | |
| Olgunlaşması | 16 |
| 2.7.3.5. Planktonik Hücrelerin Biyofilmden | |
| Kopması..... | 17 |
| 2.8. Biyofilm Oluşumunda Mikroorganizmalar Arası | |
| Haberleşme “Quorum Sensing”..... | 17 |
| 2.9. Biyofilm Oluşturan Mikroorganizmaların Neden Olduğu | |
| Enfeksiyonlar..... | 19 |
| 2.10. Biyofilm Oluşturabilen Bazı Mikroorganizmalar | 21 |
| 2.10.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> | 21 |
| 2.10.1.1. <i>A. baumannii</i> 'nin Mikrobiyolojik | |
| Özellikleri..... | 21 |
| 2.10.1.2. <i>A. baumannii</i> 'nin Patogenez ve Virulans | |
| Faktörleri..... | 22 |
| 2.10.1.3. <i>A. baumannii</i> 'nin Neden Olduğu | |
| Enfeksiyonlar..... | 23 |
| 2.10.1.4. <i>A. baumannii</i> 'nin Antimikrobiyalere | |
| Direnc Mekanizmaları..... | 23 |
| 2.10.1.5. <i>A. baumannii</i> 'nin Biyofilm Oluşturma | |
| Özellikleri..... | 24 |

| | |
|---|----|
| 2.10.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 25 |
| 2.10.2.1. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Mikrobiyolojik Özellikleri..... | 25 |
| 2.10.2.2. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Patogenez ve Virulans Faktörleri..... | 26 |
| 2.10.2.3. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Neden Olduğu Enfeksiyonlar..... | 27 |
| 2.10.2.4. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Antimikrobiyallere Direnç Mekanizmaları..... | 27 |
| 2.10.2.5. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Biyofilm Oluşturma Özellikleri..... | 27 |
| 2.10.3. <i>Staphylococcus aureus</i> | 28 |
| 2.10.3.1. <i>S. aureus</i> 'un Mikrobiyolojik Özellikleri..... | 28 |
| 2.10.3.2. <i>S. aureus</i> 'un Patogenez ve Virulans Faktörleri..... | 29 |
| 2.10.3.3. <i>S. aureus</i> 'un Neden Olduğu Enfeksiyonlar..... | 30 |
| 2.10.3.4. <i>S. aureus</i> 'un Antimikrobiyallere Direnç Mekanizmaları..... | 31 |
| 2.10.3.5. <i>S. aureus</i> 'nun Biyofilm Oluşturma Özellikleri..... | 31 |
| 2.10.4. <i>Candida albicans</i> | 31 |
| 2.10.4.1. <i>C. albicans</i> 'ın Mikrobiyolojik Özellikleri..... | 32 |
| 2.10.4.2. <i>C. albicans</i> 'ın Patogenez ve Virulans Faktörleri..... | 33 |
| 2.10.4.3. <i>C. albicans</i> 'ın Neden Olduğu Enfeksiyonlar..... | 34 |
| 2.10.4.4. <i>C. albicans</i> 'ın Antimikrobiyallere Direnç Mekanizmaları..... | 35 |
| 2.10.4.5. <i>C. albicans</i> 'ın Biyofilm Oluşturma Özellikleri..... | 35 |

| | |
|---|----|
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 36 |
| 3.1. Araştırmanın Tipi..... | 36 |
| 3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri..... | 36 |
| 3.3. Araştırmanın Evreni..... | 37 |
| 3.4. Araştırmanın Örnekleme..... | 37 |
| 3.5. Bağımlı ve Bağımsız Değişkenler..... | 37 |
| 3.6. Verilerin Toplanması..... | 38 |
| 3.7. Verilerin Değerlendirilmesi..... | 44 |
| 3.8. Araştırmanın Etik Yönü..... | 44 |
| 4. BULGULAR | 45 |
| 5. TARTIŞMA | 58 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 67 |
| 6.1. Sonuçlar..... | 67 |
| 6.2. Öneriler..... | 68 |
| 7. KAYNAKLAR | 70 |
| ÖZGEÇMİŞ | 85 |

TABLolar/ŞEKİLLER DİZİNİ

| | <u>Sayfa No</u> |
|---|------------------------|
| Tablo 1. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ve neden oldukları enfeksiyonlar..... | 20 |
| Tablo 2. Acinetobacter cinsinin sınıflandırılması..... | 21 |
| Tablo 3. Pseudomonas cinsinin sınıflandırılması..... | 25 |
| Tablo 4. Staphylococcus cinsinin sınıflandırılması..... | 28 |
| Tablo 5. <i>S. aureus</i> 'un neden olduğu enfeksiyonlar..... | 31 |
| Tablo 6. Candida cinsinin sınıflandırılması..... | 32 |
| Tablo 7. Kanlı agar besiyeri içeriği..... | 38 |
| Tablo 8. Eosin Metilen Blue (EMB) agar besiyeri içeriği..... | 39 |
| Tablo 9. Sabouraud Dekstroz Agar besiyerinin içeriği..... | 39 |
| Tablo 10. Triptik Soya Buyyon besiyerinin içeriği..... | 40 |
| Tablo 11. Fosfat Tamponunun içeriği..... | 40 |
| Tablo 12. Kristal Viyole boya çözeltisinin içeriği..... | 40 |
| Tablo 13. Mikroorganizmaların biyofilm formasyonları için değerlendirme ölçeği..... | 43 |
| Tablo 14. Hastane enfeksiyonlarına sıklıkla neden olan bazı mikroorganizmaların biyofilm oluşturabilme oranları | 45 |
| Tablo 15. <i>P. aeruginosa</i> suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri..... | 46 |
| Tablo 16. <i>A. baumannii</i> suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri..... | 48 |
| Tablo 17. <i>S. aureus</i> suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri.. | 50 |
| Tablo 18. <i>C. albicans</i> suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri..... | 52 |
| Tablo 19. <i>P. aeruginosa</i> suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]..... | 54 |
| Tablo 20. <i>A. baumannii</i> suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]..... | 55 |

| | | |
|-----------|---|----|
| Tablo 21. | <i>S. aureus</i> suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]..... | 56 |
| Tablo 22. | <i>C. albicans</i> suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]..... | 57 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

| | | <u>Sayfa No</u> |
|-----------|--|-----------------|
| Şekil 1. | Biyofilm yapısı..... | 11 |
| Şekil 2. | Biyofilm Oluşum Basamakları..... | 14 |
| Şekil 3. | Biyofilmdeki mikroorganizmaların sinyal molekülleri ile iletişimi..... | 19 |
| Şekil 4. | <i>A. baumannii</i> 'nin (a) kanlı agar besiyerindeki koloni morfolojisi ve (b) Gram boyama yöntemindeki görünümü..... | 22 |
| Şekil 5. | <i>P. aeruginosa</i> 'nın (a) Gram boyama yöntemindeki görünümü, (b) kanlı agardaki koloni yapısı..... | 26 |
| Şekil 6. | <i>S. aureus</i> 'un (a) Gram boyama yöntemindeki mikroskopi görünümü, (b) <i>S. aureus</i> 'un kanlı agardaki koloni morfolojisi..... | 29 |
| Şekil 7. | <i>C. albicans</i> 'ın (a) Sabouraud dekstroz agar besiyerindeki koloni morfolojisi ve (b) Gram boyama yöntemindeki görünümü..... | 33 |
| Şekil 8. | Mikroorganizma süspansiyonları eklenmiş 96 kuyucuklu steril U tabanlı polistren mikroplak..... | 41 |
| Şekil 9. | 37 °C'de bir gece inkübe edilen mikroplak..... | 42 |
| Şekil 10. | %0,1'lik Kristal viyole eklenmiş mikroplak..... | 42 |
| Şekil 11. | PBS ile yıkanan mikroplak..... | 43 |
| Şekil 12. | <i>P. aeruginosa</i> suşlarının biyofilm-OD grafiği..... | 47 |
| Şekil 13. | <i>P. aeruginosa</i> suşlarının biyofilm dereceleri grafiği... | 47 |
| Şekil 14. | <i>A. baumannii</i> suşlarının biyofilm-OD grafiği..... | 49 |
| Şekil 15. | <i>A. baumannii</i> suşlarının biyofilm dereceleri grafiği... | 49 |
| Şekil 16. | <i>S. aureus</i> suşlarının biyofilm-OD grafiği..... | 51 |
| Şekil 17. | <i>S. aureus</i> suşlarının biyofilm dereceleri grafiği..... | 51 |
| Şekil 18. | <i>C. albicans</i> suşlarının biyofilm-OD grafiği..... | 53 |
| Şekil 19. | <i>C. albicans</i> suşlarının biyofilm dereceleri grafiği..... | 53 |

KISALTMALAR/SİMGELER

| | |
|------------------|---|
| ABD | Amerika Birleşik Devletleri |
| Ca | Kalsiyum |
| CLSI | Clinical Laboratory Standards Institute |
| EPIC | Europe Prevalance Infection Committe |
| EPM | Ekstrasellüler Polimerik Matriks |
| DNA | Deoksiribo Nükleik Asit |
| DNaz | Deoksiribo Nükleaz |
| IgA | Immunoglobulin A |
| IgG | Immunoglobulin G |
| IgM | Immunoglobulin M |
| KNS | Koagülaz Negatif Stafilokok |
| MALDI-TOF | Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight |
| MİK | Minimum İnhibitör Konsantrasyonu |
| OD | Optik Dansite |
| PBS | Phosphate-Buffer Saline |
| PBP | Penisilin Bağlayan Protein |
| pH | Power of Hydrogen |
| RNA | Ribonükleik Asit |
| SDA | Sabouraud Dekstroz Agar |
| TSB | Triptik Soya Buyyonu |
| YBÜ | Yoğun Bakım Ünitesi |
| °C | Santigrat derece |

1. GİRİŞ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Hastane ortamında gelişen enfeksiyonlar, toplum kaynaklı enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında önemli oranda morbidite ve mortalite oranlarına sahiptir. Bir hastane ya da klinikteki hastane enfeksiyonlarının oranı hasta bakımı ile ilgili en önemli belirteçlerdendir [1].

Mikroorganizmalarda antibiyotiklere direnç gelişmesi ile antibiyotik kullanımı arasında doğrudan bir ilişki vardır. Hastanelerin, mikroorganizmalarda antibiyotik direncinin ortaya çıkması ve yayılması için en uygun ortamlar olmasının başlıca nedeni antibiyotik kullanımının çok fazla olmasıdır. Hastane enfeksiyonlarından izole edilen etkenlerdeki antibiyotiklere direnç oranı, hastane dışı enfeksiyonlardan izole edilen etkenlere göre daha yüksektir [2]. Bu fark özellikle antibiyotik kullanımının yaygın olduğu yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) çok daha belirgindir [3]. Akılcı olmayan ilaç kullanımı da antibiyotiklere direnç gelişiminin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Yanlış şekilde ilaç kullanımı; ilaç yan etkisinde artışa, etkisiz tedaviye ve antibiyotiklere direnç gelişimine neden olur [4].

Antibiyotiklere karşı direnç oluşmasının önemli bir nedeni de mikroorganizmaların biyofilm oluşturmasıdır. Biyofilm, cansız veya canlı bir yüzeye yapışan kendi ürettikleri ekstraselüler polimerik matriks (EPM) içinde hareketsiz halde bulunan ve bir katı yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluktur [5]. Biyofilmler, özellikle çevresel ve kimyasal strese karşı oluşturmuş olduğu hücre dışı EPM ile koruma, hayatta kalma ve direnç sağlar [6]. Biyofilm içerisinde bulunan mikroorganizmaların planktonik formlarına göre antibiyotiklere 200 - 500 kat daha dirençli oldukları bilinmektedir [7, 8]. Biyofilm içerisindeki mikroorganizmaların yüksek direncini açıklamak için çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar; biyofilm yapısına antimikrobiyal maddelerin sınırlı nüfuz etmesi, besin ve oksijen sınırlaması nedeniyle yavaş büyüme, genel stres yanıtına katılan genlerin ekspresyonu ve biyofilmin kendine özgü mimarisinin ortaya çıkmasıdır [9].

Mikrobiyal direncin oluşmasında biyofilm yapısının içindeki oksijen miktarı etkilidir. Biyofilmin üst kısımlarında oksijenin tüketilmesine rağmen alt katmanlarda anaerobik bir çevre olduğu bilinmektedir. Bu sebeple bazı antimikrobiallerin etkinliği azalır ve antimikrobiyal direnç gelişebilmektedir. Bunun yanı sıra, biyofilm içinde mikroorganizmaların oluşturduğu asidik atık maddeler ortamın pH'ını değiştirir ve bunun sonucunda bazı antimikrobialler üzerine antagonistik etki gösterir. Ayrıca biyofilm içinde mikroorganizmalar arasında antimikrobiyal direnç genlerinin aktarımının kolay olması nedeniyle mikroorganizmalar antimikrobiallere direnç kazanır [5]. Çoğu biyofilm çalışmalarında bu faktörlerin kombinasyonu artırılmasına rağmen tam olarak antibiyotiklere biyofilm direnç mekanizmalarını anlamak zordur [9].

Biyofilm tıbbi önemi açısından incelendiğinde bakteri virulansından, enfeksiyonun tedaviye yanıtınsızlığına kadar geniş bir yelpazede rolü olduğu görülmektedir. Biyofilmin tıbbi açıdan önemli olmasının nedenlerinden ilki bakteri aderansıdır. İkinci olarak antibiyotik direnci; mikroorganizmanın biyofilm oluşturarak yüzeye yapışmış formu (sesil) ile süspansiyon formu (planktonik) arasında antibiyotik duyarlılık farkının olduğu gösterilmiştir. Üçüncü olarak da inflamasyona etkisidir. Enfekte biyomedikal implantlarda, konak tarafından immün yanıtların indüklenmesinde, biyofilm önemli rol oynamaktadır [10].

Önemli hastane enfeksiyonu etkenlerinden biri olan *Acinetobacter baumannii* özellikle YBÜ'de ve immün sistemi baskılanmış hastalarda olmak üzere ciddi hastane enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. *A.baumannii* türleri pnömoni, endokardit, menenjit, septisemi, cilt, yara ve üriner sistem enfeksiyonlarına neden olmaktadır. *A.baumannii* türlerinin antimikrobiallere yüksek oranda direnç geliştirebilmelerinin yanı sıra, hastane ortamında uzun süre canlı kalabildikleri için hastaları kolaylıkla kolonize edebilmektedir. Ayrıca hastane personeli, medikal cihazlar ve ekipmanlar aracılığıyla diğer hastalara yayılarak epidemilere neden olabilmektedirler [11, 12].

A.baumannii'nin yanı sıra çoklu antibiyotik direnci gösteren nonfermenter Gram-negatif bakterilerden biri de *Pseudomonas aeruginosa*'dır. *P.aeruginosa* doğada yaygın olarak bulunması, minimal üreme koşullarında bile

üreyebilmesi, değişik virulans faktörlerinin bulunması ve geliştirdiği direnç mekanizmaları ile oldukça önemli bir bakteridir. YBÜ, yanık üniteleri veya yaygın olarak antibiyotik kullanılan birimlerde yatarak tedavi olan hastalardan izole edilebilirler [13].

Ortam koşullarına oldukça dayanıklı olan ve çevresel kaynaklarda yaygın olarak bulunan bir mikroorganizma olan *Staphylococcus aureus* genel enfeksiyonlara (Fronkült, follikült, impetigo, Ritter hastalığı, sepsis, tonsilit, pnömoni, endokardit, otitis media, menenjit vb.), osteomyelit gibi rahatsızlıklara ve ameliyat sonrası yara enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Özellikle bu bakterilerin patojenite özellikleri, biyofilm tabakası ile kombine olduğunda, fagositoza karşı direnç sağlamasından dolayı virulansı oldukça yükselmektedir. Bu nedenle öncelikli patojenler arasında yer almaktadır [5].

Günümüzde, *Candida* cinsi patojenik mantarlar çok ciddi sistemik hastalık nedenleri arasında görülmektedir. *Candida* enfeksiyonları artan sayıda invaziv prosedüre, implante biyomateryallere, solid organ ve kemik iliği transplantasyonuna, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ile normal bakteriyel floranın baskılanmasına ve immün sistemi baskılanmış hasta sayılarındaki artışa bağlı olarak gelişmektedir. Hastane kaynaklı kan akımı enfeksiyonlarında *Candida albicans* en çok karşılaşılan etkenlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Birçok *Candida* türü biyofilm yapısını oluşturabilmektedir. Biyofilm yapısı *Candida* patogenezinde major virulans faktördür [14].

1.2. Araştırmanın Amacı

Çalışmamızda, yüksek mortalite ve morbiditeye neden olabilen, sıklıkla hastane enfeksiyonlarından izole edilen *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans*'ın biyofilm formasyon aktivitelerinin gösterilmesi ve oluşan biyofilm formasyon aktivitelerinin mikroorganizmaların antimikrobiyallere direnç durumları ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Yaptığımız çalışmanın mikroorganizmaların biyofilm oluşturma mekanizmalarının anlaşılması, biyofilmlerin önlenmesi, biyofilmler ve antimikrobiyallere direnç konularında yapılacak daha ileri çalışmalar için literatüre veri sunacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hastanede Gelişen Enfeksiyonlar

Nozokomiyal terimi Latince nosos (hastalık) ve komein (bakım) kelimelerinden oluşmaktadır. Hastane enfeksiyonları ile aynı anlama gelmektedir. Hastane enfeksiyonları, hastanın hastaneye başvurduğu anda veya hastaneye yattığında henüz inkübasyon döneminde olmayan, sonradan gelişen, hatta bazen hasta taburcu olduktan sonra ortaya çıkan enfeksiyonlar olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir ifadeyle hastane enfeksiyonları hastaneden alınan mikroorganizmalar ile gelişen enfeksiyonlardır [15].

Hastane enfeksiyonları, morbidite, mortalite ve tedavi maliyetlerini arttırmalarından dolayı önemini ve güncelliğini korumaya devam eden sağlık sorunlarıdır [16].

YBÜ'de tedavi edilen hastalar, sıklıkla invaziv girişimlerin uygulanması, genel durum bozukluğu nedeni ile diğer hastalara göre hastanede kalış süreleri daha uzun olması ve sıklıkla geniş spektrumlu antibiyotik uygulanmasından dolayı dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlara daha yatkındırlar [17].

2.2. Hastanede Gelişen Enfeksiyonların Antimikrobiyaller ile Tedavisinde Karşılaşılan Direnç Sorunu

Hastane enfeksiyonlarından sorumlu mikroorganizmaların sıklığı ve dağılımı ülkelere, sağlık kuruluşlarına ve kliniklere göre farklılıklar gösterebilmektedir [18]. Özellikle hastanelerde nozokomiyal enfeksiyonların en sık görüldüğü klinikler arasında YBÜ yer almaktadır. YBÜ'de yatan hastaların sadece % 5 - 10'u tedavi görmesine rağmen, tüm nozokomiyal enfeksiyonların yaklaşık % 20 - 25'i bu ünitelerde gelişmektedir [19]. Bu ünitelerde yatan hastalarda diğer kliniklere göre 5 - 10 kat daha fazla hastane enfeksiyonu görülmektedir. Bu enfeksiyonların önemli bir bölümünü pnömoniler ve kan dolaşımı enfeksiyonları oluşturmaktadır [20]. YBÜ'de görülen hastane enfeksiyonlarının % 53,6'sının ölümlerle sonuçlanması dikkate alındığında, bu enfeksiyonların önlenmesinin daha da önemli olduğu anlaşılmaktadır [21].

Son yirmi yılda YBÜ'deki etken mikroorganizmalar ve bu etken mikroorganizmaların duyarlılık durumlarında önemli değişimler olduğu görülmüştür [22]. Bu durumun en önemli nedeni, YBÜ'de gelişen enfeksiyonların önlenmesi için değişik antimikrobiyallerin kullanımı sonrasında mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç kazanmasına yol açmasıdır [23]. 1960'lı yıllarda, Gram-negatif basiller YBÜ'de en önemli patojenler olarak bildirilirken, geniş spektrumlu sefalosporinler, florokinolonlar ile karbapenem türevlerinin kullanılması ve hastalara uygulanan girişimlerin artması gibi nedenlerle, bunun Gram-pozitif mikroorganizmalara doğru değiştiği gözlenmiştir. EPIC (Europe Prevalance Infection Committe) çalışmasında, YBÜ'de gelişen enfeksiyonların Gram-pozitif ve negatif etkenlerin eşit sıklıkta izole edildikleri bildirilmiştir [22].

Antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde en sık gözlenen direnç mekanizmalarından bazıları da plazmid/transpozon transferleri, kromozomal mutasyonlar ve türler arasında gerçekleşen genetik transferlerdir. Özellikle yoğun antibiyotik kullanımına bağlı olarak duyarlı suşların ortadan kalkması ve dirençli suşların seçilime uğraması direnç gelişiminin ana mekanizmasını oluşturmaktadır. Antimikrobiyal direncin gelişmesi kullanım süresi ve miktarı ile doğru orantılıdır [24].

2.3. Mikroorganizmaların Oluşturduğu Biyofilmlerin Antimikrobiyallerle Etkileşimi

Antimikrobiyallere karşı oluşan direncin önemli bir nedeni de bakterilerin biyofilm oluşturmalarıdır. Biyofilmler özellikle çevresel ve kimyasal strese karşı oluşturduğu hücre dışı EPM ile koruma, hayatta kalma ve direnç gösterir [6]. Mikroorganizmaların sesil formu ile planktonik formu arasında, antimikrobiyal duyarlılık farkının olduğu gösterilmiştir [25]. Sesil formdaki mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnci, planktonik formlarına göre 200 - 500 kat daha fazla olduğu bilinmektedir [7]. Biyofilm içindeki mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı direncinden atım pompaları ve ilaç hedefinde meydana gelen mutasyonlar ya da enzimatik inaktivasyon gibi bilinen direnç mekanizmalarının sorumlu olduğu gözlenmektedir [26]. Çünkü

antimikrobiyallere direnci olmayan bir mikroorganizma biyofilm oluşturunca dirençli duruma, tekrar biyofilm yapısından ayrıldığında ise yine duyarlı duruma geçebilmektedir [5].

Biyofilm içindeki mikroorganizmaların yüksek direncini açıklamak için çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bunlar:

1. Biyofilm yapısına antimikrobiyal maddelerin sınırlı nüfuz etmesi,
2. Besin ve oksijen sınırlaması nedeniyle yavaş üreme hızı,
3. Genel stres yanıtına katılan genlerin ekspresyonu,
4. Biyofilm özgü mimarisinin ortaya çıkması,
5. Biyofilm oluşumu ile birlikte bakteride meydana gelen fenotip değişikliği

olarak açıklanmaktadır [9, 27]. Çoğu biyofilm çalışmalarında bu faktörlerin kombinasyonu artırılmasına rağmen tam olarak antimikrobiyallere biyofilm direnç mekanizmalarını anlamak zordur [9]. Ancak sesil mikroorganizmaların antimikrobiyal maddelere direncinin mekanizmalarından dört tanesi şunlardır:

2.3.1. Biyofilmin Bariyer Oluşturması ve Biyofilm İçine Düşük Penetrasyon

Bu mekanizma ile planktonik formdaki mikroorganizmaların, sesil formdaki mikroorganizmalarla kıyaslandığında çeşitli antimikrobiyallere duyarlılığın daha fazla olduğunun bulunduğu çalışmalar biyofilmin bariyer fonksiyonunu destekleyen en önemli bulgulardandır. Bu mekanizmanın, çeşitli antimikrobiyal maddelerin biyofilm yapısı ile geçişinin engellenmesinde görev aldığı görülmüştür [28]. Biyofilmin fiziksel bir bariyer olarak antimikrobiyallerin mikroorganizmalara ulaşmasını engellemesi, sıklıkla antimikrobiyallerin biyofilm bileşenlerine bağlanması sonucunda oluşmaktadır [29].

Antimikrobiyallerin enzimatik inaktivasyonu nedeni ile oluşan dirençte biyofilm içine düşük penetrasyonun daha belirgin hale geldiği görülmektedir. Örneğin, kistik fibrozis hastalarının solunum yollarında oluşan biyofilm tabakası içerisinde sıklıkla yüksek düzeyde beta-laktamaz enzimi olduğu gözlenmiştir. EPM'den nüfuz eden beta-laktam antibiyotiklerin bu enzimler ile hidrolize olması sonucunda nüfuz eden ilacın miktarı azalmaktadır ve bu durum enfeksiyonun ortadan kaldırılmasını zorlaştırmaktadır [26].

2.3.2. Biyofilm Nedeni ile Mikroorganizmaların oğalma Oranlarının Değişmesi

Mikroorganizmaların oğalma oranlarındaki değişiklikler antimikrobiyallere karşı oluşan cevaplarını da değiştirmektedir. Sesil mikroorganizmaların büyüme hızlarının, planktonik mikroorganizmalardan önemli derecede düşük olduğu yapılan çalışmalar sonucu tespit edilmiştir. Örneğin durağan fazdaki Gram-negatif bakterilere sadece florokinolonların aktif olabilirken, beslenmesi azaltılarak çoğalma hızları düşürülen *S. aureus*'lara hiçbir antibiyotiğin yeteri kadar etkili olamadığı gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalar sonucunda *S. aureus* biyofilminin oluşum süresi ile antibiyotik direncinde artış olduğu gösterilmiştir. Tüm bu bulgular, biyofilmin antimikrobiyallere direnç gelişimini sağladığının en önemli göstergesidir [28].

2.3.3. Mikrovrenin Antimikrobiyal Dirence Etkisi

Biyofilmi oluşturan mikroorganizmaların besin konsantrasyonuna göre biyofilmdeki yoğunluğu değişiklik göstermektedir. Biyofilmin en dış kısımlarında bulunan mikroorganizmalar besin maddelerine derinlerdeki bakterilere göre daha kolay ulaşabilmektedir. Bu durum biyofilm içinde mikroorganizmaların heterojenliğine neden olmaktadır. Biyofilm içindeki bu heterojenliğin antibiyotik duyarlılığında farklılıklara yol açabileceğini göstermektedir [29].

Antimikrobiyal direncin oluşmasında biyofilm içerisindeki oksijen yoğunluğunun önemli bir yeri vardır [5]. Oksijenin biyofilmin st kısımlarında tktilmesi ve biyofilmin alt kısımlarında anaerobik ortamın oluşması biyofilm içinde oksijen yoğunluğunun farklı olmasına neden olur. Bu durum antimikrobiyal direnci etkileyen diğer bir faktördür. Bu nedenle aminoglikozidler gibi bazı antibiyotiklerin etkinliği azalmaktadır. Ayrıca biyofilmde bu antimikrobiyallere karşı direnç gelişebilmektedir [30].

Biyofilm içerisinde mikroorganizma metabolizması sonucu asidik atık maddeler oluşmaktadır. Bu durum pH'da değişimlerin olmasına neden olur. Bu değişim bazı antimikrobiyallerin üzerine antagonistik etki göstermektedir.

Biyofilm içindeki mikroorganizmaların antimikrobiallere dirençli hâle gelmesinde, mikroorganizmalar arasında antimikrobiyal direnç genlerinin aktarımının kolay olması etkilidir. Ayrıca pCO_2 iki değerli katyonik konsantrasyonun hidrasyon seviyesi, pirimidin konsantrasyonu gibi mikroçevre değişkenlerinin de biyofilm oluşumu üzerine etkili oldukları bilinmektedir [5, 28].

2.3.4. Biyofilme Özgül Dirençli Fenotip Oluşumu

Mikroorganizmalar bir yüzeye tutunduktan sonra çeşitli fizyolojik, metabolik, genotipik ve fenotipik değişikliklere uğramaktadır. Biyofilmin yapısında bulunan mikroorganizmaların büyük bir bölümünün antimikrobiallerin etkisi ile yok olduğunun küçük bir bölümünün ise canlılığını sürdürdüğü bilinmektedir. Bu fenotipik varyantların yüksek konsantrasyonda antimikrobiallere dirençli olduğu açıklanmaktadır. Dirençli bu fenotipik varyantlar dirençli biyofilmlerin oluşumunu sağlamaktadır [31].

Biyofilmler sadece antimikrobiyal maddelere karşı değil, dezenfektanlara karşı da direnç gelişimine neden olmaktadır. Sesil mikroorganizmalar, planktonik mikroorganizmalara göre dezenfektanlara 10 - 100 kat daha dirençlidir. Oluşan bu direncin nedenleri arasında glikokaliks yapısı, hücre dışı enzimler, dezenfektanların mikroorganizmalara ulaşmasında zorluk gibi çeşitli faktörlerin olduğu düşünülmektedir. Mikroorganizmalar biyofilm yapısından ayrılıp sıvı kültür ortamlarında serbestçe üretilirse, dezenfektanlara karşı tekrar duyarlı hale gelirler [32].

2.4. Biyofilmin Tarihçesi ve Tanımı

Biyofilm, geçmişten günümüze kadar birçok bilim insanı tarafından farklı şekillerde tanımlanmıştır. İlk olarak 17. yüzyılda Antonie van Leewenhoek, dışından almış olduğu örnekte plaklar içinde yaşayan mikroorganizmaların varlığından bahsetmiştir [33]. Bundan 250 yıl sonra, Claude E. ZoBell tarafından yapılan çalışmalarda cam slaytların yüzeylerine tutunan bazı deniz mikroorganizmalarının oluşturduğu mikrokoloniler gözlemlenmiştir [34]. 1970'li yılların başlarına gelindiğinde ise Characklis yapmış olduğu

çalışmalarda, endüstriyel su sistemlerindeki mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilmlerin klor gibi dezenfektanlara bile dirençli olabileceklerini gün yüzüne çıkarmıştır [35]. 1977 yılında ise Costerton ve arkadaşları yaptıkları çalışmalar ile daha ayrıntılı bir biyofilm tanımı yapabilmışlerdir [33]. Elder ve arkadaşları 1995 yılında biyofilmi, mikroorganizmaların yapısal birliği şeklinde tanımlamışlardır [36]. Daha sonra Costerton ve Donlan 2002 yılında yeni bir biyofilm tanımı yapmışlardır. Buna göre, mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, bir yüzeye, ara yüzeylere, birbirlerine ya da bir substrata geri dönüşümlü olarak tutunmuş ve farklı mikrobiyal gelişme fizyolojileri ile gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotip sergileyen yapıların, içinde gömülü olarak buldukları EPM biyofilm olarak tanımlanmıştır [37].

2.5. Biyofilm

Biyofilm tabakasına su ile temas halindeki tüm yüzeylerde karşımıza çıkabilir. Örneğin; su depolama, dağıtım ve arıtma tesislerinde, su iletim borularında ve diş ünitlerinde karşılaşılabilir. Böyle ortamlarda biyofilm tabakası, mikroorganizmaları kuraklıktan, besinsizlikten, pH değişikliklerinden, dezenfektanlardan, ve toksinlerden korur. Biyofilm bu cansız yüzeylerde oluşabildiği gibi canlı organizmalarda da çeşitli koşullarda, çeşitli dokularda oluşmaktadır. Biyofilmler özellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda ve kalıcı tıbbi araç veya kateteri olan hastalarda önemli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. İnsan vücudunda kateterler, kontakt lens, kalp pilleri, protez kalp kapakçıkları, rahim içi araç, akciğer dokusu gibi canlı ve cansız birçok yüzeyde biyofilm oluşabilir [38].

Biyofilm yapısı içindeki mikroorganizmalar belirli bir yapısal bütünlük içerisinde toplu halde yaşarlar ve birbirleriyle kendilerine özđu haberleşme yöntemlerini kullanarak varlıklarının devamı için gerekli işlevleri yerine getirirler. Bu tanım çok önemlidir. Çünkü herhangi bir yüzeyde koloniler halinde tutunarak yaşayan bazı mikroorganizmaların oluşturdukları her tabaka biyofilm değildir. Gerçekte biyofilm olmayan bu topluluklar, buldukları yüzeylerde planktonik hücre davranışı göstermeye devam ederler. Hiçbirinde sesil mikroorganizmalarda izlenen direnç ve geri dönüşümsüz tutunma gibi özellikler

izlenmez. Ayrıca biyofilm içerisindeki mikroorganizmaların zamanla EPM'den koparak ayrıldıkları ve serbest halde dolaşıma geçtikleri unutulmamalıdır [39].

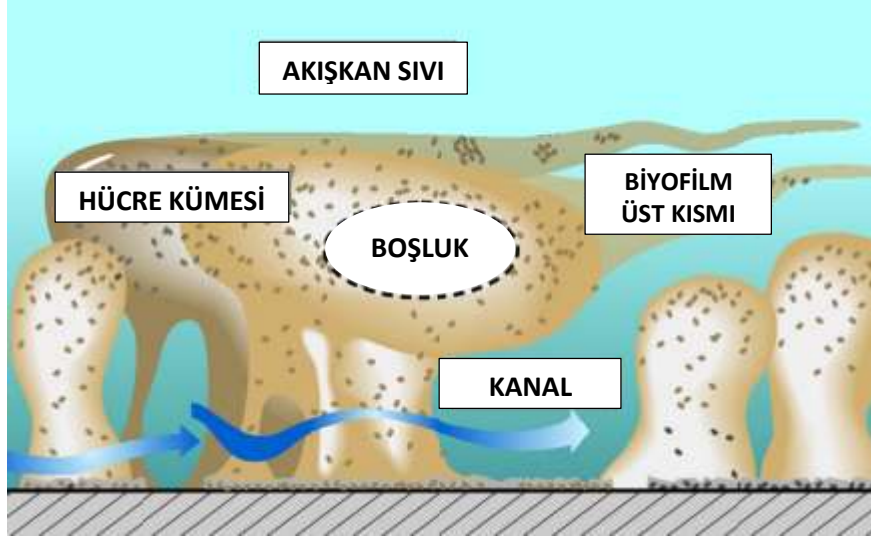
2.6. Biyofilmin Yapısı

Biyofilm üç boyutlu bir bakış açısı ile bakıldığı zaman, mikroorganizmanın yüzeyinde düzensiz olarak dağılmış ekstraselüler polimerik bir matriks olduğu görülür. Çeşitli mikroorganizmaların EPM genişliği ve yoğunluğu birbirlerinden farklıdır [40].

Bir biyofilmin oluşabilmesi için olması gereken unsurlar yüzey, mikroorganizma ve glikokaliktir. Bu unsurlardan biri olmadığı zaman biyofilm oluşamaz [37]. Biyofilm yapısının büyük bir kısmı sudan (% 97) oluşmaktadır. Ayrıca % 1 - 5 mikroorganizma, % 1 - 2 polisakkarid, % 1 - 2 protein, % 1 - 2 DNA ve iyonlar bulunmaktadır [41]. Fakat bu oranlar mikroorganizmaların türüne, fizyolojik özelliklerine, gelişme ortamının doğasına, akışkanın tipine, genel fiziksel özelliklere göre değişebilmektedir [42].

Biyofilm tabakası, içinde bulundurduğu mikroorganizmaların çevre şartlarından etkilenmesini engelleyen korunaklı bir yapıdır [8]. Biyofilmin matriks yapısında sadece bir mikroorganizma türü de bulunabilir birden fazla mikroorganizma türü de bulunabilir. Çeşitli mikroorganizmaların bulunduğu biyofilmlerde her tür kendi mikrokolonisini oluşturur. Bu mikrokoloniler su kanalları vasıtasıyla birbirlerinden ayrılmıştır. Bu kanalların içinde devam eden su akışı sayesinde mikroorganizmaların besin ve oksijen ihtiyacı karşılanır [43].

Biyofilm, mikroskobik olarak bakıldığında mikrokolonilerin aralarından su kanallarının geçtiği mercan kayalıklar üzerindeki mantar şekilli uzantılardan oluşan Şekil 1'deki gibi bir görünüme sahiptir. Biyofilmin bu mantar görünümü, yoğun ve kompleks yapısı ortamdaki organik ve inorganik moleküllerin ekstraselüler yapısında toplanmasıyla oluşur [44].



Şekil 1. Biyofilm yapısı [45].

EPM, biyofilmin yapısal bütünlüğü için gerekli olmasının yanı sıra planktonik ve sesil mikroorganizmalar arasındaki en önemli farklılıklardan biridir [46]. EPM çoğunlukla mikroorganizmalar tarafından üretilen ve biyofilm hücrelerinin içine yerleştiği ekstrasellüler materyaldir. Farklı tipteki polimerlerin kümeleri ile oluşmaktadır. EPM üç boyutlu biyofilm yapısının iskeletini oluşturur ve biyofilmin yüzeylere adezyonu ve kohezyonundan sorumludur [47].

EPM, hem fiziksel hem de kimyasal saldırılara karşı mikroorganizmaları koruyucu bir bariyer olarak görev yapmaktadır. Sesil mikroorganizmalar birçok antimikrobiyal tarafından öldürülmeye karşı dirençlidirler. Ayrıca fagositoza direnç göstererek immun sistemden kaçarlar. Bu yüzden biyofilm içinde yaşamak mikroorganizma için avantajdır [48].

Biyofilm yapısı protein, Ca^{+2} iyonları ve polisakkaritler sayesinde daha çok sağlamlaşmaktadır. Bununla birlikte biyofilm yapısını etkileyen hidrolaz, liyaz, glikozidaz, esteraz ve diğer enzimler ise biyofilm yapısında düşük molekül ağırlıklı ürünlerin oluşmasına neden olur. Oluşan ürünler de biyofilmde tutunan mikroorganizmaların metabolizmasında karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır [49].

2.7. Biyofilm Oluşumu

2.7.1. Biyofilm Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Biyofilmlerin oluşumunda ve gelişmesinde mikroorganizma türü, yüzey özellikleri, ortamın pH'sı, sıcaklığı ve ortamdaki besin miktarı etkili olmaktadır [37]. Primer tutunmanın gerçekleşmesinde hidrofobik etkileşimlerin katkısının yanı sıra yüzeyin cinsi, kirpik varlığı, su akış hızında etkisi vardır [50].

2.7.2. Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma Nedenleri

Mikroorganizmaların biyofilm oluşturma nedenleri hakkında birçok görüş bulunmasına rağmen bu nedenleri şu şekilde sınıflandırabiliriz.

2.7.2.1. Savunma

Mikroorganizmaların herhangi bir strese karşı oluşturduğu cevaptır. Biyofilmin tükürüğün yıkama gücü ve kan akımı gibi birtakım fiziksel güçlere karşı dayanıklılığı vardır. Sesil mikroorganizmalar, pH değişikliklerine, besin yoksunluğuna, dezenfektanlara, fagositoza, oksijen radikallerine ve antimikrobiyallere karşı planktonik mikroorganizmalardan daha dirençlidirler. Bu nedenle biyofilm, bu özelliği nedeniyle kronik enfeksiyonlarda önemli bir faktördür. Biyofilmin önemli bir kısmını oluşturan EPM, savunmada önemli bir rol oynar. EPM, biyofilm içindeki mikroorganizmayı çekim alanlarından (elektrik çekimi) uzaklaştırarak inflamatuvar hücrelerin fagositozundan, antibiyotik etkisinden korur [51].

2.7.2.2. Yaşanabilir Çevre Oluşturma

Glikozun mikroorganizma tarafından kullanılabilir olmasının çeşitli mikroorganizmaların EPM'yi ve biyofilmi oluşturmalarını belirgin bir şekilde artırdığı gösterilmiştir. Karbon katabolitlerinin, konağa tutunan mikroorganizmanın gen düzenlenmesini uyararak biyofilm oluşumunda kritik rol oynaması, mikroorganizmanın konakta uygun bir ortam oluşturarak kalabilmesi için biyofilmin gerekli olduğunu göstermektedir [52].

2.7.2.3. Adezyon

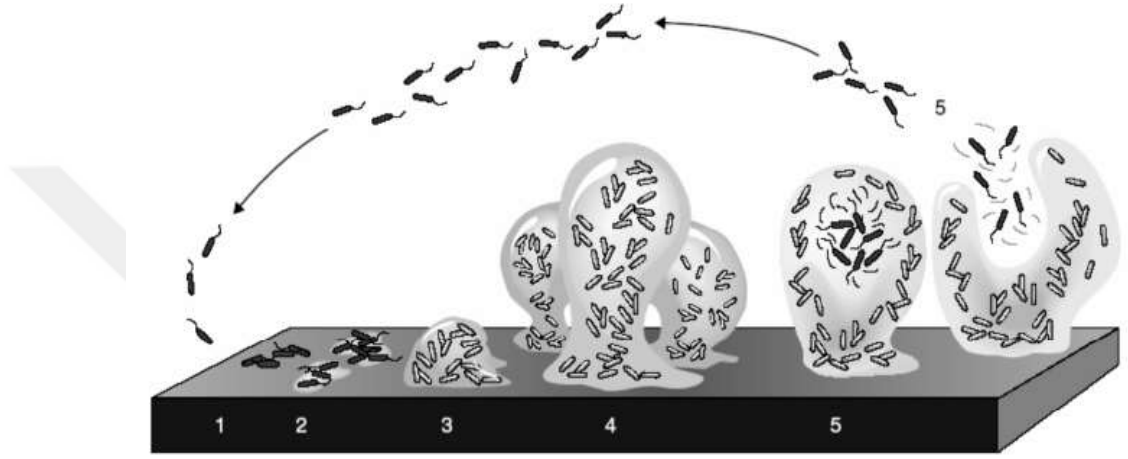
Mikroorganizmaların bir ortamda kalarak yaşayabilmesinin bilinen en etkili yolu biyofilm oluşturmalarıdır. İnsan ve hayvanlar, mikroorganizmaların devamlı bir şekilde vücutlarında bulunmalarından (flora) dolayı karmaşık immun sistemlerini geliştirirler. Vücut, mikroorganizmaların yaşaması ve gelişmesi için besin yönünden zengindir ve devamlı bir şekilde su içeriği, oksijen varlığı, ısı gibi faktörlerle sabit bir yapı oluşturmaktadır. Tüm bunların sonucunda vücudun immun sistemi ile mikroorganizmalar arasında vücudun istila edilmesine karşı bir yarış vardır. Bazı durumlarda uzlaşma olarak belli bölgelerde büyük miktarlarda kommensal mikroorganizmaların yaşamasına müsaade edilmektedir ve bu mikroorganizmaların çoğu biyofilm oluşturmaktadırlar. Vücut, bilindiği gibi mikroorganizmaların yaşaması için çekici bir ortam olup, mikroorganizmaların bu bölgede biyofilm oluşturarak yaşaması için önemli bir ilgi alanı oluşturmaktadır [40]. Mikroorganizmaların vücudun herhangi bir yerinde sabit bir şekilde kalabilmeleri için bazı stratejileri bulunmaktadır. Mikroorganizmaların yüzey proteinleri, konağın ekstraselüler matriks proteinlerine yapışırlar. Bu adezin ve matriks proteinleri, mikroorganizmanın aderansında önemli bir rol oynarlar [28]. Adezyon sonrası bu bölgeye yerleşen mikroorganizmalar bir taraftan çoğalırken diğer taraftan da biyofilm oluşturmaya başlarlar. Burada ilginç olan, biyofilm mikroorganizmanın adheransını arttırırken, biyofilm oluşumu başladıktan sonra bakteri adezyon faktörlerinin ekspresyonunda bir baskılanma olmaktadır [53].

2.7.2.4. Topluluk Oluşturmak

Mikroorganizmaların topluluk oluşturması kazançlarının ortak bir şekilde paylaşılmasıdır. Tüm mikroorganizmaların çevre faktörlerine aynı yanıt vermeleri ve fenotipik değişiklikler sergilemeleri topluluk oluşturarak yaşamalarının önemli bir göstergesidir. Mikroorganizmalar biyofilm oluşturdıkları gibi değişik koşullarda biyofilm yapısını bozabilirler de, bu durum genler aracılığı ile olur [28].

2.7.3. Biyofilm Oluşum Basamakları

Biyofilm oluşumu mikroorganizmaların sırası ile herhangi bir yüzeye dönüşümlü ve dönüşümsüz bir şekilde tutunup bağlandığı EPM ürettiği ve mikroorganizmalarda çeşitli değişikliklerle sonuçlanan bir süreçtir [54]. Biyofilm oluşumu basamaklar halinde ilerleyen bir süreçtir [38]. Şekil 2’de gösterilen biyofilmin oluşum basamakları temel olarak beş aşamadan oluşmaktadır [55].



Şekil 2. Biyofilm Oluşum Basamakları [56]

Biyofilm oluşum basamakları ise şu şekilde açıklanmaktadır;

- 1- Yüzeye dönüşümlü tutunma
- 2- Yüzeye dönüşümsüz tutunma
- 3- Koloni oluşumu
- 4- Mikroorganizmaların biyofilm içinde olgunlaşması
- 5- Planktonik hücrelerin biyofilmden ayrılması ve yayılımı

2.7.3.1. Mikroorganizmaların Yüzeye Dönüşümlü Tutunması

Mikroorganizmalarda biyofilm oluşumunun başlaması besinlerin var olup olmaması, pH değişiklikleri, sıcaklık gibi çevresel etmenlere bağlı olarak değişmektedir. Sürekli taze besiyeri sağlanan ortamlarda biyofilm gelişimi devam eder. Ancak ortamda besin maddeleri tükenince mikroorganizmaların yüzey bağlantıları zayıflar ve planktonik formlarına geri dönerler. Besin yoksunluğu durumu hücrelerin yeni besin kaynakları aramalarını, ortamlara daha iyi adapte olmalarını ve yayılmalarını sağlar [49].

Biyofilm oluşumunun ilk aşaması olan dönüşümlü tutunma gerçekleşmeden önce mikroorganizmaların tutunacağı yüzeyin uygun hale gelmesi gerekmektedir. Bu aşamada sudaki cansız partiküller, elementler, organik veya inorganik moleküller yüzeye yapışır ve ince bir film tabakası oluştururlar. Böylece mikrobiyal biyofilm oluşumu için yüzey hazır hale gelir. Yüzey özelliklerini değiştiren bu ince film tabakası mikrobiyal tutunmayı kolaylaştırır [50].

Tutunma, sonradan mikroorganizma tutunmasını etkileyen organik ve inorganik maddelere bağlı olarak içinde mikroorganizmaların bulunduğu herhangi bir sulu yüzeyde gerçekleşebilir [56]. Özellikle yüzeye organik veya inorganik maddelerin yapışmasından sonra mikroorganizmalar bu yüzeye geri dönüşümlü şekilde tutunur [26]. Dönüşümlü tutunmada öncelikle mikroorganizmalar yüzeye yakın mesafede etkileşerek yüzeye tutunurlar. Yüzeye dönüşümlü olarak tutunurken o yüzeyde yaşamlarını devam ettirebilmelerini sağlayacak besin maddelerinin var olup olmadığını araştırırlar [57].

Mikroorganizmanın hareketi veya mikroorganizma ile tutunulan yüzey arasındaki elektrostatik veya fiziksel etkileşimler bu evrede en önemli rolü oynamaktadır [38]. Ayrıca mikroorganizmalar türlerine göre farklı yüzeylere farklı miktarlarda bağlanabilirler [57].

Mikroorganizmalar ilk aşama olan dönüşümlü tutunma fazında durulama gibi basit yıkama işlemleri ile kolayca uzaklaştırılabilirler. Dönüşümlü tutunma, yapışan ve durgun haldeki hücreler arasındaki dengeli dağılımın bir sonucu olabilir [49].

2.7.3.2. Yüzeye Dönüşümsüz Tutunma

Mikroorganizmalar daha sonra yüzeye kısa mesafeli etkileşimler olan dipol-dipol etkileşimi, hidrofobik etkileşimler, iyon-dipol etkileşimi, iyonik ve kovalent bağlar ve hidrojen etkileşimleri sayesinde hücre organelleri ile yüzeye dönüşümsüz olarak tutunurlar [26]. Ayrıca yüzeye dönüşümsüz şekilde tutunan mikroorganizmalar hücre zarındaki proteinlerin uyarılması sonucunda EPM ana

bileşeni olan ekzopolisakkarid sentezler ve böylece mikroorganizmaların birbirlerine ve yüzeye tutunması sağlanır [38].

Mikroorganizmaların yapısındaki flagella, pili gibi organeller; mannoz spesifik, nonspesifik ve abiyotik yüzeylere bağlanabilme özelliğindedir [58]. Mikroorganizmalar flagella, pili gibi organelleri ve EPM tabakası ile yüzeylere dönüşümsüz olarak tutunabilirler. Ancak EPM oluşturmayan bazı mikroorganizma türlerinin de yüzeylere bağlanabildiği belirtilmektedir [57]. Yüzeye tutunan mikroorganizmalar gelişerek mikrokolonileri oluştururlar [26].

2.7.3.3. Koloni Oluşumu

Yüzeye dönüşümsüz olarak tutunan mikroorganizma gelişir ve çoğalmaya başlar. Bir taraftanda EPM oluştururlar. Böylece EPM tabakasında diğer planktonik mikroorganizmaların yakalanması da sağlanır. Bu aşamada bir mikroorganizma hücresi yüzeyde ilk koloniyi oluşturduktan sonra, aynı yüzeyde diğer mikroorganizmalar da ikincil bir koloniyi oluşturur [49]. Böylece biyofilmin en küçük birimi olan mikrokoloniler, yüzeye tutunan mikroorganizmaların bölünüp çoğalması ile oluşurlar. Planktonik mikroorganizmalarda mikrokolonilerin üzerine tutunarak kolonizasyonu sağlar [26]. Daha sonraki evrede ise mikrokoloniler büyürler ve kompleks, mantar şekli görünümündeki yapılara dönüşürler [49]. Çeşitli yüksekliklerde kuleler oluşturan mantar şeklindeki mikrokolonilerin aralarında, besinlerin ulaştırılması ve metabolik atık maddelerin uzaklaştırılması için ilkel bir dolaşım sistemi şeklinde görev yapan su kanalları bulunmaktadır [49, 59].

2.7.3.4. Mikroorganizmaların Biyofilm İçinde Olgunlaşması

EPM mikroorganizmaların biyofilm içinde olgunlaşmasının yanı sıra antimikrobiyal dirençlerinin oluşmasına ve antimikrobiyallerin hedeflerini değiştirmeye, mikroorganizmaların büyümesinin yavaşlatılmasına, enzimlerin yok edilmesine yol açar [60]. Quorum sensing sistemi (çoğunluğu algılama) ile biyofilmi oluşturan bakterilerin sayısı sınırlandırılmaktadır [61].

2.7.3.5. Planktonik Hücrelerin Biyofilmden Kopması

Biyofilm oluşumu gerçekleştikten sonra, mikroorganizmada genetik düzenlenmeler sonucunda mikroorganizmanın hareketini sağlayan flageller sentezlenir [58]. Böylece hücreler planktonik formlarına geri dönerler [57]. Biyofilmin üst kısmından koparak ayrılmalr gerçekleşir. Koparak serbest kalan mikroorganizmalar yeni biyofilm odaklarını oluşturmak için biyofilmden ayrılır. Kopan tek bir mikroorganizma veya mikroorganizma kümeleri olabilmektedir [49, 58]. Bu durum bir denge oluşunca süreklileşir [49].

Sesil mikroorganizmaların biyofilmden koparak ayrılmasında, artan akış kuvveti, iç enzimatik bozulma, Ekzopolisakkarit ya da yüzey bağlayan proteinlerin açığa çıkması gibi durumların önemi büyüktür. Ayrıca hücrel ayrılmalrın önemli bir nedeni de ortamda besin maddelerinin tükenmesidir. Bu kopma işlemi dış kuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi, biyofilm oluşum basamağının bir parçası olarak tek bir hücrenin veya çoklu hücre kümelerinin kopmasının bir sonucu da olabilir [57]. Biyofilm toplulukları içindeki mikroorganizmalar yeni yüzeylere yapışır [49].

2.8. Biyofilm Oluşumunda Mikroorganizmalar Arası Haberleşme “Quorum Sensing”

Çoğu mikroorganizmada biyofilm oluşumunun kontrolü hücreden hücreye sinyal iletimi ile gerçekleşir [62, 63]. Bu sinyal sistemine “quorum sensing” denmektedir. Bir mikroorganizma patogenezi için bulunduğu ortama adaptasyon sağlar ve çevreden gelen çeşitli uyarıları algılayarak yanıt geliştirir. Çevrede meydana gelen herhangi bir değişiklikte metabolizmasında değişiklikler yaparak çevreye uyum sağlamaya çalışır. “Quorum sensing” mekanizması da mikroorganizmaların etrafındaki popülasyon yoğunluğunu saptamasını sağlayan bir mekanizmadır [64]. “Quorum sensing” sinyalleri sayesinde bir odaya yönelen ve bu odakta toplanan mikroorganizmalar biyofilm oluşumunun temelini oluşturur [65].

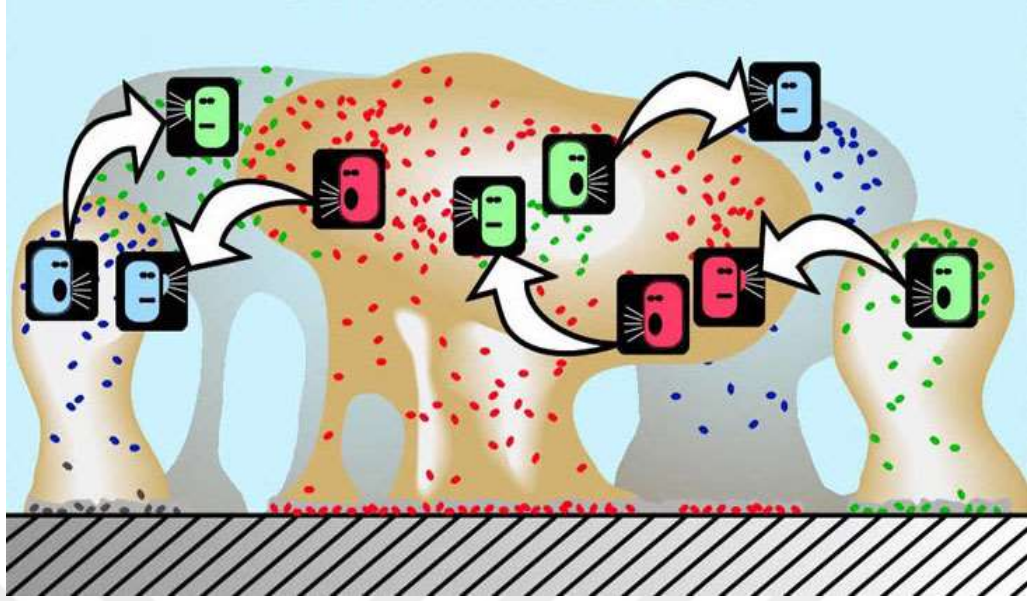
Quorum sensing sinyalleri, çoğunluğu algılama sinyalleri olarak adlandırılırlar. Bu sinyaller, geniş bir mikroorganizma topluluğunda virulans etkenleri üretiminin düzenlenmesinde de rol oynarlar. Genel olarak bu sinyaller,

hücre dışı işaretleşmeler yolu ile çalışır. Mikroorganizmalar bu işaretleri, bölgedeki yoğunluklarını değerlendirmek amacı ile kullanırlar. Bu işaretler yeterli yoğunluğa ulaştığında, düzenleyici bir geri bildirim (feed back) çemberi uyarılmaktadır. Bunun sonucunda ise popülasyondaki fenotiplerin sunumunda hızlı bir artış görülmektedir. Üzerinde en iyi çalışılan sinyal molekülleri; Gram-negatif bakterilerde saptanan, N-acylated homoserine lactone (azotlanmış homoserin lakton) ve hem Gram-pozitif hem de negatif bakterilerde saptanan auto inducer (kendi kendini uyaran) sinyalidir [66].

Quorum Sensing'in, mikroorganizma topluluklarında genetik sunumunda ve işlevsel özelliklerin yönetiminde temel görevi olduğu bilinmektedir. Mikroorganizma yoğunluğuna bağlı olarak quorum sensing ile mikroorganizmalar küçük işaret moleküllerinin birikimine karşı cevap oluştururlar, ortamı araştırırlar, salınımda bulunurlar [67].

“Quorum sensing” mekanizmasının mikroorganizmaya pek çok avantaj sağlar. Bu mekanizma ile mikroorganizma davranışlarını düzenleyerek besin kaynaklarına adaptasyon geliştirir. Aynı besin için yarışan diğer mikroorganizmalara karşı savaşıabilir. En önemlisi ise enfeksiyon sırasında virulans faktörlerinin regülasyonu sonucu konak immün yanıtından kaçabilir [68].

Aynı türler veya farklı türler arasında quorum sensing sinyal molekülleri ile iletişim sağlanabildiği gibi farklı cinsler arasında da pozitif veya negatif yönde bir iletişim olduğu gözlenmiştir [26]. Şekil 3'de biyofilmdeki mikroorganizmaların sinyal molekülleri ile iletişimi şematize edilmiştir.



Şekil 3. Biyofilmdeki mikroorganizmaların sinyal molekülleri ile iletişimi [45].

2.9. Biyofilm Oluşturan Mikroorganizmaların Neden Olduğu Enfeksiyonlar

Mikrobiyal adezyon ve biyofilmler özellikle intravasküler kateterler, idrar sondaları ve ortopedik implant gibi implante tıbbi cihazlarla ilgili olan enfeksiyonlarda önemlidirler. Mikroorganizmalar tıbbi bir malzemenin yüzeyine tutunur, çoğalır ve implante olmuş yüzeyde biyofilm oluşturmak üzere kolonize olur ve bunun sonucunda biyomalzeme ilişkili enfeksiyon ortaya çıkar. Biyomalzeme ilişkili enfeksiyonların tek başına antibiyotiklerle tedavisi oldukça zordur. Çünkü biyofilm, mikroorganizmaları antimikrobiallere karşı korur [69]. Biyofilmlerin insanlarda neden olduğu çeşitli enfeksiyonlar Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ve neden oldukları enfeksiyonlar [48, 65, 70].

| Enfeksiyon veya hastalık | Etken mikroorganizma |
|-------------------------------------|--|
| Diş çürüğü | Streptokoklar |
| Otitis media | Tiplendirilemeyen <i>H. Influenzae</i> |
| Kronik tonsillit | Çeşitli aerop ve anaerop bakteriler |
| Endokardit | Viridans grup streptokoklar, stafilokoklar |
| Kistik fibrozis | <i>P. aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> |
| Safra yolu enfeksiyonları | Enterik bakteriler |
| İnfeksiyöz böbrek taşları | Gram-negatif basiller |
| Bakteriyel prostatit | <i>Escherichia coli</i> ve diğer Gram-negatif bakteriler |
| Doğal kapak endokarditi | Viridans streptokoklar |
| Bakteriyel prostatit | <i>E. coli</i> ve diğer Gram-negatif basiller |
| Osteomyelit | Çeşitli bakteri ve mantarlar |
| Nekrotizan fasit | Grup A streptokoklar |
| İskelet–kas enfeksiyonları | Gram-pozitif koklar (örn. Stafilokoklar) |
| Periodontit | Gram-negatif anaerobik oral bakteriler |
| Yabancı cisim enfeksiyonları | |
| Santral venöz kateter | KNS, <i>S. aureus</i> , enterokoklar |
| Üretral kateter | <i>E. coli</i> , <i>Candida spp.</i> , KNS |
| Yapay kalp kapakçıkları | KNS, <i>S. aureus</i> , streptokoklar |
| Koroner stentler | <i>S. aureus</i> , KNS, <i>P. aeruginosa</i> , <i>Candida spp.</i> |
| Periton diyaliz kateterleri | <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , diğer Gram-negatif bakteriler |
| Ortopedik protezler | Stafilokoklar, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , diğer streptokoklar, <i>Propionibacterium acnes</i> |
| Endotrakeal tüpler | Enterik gram-negatif basiller |
| Kontakt lensler | <i>P. aeruginosa</i> ve Gram-pozitif koklar |
| Meme implantları | Stafilokoklar, <i>E. coli</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Clostridium perfringens</i> |
| Koklear implantlar | <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , streptokoklar, <i>Neisseria meningitidis</i> , mantarlar |
| Hickman kateterleri | <i>S. epidermidis</i> ve <i>C. albicans</i> |

2.10. Biyofilm Oluşturabilen Bazı Mikroorganizmalar

Özellikle çoklu antimikrobiyal direnci bulunan *A. baumannii* suşlarının, *Staphylococcus spp.* ve *Pseudomonas spp.*'lerin yanı sıra giderek artan oranlarda hastane enfeksiyonu etkeni olduğu bildirilmektedir [71].

2.10.1. *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii özellikle YBÜ'de ve immün sistemi baskılanmış hastalarda olmak üzere ciddi hastane enfeksiyonlarına sebep olabilmektedir [12]. *Acinetobacter* türleri hastane enfeksiyonlarının % 3 - 20'sinden sorumludur [72].

2.10.1.1. *A. baumannii*'nin Mikrobiyolojik Özellikleri

İlk olarak 1911'de Beijerinck tarafından topraktan izole edilen *acinetobacter* cinsi *Micrococcus calcoaceticus* olarak adlandırılmıştır. Bu bakteri için günümüze kadar en az 15 farklı isim kullanılmıştır. Bunlardan en iyi bilinenleri *Bacterium anitratum*, *Herellea Vaginicola/Mima polymorpha*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Micrococcus calcoaceticus*, *B5W*, *Moraxella glucidolytica* ve *Moraxella lwoffii*'dir. Günümüzde kullanılan *Acinetobacter* kelimesi 1954 yılında, Brisou ve Prevot tarafından, hareketli *Achromobacter* cinsi mikroorganizmalardan ayırt etmek amacıyla Yunanca akinetos (hareketsiz) kelimesinden türetilmiştir [73]. Taksonomik çalışmalar sonucu *Acinetobacter* cinsi günümüzde *Moraxellacea* ailesinin üyesidir [74]. *Acinetobacter* cinsinin bakterinin taksonomik sınıflandırılması Tablo 2'de verilmiştir.

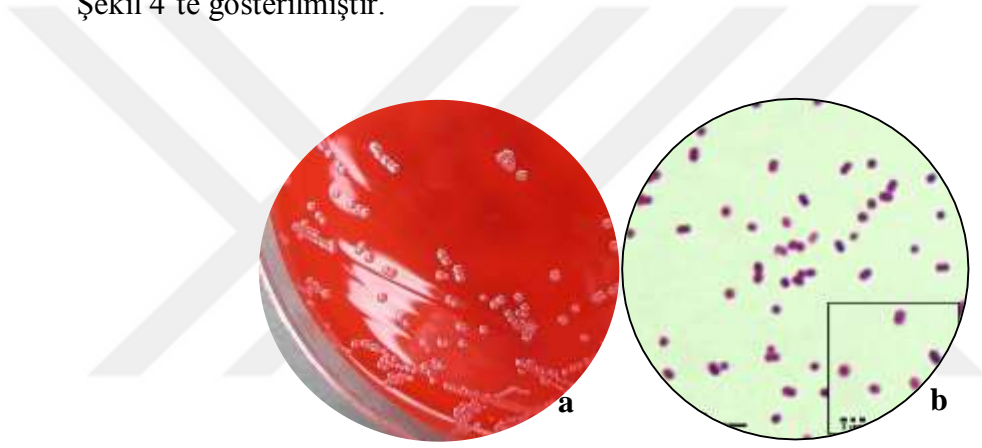
Tablo 2. *Acinetobacter* cinsinin sınıflandırılması [90].

| Sınıflandırma | |
|---------------|----------------------|
| Alem | Bacteria |
| Şube | Proteobacteria |
| Sınıf | Gamma Proteobacteria |
| Takım | Pseudomonadales |
| Familya | Moraxellaceae |
| Cins | <i>Acinetobacter</i> |

Acinetobacter cinsi bakteriler; 35 - 37°C'de üreyebilen, nonfermentatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif, indol negatif, hareketsiz, nitratları redükte

etmeyen, aerop üreyen, çevrede yaygın olarak bulunabilen Gram-negatif mikroorganizmalardır [75]. İlk izolasyonda ve bir günlük taze kültürlerinde kokobasil formunda olup subkültürlerinde çomak şeklinde görülürler [76].

Acinetobacter cinsi bakteriler üremenin logaritmik fazında kısa, iri, Gram-negatif, 1,0 - 1,5 µm uzunluğunda basıl, üremenin duraklama fazında kok ya da kokobasil şeklinde görülmektedir. Küme halinde, ikişerli veya kısa zincir halinde görülebilirler. Pozitif kan kültür şişesinden hazırlanan preparatlarda kristal violeyi tutmaya yatkındırlar ve bu yüzden yanlışlıkla Gram-pozitif kok olarak tanımlanabilirler [75]. *A. baumannii*'nin kanlı agar besiyerindeki koloni yapısı ve Gram boyama yöntemi ile boyanması sonrasındaki görünüşleri Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. *A. baumannii*'nin (a) kanlı agar besiyerindeki koloni morfolojisi ve (b) Gram boyama yöntemindeki görünümü [77, 78].

A. baumannii çikolata agar ve %5'lik koyun kanlı agarda üreyebilirler [79]. Genel olarak düzgün, opak, bazen mukoid, renksiz, 1 - 2 mm çapında, kubbe şeklinde koloniler oluşturur. Koloniler Enterobacteriaceae ailesinin üyelerine göre daha küçüktür. Enterobakterilerden anaerobik şartlarda ürememesi ve nitratları redükte etmemesi ile kolayca ayrılabilir. Diğer nonfermantatif bakterilerden ayırmak için oksidaz testi kullanılabilir [80].

2.10.1.2. *A. baumannii*'nin Patogenez ve Virulans Faktörleri

Acinetobacter cinsi bakteriler virulansı düşük olan patojenlerdir. Ekzotoksin veya sitolizin benzeri maddeler sentezlemezler. Canlı ve cansız ortamlara kolaylıkla tutunabilirler. Kateter etrafında biyofilm oluşturabilirler [72].

Virulansı düşük olmasına rağmen virulanstan sorumlu bir takım faktörleri vardır:

1. Polisakkarit kapsül: L-ramnoz, D-glukoz, D-mannoz ve D-glukoronik asitten oluşan kapsül sayesinde bakterinin yüzeyi hidrofilik olur ve böylece bakteri fagositozdan korunur. Ayrıca polisakkarit kapsül yapısı çeşitli yüzeylere tutunmayı kolaylaştırır.

2. Fimbria: bakterilerin epitel hücrelerine bağlanmasını sağlar.

3. Lipopolisakkarit ve lipid A: Lipid A hücre duvarında bulunur ve potansiyel toksik etki gösterir.

4. Çeşitli enzimler üreterek dokulardaki lipitleri yıkarlar.

5. Bakterilerin üreyebilmesi için gerekli olan demir, demir tutucu dış membran reseptör proteinlerinin üretimi aracılığıyla temin edilmektedir [75, 81].

2.10.1.3. *A. baumannii*'nin Neden Olduğu Enfeksiyonlar

İnsan deri florasında bulduklarından dolayı klinik örneklerden izole edilebilirler. *A.baumannii* giderek artan oranda hastane enfeksiyonu etkenidir. Zaman zaman fırsatçı patojen olarak enfeksiyon yaparlar [76]. Hastanede ve özellikle YBÜ'de tedavisi güç olan pnömoni, bakteriyemi, üriner sistem enfeksiyonları, kateter enfeksiyonları, kan dolaşım yolu enfeksiyonları, menenjitlere, peritonit, cerrahi yara, endokardit, deri ve göz enfeksiyonlarına neden olabilirler [82, 83].

2.10.1.4. *A. baumannii*'nin Antimikrobiyallere Direnç Mekanizmaları

Antimikrobiyal direnç, *A. baumannii*'nin neden olduğu enfeksiyonların etkin tedavisine karşı giderek artan oranda tehdit oluşturmaktadır. Geleneksel antimikrobiyaller, patojenik mikroorganizmalarda çoklu ilaç direncinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır [84].

Hastane enfeksiyonlarından izole edilen *Acinetobacter* türlerinde en sık görülen direnç mekanizmaları beta-laktamazlar ve hücre duvarındaki efluks pompa sistemidir [85].

1. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları:

A. baumannii suşlarının beta-laktam antibiyotiklere karşı direnci diğer türlere göre daha fazladır. Beta-laktam antibiyotiklere karşı direncin mekanizmaları; beta-laktamaz enzimlerinin antibiyotiği parçalaması, beta-laktam antibiyotiğin hücrenin içerisine girişinin önlenmesi ve penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) meydana gelen değişimlerdir [13, 85].

2. Kinolonlara karşı direnç mekanizmaları:

Kinolon grubu antimikrobiallere karşı oluşan direncin mekanizması; hedef enzimlerdeki (DNA giraz ve topoizomeras IV) mutasyonlara, geçirgenlikte azalmaya veya antimikrobiyalin aktif taşıma yolu ile atımına bağlı olabilmektedir. Bu mekanizmaların tümü kromozom kontrolünde olup *gyrA* ve *parC* genlerindeki mutasyonlar ile direnç gelişmektedir [13, 85].

3. Aminoglikozidlere karşı direnç mekanizmaları:

Aminoglikozid antibiyotiklere direnç büyük çoğunlukla plazmid, kromozom veya transpozonlarda bulunan genler tarafından kodlanan modifiye edici enzimler sayesinde olmaktadır. Tek bir bakteride birden fazla enzim geni bulunabilir. Bir aminoglikozid molekülü birden fazla enzimin substratı olabildiği gibi, bir enzim birçok farklı aminoglikozidi değiştirebilmektedir [13].

2.10.1.5. *A. baumannii*'nin Biyofilm Oluşturma Özellikleri

A. baumannii canlı ve cansız yüzeylere tutunma ve biyofilm oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Cansız yüzeylerde biyofilm oluşturabilme yeteneği sayesinde hastane ekipmanları ve kalıcı tıbbi cihazların yüzeyine kolonize olarak hastane enfeksiyonları oluşmasına neden olurlar. *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturması çeşitli faktörlerin etkisinin yanında hücresel ve çevresel sinyallere yanıt olarak iyi yönetilen bir süreçtir [86]. Diğer mikroorganizmalarda da olduğu gibi *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturması için etkili olan yollardan biri de quorum sensing'tir. *A. baumannii*, *abaI* otoindüktör sentez geninin bir ürünü olan, açıl-homoserin lakton molekülü üretebilmektedir. *abaI* genindeki mutasyon, biyofilm oluşumunun sonraki basamaklarında önemli rol oynadığını göstermiştir. Bu genin inaktive olmasıyla biyofilm oluşumunun % 30 - 40 azaldığı yapılan çalışmalar sonucunda saptanmıştır [87].

2.10.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Bir diğer fırsatçı patojen olan *Pseudomonas*lar insanlarda birçok enfeksiyona sebep olmaktadır [88]. Hastane enfeksiyonlarının % 10 - 25'inden *P. aeruginosa*'nın sorumlu olduğu bildirilmektedir [13].

2.10.2.1. *P. aeruginosa*'nın Mikrobiyolojik Özellikleri

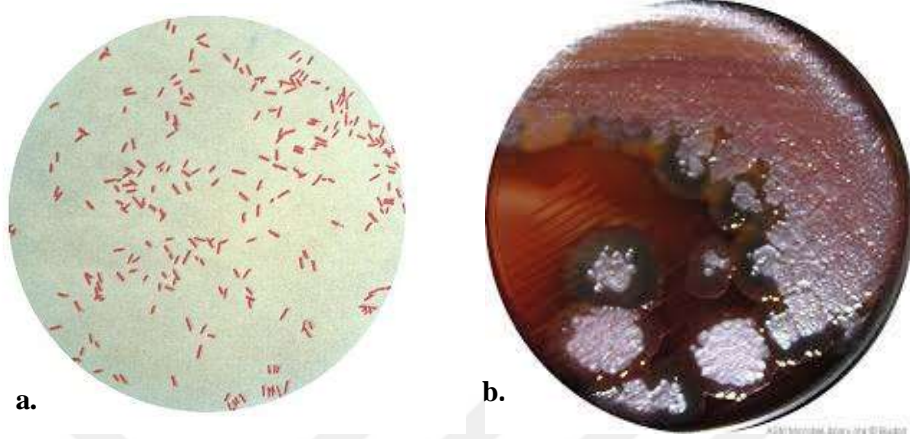
P. aeruginosa ilk defa 1850 yılında Sedillot, cerrahi yara pansumanlarında mavi renk değişikliğine neden olan bir etken olarak tanımlamıştır. İlk olarak *Bacillus pyocyaneus* ve daha sonra *Pseudomonas pyocyanea* olarak adlandırılmıştır. *Pseudomonaceae* ailesinde yer alan bu cinsteki bakterilerin sayıları oldukça fazladır. Sınıflandırılması görünümüne, pigment oluşturup oluşturup olmamalarına, metabolizmalarına ve RNA / DNA hibridizasyonlarına göre yapılmaktadır. Nükleik asit hibridizasyon çalışmaları sonucunda, *Pseudomonas*'lar rRNA homolojilerine göre 5 gruba ayrılmışlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu cinsin sınıflandırılması yeniden düzenlenmiştir [89]. *Pseudomonas* cinsi bakterilerin taksonomik sınıflandırılması Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. *Pseudomonas* cinsinin sınıflandırılması [90].

| Sınıflandırma | |
|---------------|----------------------|
| Alem | Bacteria |
| Şube | Proteobacteria |
| Sınıf | Gamma Proteobacteria |
| Takım | Pseudomonadales |
| Familiya | Pseudomonadaceae |
| Cins | <i>Pseudomonas</i> |

P. aeruginosa Gram-negatif, hareketli, oksidaz pozitif, zorunlu aerob, sporsuz basildir [76, 91]. Yaklaşık olarak 0,5 - 1 µm genişliğinde, 1,5 - 5 µm uzunluğa sahiptirler. Bir veya birden fazla polar konumlu kirpiğe sahiptir ve bu sebeple çok hareketlidir. En önemli özelliklerinden biri piyosiyanın adı verilen çözünür fenazin pigmenti üretmesidir. Bakteri, piyosiyanın dışında kırmızı pigmentten sorumlu piyorubin, siyah pigmentten sorumlu piyomelanin veya sarı-yeşil veya yeşil-kahverengi renk veren piyoverdin pigmenti içerebilir [92].

P. aeruginosa'nın kanlı agar besiyerindeki koloni yapısı ve Gram boyama yöntemi ile boyanması sonrasındaki görünümleri Şekil 5'te gösterilmiştir.



Şekil 5. *P. aeruginosa*'nın (a) Gram boyama yöntemindeki görünümü, (b) kanlı agardaki koloni yapısı [93, 94].

P. aeruginosa uygun besiyerinde ve 30 - 37 °C sıcaklıklarda üreyebilmektedir. *P. aeruginosa*'nın önemli bir özelliği de 41 °C'de üreyebilme yeteneğidir. *P. aeruginosa*'yı, *P. fluorescens* 'den ayırt eden en önemli özellik art arda yapılan üç pasajda 41 °C'de üreyebilmesidir [89]. *P. aeruginosa* üç tip koloni oluşturur. Tip 1 koloni, 2 - 3 mm çapında yuvarlak, ortası kabarık, mat yüzeyli, yassı, beyaz renkli karşıdan bakılınca floresan özelliği olan ve besiyerinin her tarafına yayılmış olan yeşil-mavi pigmentleri göze çarpan kolonilerdir. Bu tip koloniler genellikle klinik örneklerden izole edilir. Tip 2 koloni, daha küçük, konveks, kabarık ve düzensiz koliform kolonilerine benzeyen kolonilerdir. Bu tip koloniler çoğunlukla doğal kaynaklardan izole edilirler. Tip 3 koloni ise, *P. aeruginosa*'nın bazı suşlarının hücre dışı alginat salgılaması nedeniyle mukoid görünümde bakterinin oluşturduğu R kolonilerdir. Kültürlerde triptofan 2-aminoasetofenon üretildiği için karakteristik bir meyve kokusu oluşur [89, 95].

2.10.2.2. *P. aeruginosa*'nın Patogenez ve Virulans Faktörleri

P. aeruginosa yapısal bileşenler, toksin ve enzimler gibi birçok virulans faktörüne sahiptir [95]. Virulans özellikleri arasında piluslar ve nonpilus adezin

yapıları önemli rolü vardır. Bunun dışında bazı suşlar alginat yapısında kapsül ve mukoid koloniler oluştururlar. Bu suşlar kistik fibroz, bronşektazi hastalarında sıklıkla hastalık etkeni olarak belirlenirler. Elastaz, proteaz, nöraminidaz gibi çok sayıda enzimle etkili olarak hastalık oluşturur. Lökosidin, hemolizin etkili fosfolipaz-C hücre yıkımından sorumludur. Ekzotoksin protein sentezini inhibe eder [76].

2.10.2.3. *P. aeruginosa*'nın Neden Olduğu Enfeksiyonlar

P. aeruginosa'nın proteolitik enzim, letal ekzotoksin ve enterotoksin özellikli hücre dışı salgılarının olması ve fırsatçı patojen özelliğinin bulunması çeşitli hastalıkların meydana gelmesine sebep olur. *Pseudomonas*'lar; menenjit, bronşit, septisemi, osteomyelit, dış kulak, orta kulak, göz, idrar yolu, yanık ve yara enfeksiyonlarından izole edilebilirler. Son yıllarda *Pseudomonas* enfeksiyonlarının hastane ortamlarında gittikçe arttığı gözlenmektedir. Bu durumun en önemli sebebi gittikçe artan oranda dirençli suşların ortaya çıkmasıdır [96].

2.10.2.4. *P. aeruginosa*'nın Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları

Antibiyotiklerin yaygın kullanılmasına bağlı olarak bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geliştirdiği yapılan çalışmalar sonucunda gözlenmiştir. Bu durumun beta laktam antibiyotiklere direnç oranlarını giderek artırdığı bildirilmektedir. *Pseudomonas*'larda aktif dışa pompalama sistemi ile antibiyotik dışarı atılmasına bağlı direnç mekanizmasının yanı sıra antibiyotik hedeflerinde değişiklik yapan penisilin bağlayan proteinlerdeki değişim, kromozomal veya plazmid kaynaklı beta laktamazların üretimi, porin proteinlerindeki değişiklik sonucu dış membran geçirgenliğinin azalması gibi direnç mekanizmaları bulunmaktadır [97].

2.10.2.5. *P. aeruginosa*'nın Biyofilm Oluşturma Özellikleri

Bakteriler mikroçevrede birikmeye ve çoğalmaya başladığında besin miktarında azalma olur. Bunun sonucunda üreme yavaşlamaktadır. Olgun biyofilmlerde meydana gelen üremenin yavaşlaması, antimikrobiyallere dirence neden

olabilmektedir. *P. aeruginosa*'nın neden olduğu üriner ve akciğer enfeksiyonlarında oluşan biyofilm yapısının antimikrobiyal direncin gelişmesinde önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda *P. aeruginosa* yavaş üreme evresinde, planktonik ve sesil mikroorganizmaların siprofloksasine eşit direnç gösterdiği gözlenmiştir. Ancak üreme hızı arttıkça, planktonik mikroorganizmaların sesil mikroorganizmalardan daha duyarlı olduğu görülmüştür. Ayrıca yapılan çalışmalar sonucunda *P. aeruginosa*'nın hücre dışına salgıladığı birçok virulans faktörünün kontrolü ve biyofilm oluşumunun quorum sensing sistemi ile kontrol edildiği gösterilmiştir [98].

2.10.3. *Staphylococcus aureus*

S.aureus'un neden olduğu enfeksiyonların oluşması için hastaların taşıyıcı olan ve geçici el kolonizasyonu bulunan kişilerle temaslarından veya önceden bu bakteri ile kolonize olmaları önemli rol oynar. Hastaların veya sağlık personelinin burun taşıyıcılığı *S. aureus*'un neden olduğu hastane enfeksiyonlarının en önemli kaynağıdır [99].

2.10.3.1. *S. aureus*'un Mikrobiyolojik Özellikleri

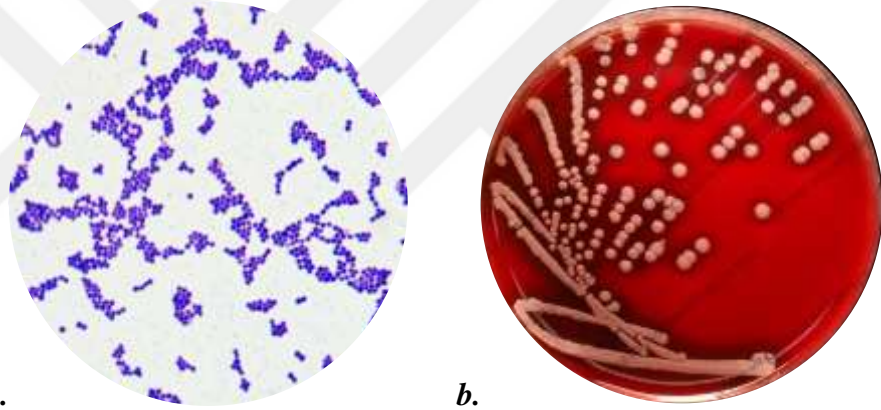
S. aureus, önemli bir enfeksiyon etkenidir [5]. Deri, yumuşak doku ve üriner sistem enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonların meydana gelmesine neden olmaktadır. Tablo 4'te *Staphylococcus* cinsinin sınıflandırılması gösterilmiştir [100].

Tablo 4. *Staphylococcus* cinsinin sınıflandırılması [90].

| Sınıflandırma | |
|---------------|-------------------|
| Alem | Bacteria |
| Şube | Firmicutes |
| Sınıf | Bacilli |
| Takım | Bacillales |
| Familya | Staphylococcaceae |
| Cins | Staphylococcus |

Genel olarak stafilokoklar tekli, bazen tetrat ya da düzensiz kümeler oluşturan koklar şeklinde görülen bakterilerdir. Stafilokoklar hareketsiz, fakültatif aerobik, Gram-pozitif, sporsuz ve kapsülsüzdür. Ancak *S. aureus* türlerinden bazıları organizmadan ilk izole edildiklerinde kapsül oluşturabilmektedir [5].

S. aureus aerop ve fakültatif anaerop bakteridir. En iyi üreme pH 7,0 ve 35 - 37 °C dir. Katı besiyerinde 18 - 24 saatte yuvarlak, düzgün, 1 - 3 mm çapında S şeklinde koloniler yaparlar. R ve M koloni şekilleri de yapabilmektedirler. *S. aureus* kanlı agarda beta hemoliz yapar. Glikoz ve mannitolu gaz oluşturmaksızın asit meydana getirerek fermente eder [100]. *S. aureus*'un kanlı agar besiyerindeki koloni yapıları ve gram boyama yöntemi sonrasındaki mikroskopi görüntüsü Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. *S. aureus*'un (a) Gram boyama yöntemindeki mikroskopi görünümü, (b) *S. aureus*'un kanlı agardaki koloni morfolojisi [101, 102].

S. aureus, ortam koşullarına çok dayanıklıdır ve çevrede yaygın olarak bulunur [5].

2.10.3.2. *S. aureus*'un Patogenez ve Virulans Faktörleri

Stafilokoklar arasında en patojen tür olan *S. aureus* çeşitli virulans faktörleri içerir [99]. Stafilokokların, protein A, kapsül, teikoik asit, peptidoglikan tabakası gibi hücre duvarının yapısında bulunan yapıları ile oluşturdukları hemolizinler, koagülaz, deoksiribonükleaz, fosfataz ve hyaluronidaz enzimlerinin virulansla ilişkili olduğu bildirilmektedir [5].

1. Kapsül: *S.aureus*'a ait klinik suşların büyük çoğunluğunda lökositler tarafından organizmanın fagositozunu önleyen aynı zamanda konak hücrelere tutunmasını sağlayan polisakkarit yapıda kapsül bulunmaktadır [103].

2. Protein A: Protein A antijen özelliği olan hücre duvarı proteindir. Protein A'nın en önemli özelliği IgG3 dışındaki tüm IgG'ler (IgG1, 11 IgG2, IgG4), IgA2, IgM'nin Fc reseptörleri ile birleşebilmesidir. Bu yüzden protein A'nın antikomplementer ve antifagositer etkinliği vardır [103].

3.Peptidoglikan: Bu polisakkarit polimer yapısı birçok mikroorganizmada sık bir şekilde görülmesine rağmen çapraz bağlı pentaglisin yapısı *S.aureus*'a özgüdür. Monositlerden interlökin-1 salınımı, kompleman aktivasyonu ve opsonik antikor üretimini indükler [103].

4. Teikoik Asit: Hücre duvarındaki ribitol fosfat polimerlerine teikoik asit denir. *S. aureus*'un hücre duvarının % 40'ını oluşturur. Özgül reseptörleri ile birleşerek *S. aureus*'un konağa aderansını sağlar [103].

5. Toksinler: *S.aureus* sitolitik toksinler (alfa, beta, delta, gamma ve Panton-Valentin; P-V), eksfoliyatif toksinler (A ve B), enterotoksinler ve toksik şok sendromu toksini-1 (TSST-1) gibi çok sayıda toksin üretmektedir. Bu sitokinler nötrofilleri parçalayarak ve lizozomal enzimler açığa çıkararak dokulara zarar vermektedirler [103].

6. Enzimler: *S. aureus* koagülaz, hemolizin, deoksiribonükleaz (DNaz), hyaluronidaz ve fosfataz gibi enzimleri üreterek bakterilerin birbirlerine yapışmasını, fagositoza karşı bakterilerin korunmasını ve dokularda yayılmasını kolaylaştırırlar [5, 103].

7. Biyofilm: Özellikle *S. aureus*'un patojenitesi, fagositoza karşı direnci sağlayan biyofilm tabakası ile kombine olduğunda virulansı oldukça yükselmektedir [5].

2.10.3.3. *S. aureus*'un Neden Olduğu Enfeksiyonlar

S. aureus'un etken olduğu hastalıklar; invaziv enfeksiyon sonucu oluşan hastalıklar ve enfeksiyon olmadan toksinin neden olduğu hastalıklar olmak üzere ikiye ayrılır. Bu enfeksiyonlar Tablo 5'te gösterilmiştir [99].

Tablo 5. *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonlar [99].

| İnvaziv Enfeksiyon Sonucu Oluşan Hastalıklar | Enfeksiyon Olmadan Toksinin Neden Olduğu Hastalıklar |
|---|---|
| Deri enfeksiyonları | Toksik şok sendromu |
| Bakteriyemi | Besin zehirlenmesi |
| Endokardit | Haşlanmış deri sendromu |
| Pnömoni | |
| Osteomyelit | |
| Enfektif artrit | |

2.10.3.4. *S. aureus*'un Antimikrobiyallere Direnç Mekanizmaları

S. aureus ortam şartlarına oldukça dayanıklıdır. Ayrıca bu bakteriler çevrede oldukça yaygın bir şekilde bulunabilirler. Özellikle bu bakterilerin patojenitesi, fagositoza karşı direnç sağlayan biyofilm tabakası ile kombine olduğunda virulansı oldukça yükselmektedir. Ayrıca *S. aureus*, kapsül yapısı, peptidoglikan tabakasında bulunan yapılar ve ürettikleri çeşitli enzimler sayesinde çeşitli antimikrobiyallere direnç mekanizması geliştirmektedir. Bu nedenle de öncelikli patojenler arasında yer almaktadır [5].

2.10.3.5. *S. aureus*'ın Biyofilm Oluşturma Özellikleri

Diğer mikroorganizmalarda olduğu gibi *S. aureus*'un biyofilm oluşum süreci çeşitli mekanizmaları içerir. Bu biyofilm oluşum süreci iki aşamalıdır. İlk aşamada bakteriler, uygun yüzeylere, konak doku ligandları, mikrobiyal yapıştırıcı matris molekülleri olarak tanınan yüzey proteinleri ile tutunmayı gerçekleştirmektedir. İkinci aşamada ise, bakteriler diğer bakterilere tutunur ve çoğalarak biyofilm oluştururlar [5].

2.10.4. *Candida albicans*

Candida türleri genellikle deri ve mukoz membranlarda kolonizasyonunu gerçekleştiren maya türü mantarlardır. Sağlıklı bireylerin % 30 - 50' sinde ağız ve gastrointestinal kanaldan, sağlıklı kadınların % 20' sinde ise genital kanaldan izole edilebilirler [14].

2.10.4.1. *C. albicans*'ın Mikrobiyolojik Özellikleri

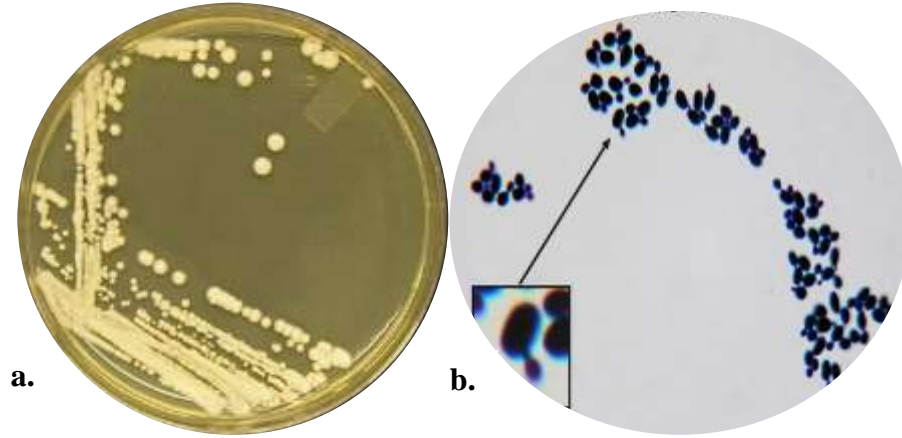
Candida'ların sınıflandırılmasında, 1987 yılında Berlin'de düzenlenen 14. Ulusal Botanik Kongresindeki mantar sınıflandırması baz alınmış olup *Candida*'lar, Deuteromycetes sınıfındaki Cryptococcales takımının içine konulmuştur [104]. *Candida* cinsinin sınıflandırılması Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. *Candida* cinsin sınıflandırılması [90].

| Sınıflandırma | |
|-----------------|-------------------|
| Alem | Fungi |
| Şube | Ascomycota |
| Sınıf | Saccharomycetes |
| Takım | Saccharomycetales |
| Familiya | Debaryomycetaceae |
| Cins | <i>Candida</i> |

Candida türleri oval, ince duvarlı, kapsülsüz, 1 - 3 x 4 - 6 µm boyutlarında, hareketsiz, fakültatif anaerob ve blastospor ile aseksüel olarak üreyen mayalardır [104]. Maya formu dışında, kültür ve dokularda yalancı hif veya gerçek hif oluşturabilirler. Tomurcuklanma sırasında meydana gelen uzantının ana hücreden ayrılmaması sonucu yalancı hifler oluşur. Ayrıca gerçek hifler boğumlanma göstermez, bölmeli ve düzgün kenarlıdır. *Candida* türlerinin çoğu yalancı hif oluşturur. *C. albicans* gerçek hif oluşturma özelliğine sahiptir [105].

Candida'ların çevresel saprofit olarak bulunan çok sayıda türü vardır. Bunların % 65'inden fazlası 37 °C'de üreyememektedir. Bu nedenle *Candida*'ların çok az bir kısmı insanlarda enfeksiyona neden olmaktadır [104]. *C. albicans*'ın kanlı agar besiyerindeki koloni yapıları ve gram boyama yöntemi sonrasındaki mikroskopi görüntüsü Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. *C. albicans*'ın (a) Sabouraud dekstroz agar besiyerindeki koloni morfolojisi ve (b) Gram boyama yöntemindeki görünümü [127].

Candidalar, kanlı agar ve Sabouraud Dekstroz Agarda (SDA), oda ısısında ve bazı türleri 37 °C'de üreyebilirler. Kültürü yapılan örneklerin 26 °C ve 37 °C'de ayrı ayrı inkübasyonu sonucunda 37 °C'de ürememe durumu saprofit bir tür olduğunu ortaya koyar. Ürettikleri ortamların % 30 - 40 oranında bir nem oranına sahip olması gerekir. Üreyebilmeleri için optimum pH'ın 4,5 - 5 olması gerekmektedir. 24 - 48 saat sonra SDA besiyerinde düzgün yüzeyli, opak, krem renkli, tipik maya kokusu olan, 1 - 2 mm çapta S tipi koloniler oluştururlar. Candida kolonileri, kendiliğinden S tipinden R tipine geçebilirler. Miçel miktarındaki artıştan dolayı R tipi kolonilerin oluşur. *C. albicans* SDA besiyerinde bazen buruşuk koloniler oluştururken kanlı agar besiyerinde ise kenarlarında yıldızlı uzantıları olan koloniler oluşturur [105].

2.10.4.2. *C. albicans*'ın Patogenez ve Virulans Faktörleri

Fırsatçı patojen olan *C. albicans*, çoğunlukla immün sistemi baskılanmış kişilerde akut veya kronik enfeksiyonlar oluşturabilmesinin yanında genellikle kutanöz, mukozal, veya cilt enfeksiyonlarına neden olurlar [104]. Genellikle enfeksiyondan önce florada bulunan mantar kolonizasyon ile sayıca artış gösterir ve kolonizasyondan sonra enfeksiyon tablosu oluşur [99].

Bazı Candida kökenlerinin fenotipik değişiklik gösterdiği saptanmıştır. Bu değişikliklerin virulans ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *C. albicans*'ın epitel yüzeylerine yapışmasını sağlayan en az üç yüzey adezyon molekülü

taşıdığı ve aspartil proteinaz ve hif oluşumu ile keratinize epitel arasında ilerlediği bilinmektedir [99]. Bunun yanında biyofilm yapısının *Candida* patogenezinde en önemli virulans faktörlerinden biri olduğu belirlenmiştir [14]. *C. albicans*'ın bazı önemli virulans faktörleri şunlardır :

Dimorfizm: *C. albicans* Belirli çevresel değişiklikler sonucunda maya formundan hif formuna geçebilir. İnvazyonun gerçekleşmesi için hif oluşumunun gerçekleşmesi gerekmektedir. Hif oluşumu bir taraftan dokuya penetrasyonu sağlarken, diğer taraftan mikroorganizmayı fagositozdan korur [104].

Aderans: *C. albicans*'ın dokulara yapışması invazyonun önemli bir aşamasıdır. Ayrıca kolonizasyon ve enfeksiyonda birinci basamağı oluşturur [104].

Fenotipik Dönüşüm (Switching) ve Antijenik Çeşitlilik: *C. albicans*, Birbiri ile ilişkisi olmayan birden fazla genin koordine bir şekilde regülasyonu sonucunda yüksek bir hızda (10^{-2} - 10^{-3}) farklı fenotipik şekiller arasında dönüşüm gösterebilir. Böylece hücre şekli, hücre duvar morfolojisi, koloni morfolojisi, aderans özellikleri, antijen ekspresyonu, doku afinitesi ve antifungal ilaçlara dirençlilik gibi birçok fenotipik karakter değişime uğrayabilir [104].

Enzimler: *Candida* türlerinde proteinaz, fosfolipaz, hyaluronidaz, esteraz, kitinaz, lipaz, glukoamilaz ve çeşitli glukolitik enzimler dokuya invazyonu sağlarlar [104].

Biyofilm: *Candida* türlerinin kateter üzerine yapışarak kolonizasyonu neticesinde hastane enfeksiyonlarına ve mantar enfeksiyonlarına sebep olduğu bilinmektedir. Kateterlere aderans ve kolonizasyonda biyofilm oluşumunun etkili olduğu gösterilmiştir [106].

2.10.4.3. *C. albicans*'ın Neden Olduğu Enfeksiyonlar

Normal florada bulunan *Candida* türleri immün sistemi baskılanmış hastalarda hayatı tehdit eden enfeksiyonlara yol açabilirler. *Candida*'lar içerisinde invaziv olmayan deri ve mukoza kandidozunda en sık izole edilen tür *C. albicans*'tır [106, 107].

Kandidoz, birçok *Candida* türünün neden olduğu ve immün sistemi baskılanmış kişilerde görülen en önemli enfeksiyondur [99]. *Candida* cinsi patojenik mantarlar; solid organ ve kemik iliği transplantasyonuna, implante biyomateryallere, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı ile normal bakteriyel floranın baskılanmasına ve immün yetmezlikli hasta sayılarındaki artışa bağlı olarak ciddi sistemik hastalık nedenleri arasında görülebilmektedir. Yüksek mortalite ve morbidite nedeni olan hastane kaynaklı kan akımı enfeksiyonlarında *Candida* türleri en sık görülen dört etkenden biridir [105].

2.10.4.4. *C. albicans*'ın Antimikrobiyallere Direnç Mekanizmaları

Candida biyofilminin antifungallere direnci ilk olarak 1995 yılında gösterilmiştir. Çalışmada *Candida* biyofilmi, serbest hücrelere göre amfoterisin B, itrakonazol, flukonazol, ketakonazol gibi çeşitli antifungalere 30 ile 2000 kat kadar daha dirençli bulunmuştur. Biyofilmlerin antifungal ilaçlara daha dirençli olmasında antifungal ilaçların biyofilm matriksine iyi penetre olamaması, biyofilm içindeki hücrelerin daha yavaş üremesi ve biyofilme bağlı hücrelerin yüzeyindeki değişikliklerin rol oynadığı düşünülmektedir. Biyofilm içindeki hücrelerin büyüme hızları düşük olsa da, antifungal direnci açıklamak için tek başına yeterli değildir [14].

2.10.4.5. *C. albicans*'ın Biyofilm Oluşturma Özellikleri

Birçok *Candida* türü biyofilm yapısını oluşturabilmektedir. Biyofilm yapısı *Candida* patogenezinde major virulans faktörüdür ve yüksek antifungal direnç nedeniyle *Candida* biyofilminin eradikasyonu zordur [14]. *C. albicans* biyofilmleri bakteriyel biyofilmlere benzemektedir fakat *C. albicans* biyofilm yapısı yüksek oranda biyofilmin olduğu ortamın şartlarına bağlıdır. Biyofilmin yapısı *Candida* türüne göre de farklılık gösterebilmektedir [108, 109].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Araştırma, tanımlayıcı araştırma özelliğindedir.

3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Özellikleri

Bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi servislerinde ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalardan gönderilen çeşitli klinik örneklerden yapılan kültürlerde üreyen *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans*'ın tanımlamasının ardından izole edilen bu mikroorganizmaların Christensen ve arkadaşlarının tanımladığı mikrotitre plak test yöntemi kullanılarak biyofilm formasyonları incelenmiştir [110].

Laboratuvara servis ve yoğun bakım ünitelerinden gönderilen klinik örnekler özelliklerine uygun olarak % 5 koyun kanlı agar (Becton Dickinson, ABD), Eosin Metilen Blue (EMB) agar (Becton Dickinson, ABD), ve Çukulatamsı agar (Becton Dickinson, ABD) besiyerlerinden bir veya birkaçına ekilerek 36 ± 1 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda mikroorganizmalar koloni morfolojisi, Gram boyama ve konvansiyonel test yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Maya olduğu anlaşılan mikroorganizmaların Saboraud dekstroz agara (Becton Dickinson, ABD) pasajları yapılmıştır. Mikroorganizmalar Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) cihazı kullanılarak matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi yöntemi ile üretici firma çalışma prosedürlerine göre tanımlanmıştır. Tanımlanan suşların antimikrobiyal duyarlılık testleri Phoenix 100® (Becton Dickinson, ABD) cihazı kullanılarak; Gram pozitif bakteriler için gram pozitif test panelleri (PMIC/ID-70®, Becton Dickinson, ABD), Gram negatif bakteriler için Gram negatif test panelleri (NMIC/ID-82® ve UNMIC/ID-83®, Becton Dickinson, ABD) kullanılarak üretici firma çalışma prosedürlerine göre yapılmıştır. *P. aeruginosa*'nın amikasin, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, meropenem, aztreonam, sefepim, seftazidim ve piperasilin / tazobaktama karşı anitimikrobiyal duyarlılıkları test edilmiştir. *A. baumannii*'nin amikasin,

siprofloksasin, kolistin, gentamisin, imipenem, meropenem, netilmisin ve trimetoprim / sülfometoksazole karşı anitimikrobiyal duyarlılıkları test edilmiştir. *S. aureus*'un siprofloksasin, gentamisin, klindamisin, eritromisin, levofloksasin, metisilin, trimetoprim/ sülfometoksazol, teikoplanin, tetrasiklin, tobramisin ve vankomisine karşı anitimikrobiyal duyarlılıkları test edilmiştir. Maya örneklerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ise Candifast (Elitechgroup, Fransa) test kitleri kullanılarak yine üretici firma çalışma prosedürlerine göre yapılmıştır. *C. albicans*'ın amfoterisin B, flukonazol, ketokonazol, mikonazol, 5-fluorositozin ve itrakonazole karşı anitimikrobiyal duyarlılıkları test edilmiştir. Çalışmamızda cihazların ve test panellerinin kontrolü için *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Candida albicans* ATCC 10231 standart suşları kullanılmıştır.

3.3. Araştırmanın Evreni

Araştırmanın evrenini Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran ve yatarak tedavi gören hastalar oluşturmaktadır.

3.4. Araştırmanın Örnekleme

Bu araştırmada kullanılan örneklem büyüklüğü güç analizi $\alpha = 0,05$, $\beta = 0,10$ ve $(1 - \beta) = 0,90$ olarak alındığında 25'er *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* alınmasına karar verilmiş ve testin gücü power = 0,9038 olarak bulunmuştur.

3.5. Bağımlı ve Bağımsız Değişkenler

Bağımsız Değişkenler:

A. baumannii, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* suşları

Bağımlı Değişkenler:

Her bir suşun biyofilm formasyon aktivitesi ve antibiyotik dirençliliği

3.6. Verilerin Toplanması

Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* suşları, Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi servislerinde ve yoğun bakım ünitelerinde yatan hastaların çeşitli örneklerinden izole edilmiştir. Çalışmada her bir mikroorganizmadan 25'er olmak üzere toplamda 100 adet suş kullanılmıştır. *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* suşları mikrosantrifüj tüplerinin içinde süt ile karıştırılarak -20 °C'de saklanmıştır.

Besiyerleri

Kanlı Agar Besiyeri

Tablo 7. Kanlı agar besiyeri içeriği

| Kanlı Agar Bileşimi (Becton Dickinson, ABD) | g/L |
|--|------------|
| Kazein pankreatik özeti | 12 |
| Hayvan dokularının peptik özeti | 5 |
| Maya özeti | 3 |
| Sığır eti özeti | 3 |
| Mısır nişastası | 1 |
| NaCl | 5 |
| Agar | 13,5 |

Dehidre besiyeri 42,5 g/L olacak şekilde saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve ısıtılarak eritilmiştir. pH 7,3 ± 0,2'e ayarlanmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra defibrine koyun kanından 50 ml eklenerek karıştırılıp plaklara dağıtılmıştır.

Eosin Metilen Blue (EMB) Agar Besiyeri

Tablo 8. Eosin Metilen Blue (EMB) agar besiyeri içeriği

| EMB Agar Bileşimi (Becton Dickinson, ABD) | g/L |
|---|-------|
| Jelatinin pankreatik özeti | 10 |
| Laktoz | 5 |
| Sükroz | 5 |
| K ₂ HPO ₄ | 2 |
| Agar | 13,5 |
| Eosin Y | 0,4 |
| Metilen Mavisi | 0,065 |

Dehidre besiyeri 35,965 g/L olacak şekilde saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve ısıtılarak eritilmiştir. pH 7,1 \pm 0,2'e ayarlanmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilerek petri kutularına dağıtılmıştır.

Sabouraud Dekstroz Agar Besiyeri

Tablo 9. Sabouraud Dekstroz Agar besiyerinin içeriği

| SDA Bileşimi (Becton Dickinson, ABD) | g/L |
|--------------------------------------|-----|
| Kazein pankreatik özeti | 5 |
| Hayvan dokularının peptik özeti | 5 |
| Dekstroz | 40 |
| Agar | 15 |

Dehidre besiyeri 65 g/L olacak şekilde saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve ısıtılarak çözdürölmüştür. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilerek steril tüp ve petri kutularına dağıtılmıştır. pH'sı 25 °C'de 5,6 \pm 0,2 olarak ayarlanmıştır.

Triptik Soya Buyyon

Tablo 10. Triptik Soya Buyyon besiyerinin içeriği

| TSB Bileşimi (Becton Dickinson, ABD) | g/L |
|---|------------|
| Kazein pankreatik özeti | 17 |
| Soya fasulyesi yemeği papaik özeti | 3 |
| NaCl | 5 |
| Dekstroz | 2,5 |
| K ₂ HPO ₄ | 2,5 |

Dehidre besiyeri 30 g/L olacak şekilde saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmış ve pH $7,3 \pm 0,2$ 'e ayarlanmıştır. Sterilizasyon işlemi için otoklavda 15 dakika 121 °C'de bekletilmiş ve soğuduktan sonra burgu kapaklı tüplere dağıtılmıştır.

Çözeltiler

PBS (Fosfat Salin Tamponu)

Tablo 11. Fosfat Tamponunun içeriği

| İçerik | g/L |
|----------------------------------|------------|
| NaCl | 8 |
| KCl | 0,2 |
| Na ₂ HPO ₄ | 1,44 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,24 |

Saf su ile 1000 ml'ye tamamlanarak sterilizasyon işlemi için otoklavda 15 dakika 121 °C'de bekletilmiştir.

Kristal Viyole Boya Çözeltisi

Tablo 12. Kristal Viyole boya çözeltisinin içeriği

| İçerik | g/100ml |
|-----------------------|----------------|
| Kristal Viyole | 1 |
| Fenol (karbonik) asit | 2 |
| Absol (etil) alkol | 10 |

Kristal viyole alkolle havanda iyice ezilmiştir. Fenol (karbonik) asit ise distile suda eritildikten sonra ezilmiş kristal viyole eriyiğine eklenmiştir. Distile su ile hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır. İki saat manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 24 saat karanlık odada bekletilmiştir. Ertesi gün süzülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Biyofilm Oluşturma Yöntemi

Buzdolabında -20 °C'de saklanan 100 adet suş, kanlı agar besiyerine pasajlanarak 37 °C'de 24 saat boyunca, maya suşları ise SDA besiyerine pasajlanarak 37 °C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Çalışmada kullanılan suşlar, % 0,25 glukoz içeren TSB içinde süspansiyon haline getirilerek 37 °C'de bir gece inkübe edilmiştir. Süspansiyonlar 0,5 McFarland ölçüsüne göre hazırlanmış ve her birinin 10^8 cfu/ml olması sağlanmıştır.

Her bir süspansiyondan 200µl alınarak 96 kuyucuklu steril U tabanlı mikropklara transfer edilmiştir. Mikroorganizma eklenmemiş 200 µl TSB negatif kontrol olarak kullanılmıştır (Şekil 8).



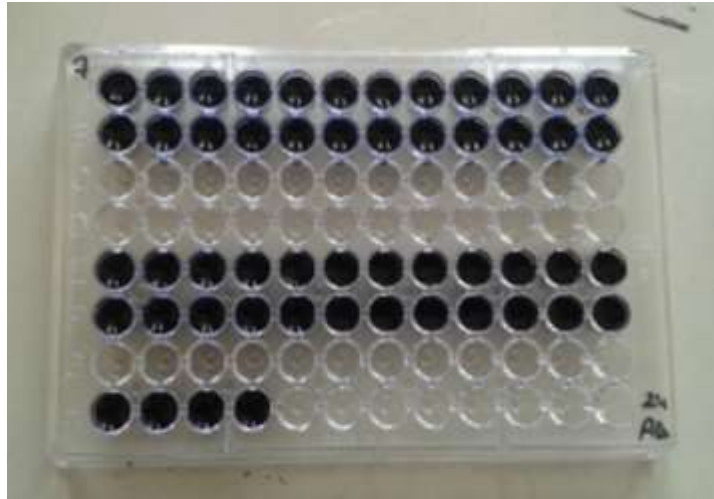
Şekil 8. Mikroorganizma süspansiyonları eklenmiş 96 kuyucuklu steril U tabanlı polistren mikropklak

Süspansiyon ilave edilmiş 96 kuyucuklu mikrolaklar 37 °C'de bir gece inkübe edilmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. 37 °C'de bir gece inkübe edilen mikrolak

Kuyucuklardaki planktonik hücreleri ortamdan uzaklaştırmak için kuyucuklar yavaşça boşaltılarak iki kez PBS ile yıkanmıştır. Oda sıcaklığında kuruyan kuyucuklara 200 µl % 0,1'lik kristal viyole eklenerek oluşan biyo filmler boyanmıştır (Şekil 10).



Şekil 10. % 0,1'lik Kristal viyole eklenmiş mikrolak

30 dakika beklendikten sonra, kuyucuklar bir defa daha PBS ile iki kez yıkanarak boşaltılmıştır (Şekil 11).



Şekil 11. PBS ile yıkanan mikroplak

Oda sıcaklığında kuruyan kuyucuklara % 95'lik etanol eklenerek Triturus mikro ELISA (Norcross, GA, ABD) cihazında 550 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. Biyofilm oluşumları Chusri ve arkadaşları tarafından bildirilen ve Tablo 13'te gösterilen negatif kontrol absorbans değerine dayalı ölçüğe göre değerlendirilmiştir [111].

Tablo 13. Mikroorganizmaların biyofilm formasyonları için değerlendirme ölçüğü

| | | |
|-------------------------------|----------------------|-----|
| OD cont > OD MB | Nonadhere | 0 |
| OD cont < OD MB < 2 OD cont | Zayıf Adhere | I |
| 2 OD cont < OD MB < 4 OD cont | Orta Derecede Adhere | II |
| 4 OD cont < OD MB | Güçlü Adhere | III |

OD: Optik Dansite, OD MB: Mikroorganizma Biyofilminin Optik Dansitesi,
Adherent: Biyofilm oluşturma düzeyi.

Çalışma her suş için üç tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Biyofilm ölçümlenmesi her üç tekrardan alınan OD değerlerinin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Çalışmamızda biyofilm formasyon aktiviteleri incelenen mikroorganizma suşlarının antibiyotiklere olan direnç durumları da

araştırılmıştır. Mikroorganizma suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profilini incelemek için ‘Clinical Laboratory Standards Institute’ (CLSI) kriterleri kullanılmıştır [112].

3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmanın istatistiksel değerlendirmesinde, elde edilen veriler SPSS (ver 22.0) programına yüklenmiş, parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinden dolayı Khi-Kare testi kullanılıp yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

3.8. Araştırmanın Etik Yönü

Araştırmanın her aşaması etik ilkelere uygun olarak yürütülmüştür. Uygulamaya geçmeden önce klinik araştırmalar etik kurulundan (20.01.2016 tarihli, 2016 - 01/13 sayılı) yazılı izin alınmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızda hastane enfeksiyonlarına sıklıkla neden olan *C.albicans*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii* ve *S.aureus*'un biyofilm oluşturabilme özellikleri araştırılmıştır ve yüksek düzeyde biyofilm oluşturabildikleri tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmalara ait biyofilm formasyon oranları Tablo 14'te verilmiştir.

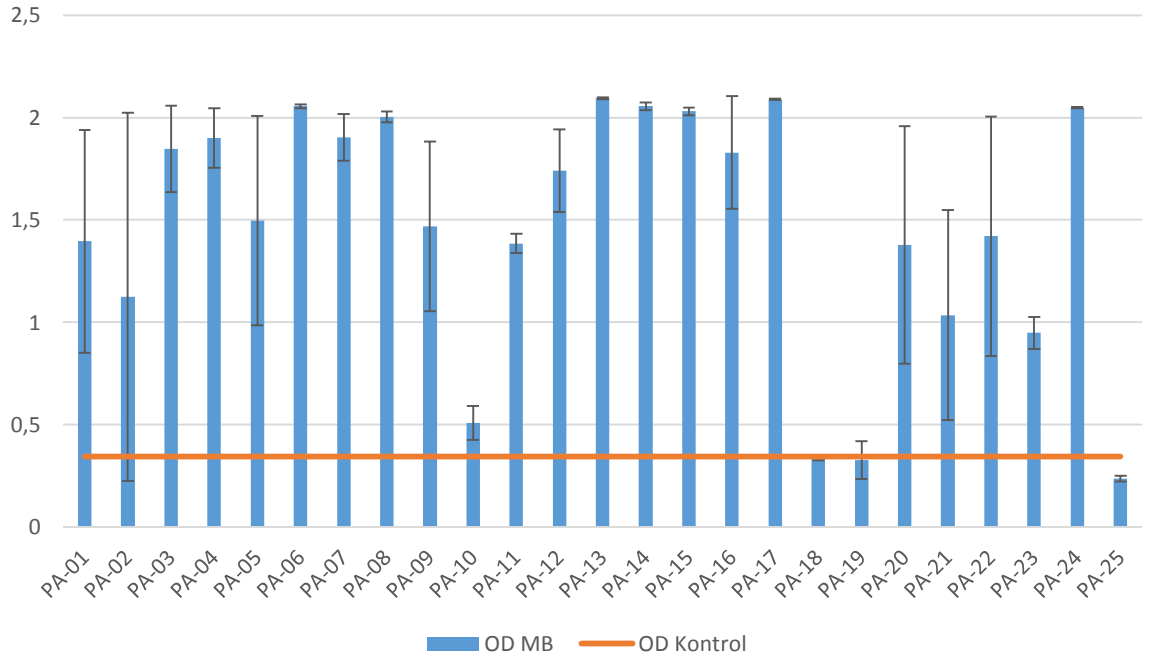
Tablo 14. Hastane enfeksiyonlarına sıklıkla neden olan bazı mikroorganizmaların biyofilm oluşturabilme oranları

| M.organizmalar (s) | Biyofilm | | | | | p |
|---------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------|-----------------------|--------|
| | Oluşturan | | | Toplam s (%) | Oluşturmayan s (%) | |
| | Güçlü Biyofilm s | Orta Biyofilm s | Zayıf Biyofilm s | | | |
| <i>C. albicans</i> (25) | 1 | 10 | 8 | 19 (76) | 6 (24) | 0,0001 |
| <i>P. aeruginosa</i> (25) | 18 | 3 | 1 | 22 (88) | 3 (12) | 0,0001 |
| <i>A. baumannii</i> (25) | 22 | 3 | 0 | 25 (100) | 0 (0) | 0,0001 |
| <i>S. aureus</i> (25) | 8 | 10 | 5 | 23 (92) | 2 (8) | 0,0001 |
| Toplam (100) | 49 | 26 | 14 | 89 | 11 | |
| s : Sayı | | | | | | |

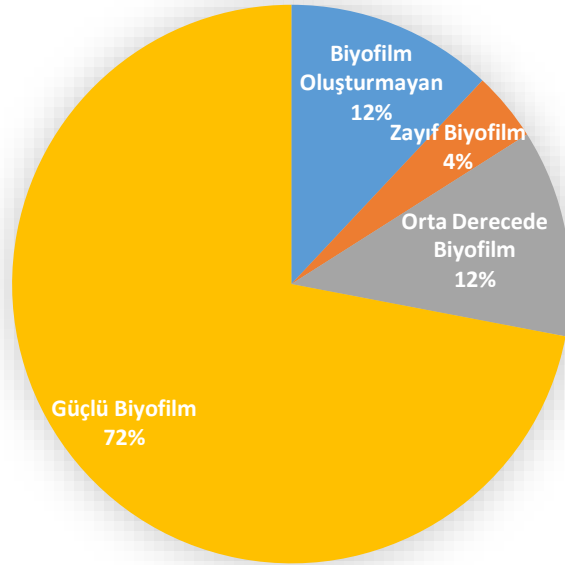
Çalışmamızda değerlendirdiğimiz suşlardan hazırlanan süspansiyonlar üç tekrarlı olarak çalışılmış ve elde edilen OD değerlerinin ortalaması alınarak mikroorganizmaların biyofilm formasyon aktiviteleri belirlenmiştir. Mikroorganizmalara karşı elde edilen OD değerleri ve biyofilm formasyon aktiviteleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde ayrı ayrı verilmiştir (Tablo 15, 16, 17, 18).

Tablo 15. *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri

| Mikroorganizmalar | OD Kontrol | OD MB | Biyofilm Derecesi |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------------|
| | Ao. OD ± SD | Ao. OD ± SD | |
| <i>P.aeruginosa</i> -01 | 0,344 ± 0,282 | 1,395 ± 0,543 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -02 | 0,344 ± 0,282 | 1,125 ± 0,900 | II |
| <i>P.aeruginosa</i> -03 | 0,344 ± 0,282 | 1,848 ± 0,211 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -04 | 0,344 ± 0,282 | 1,899 ± 0,145 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -05 | 0,344 ± 0,282 | 1,496 ± 0,512 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -06 | 0,344 ± 0,282 | 2,055 ± 0,010 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -07 | 0,344 ± 0,282 | 1,903 ± 0,113 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -08 | 0,344 ± 0,282 | 2,004 ± 0,026 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -09 | 0,344 ± 0,282 | 1,468 ± 0,414 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -10 | 0,344 ± 0,282 | 0,508 ± 0,082 | I |
| <i>P.aeruginosa</i> -11 | 0,344 ± 0,282 | 1,385 ± 0,046 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -12 | 0,344 ± 0,282 | 1,740 ± 0,202 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -13 | 0,344 ± 0,282 | 2,094 ± 0,004 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -14 | 0,344 ± 0,282 | 2,055 ± 0,019 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -15 | 0,344 ± 0,282 | 2,030 ± 0,020 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -16 | 0,344 ± 0,282 | 1,829 ± 0,275 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -17 | 0,344 ± 0,282 | 2,089 ± 0,002 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -18 | 0,344 ± 0,282 | 0,334 ± 0,010 | 0 |
| <i>P.aeruginosa</i> -19 | 0,344 ± 0,282 | 0,326 ± 0,092 | 0 |
| <i>P.aeruginosa</i> -20 | 0,344 ± 0,282 | 1,378 ± 0,581 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -21 | 0,344 ± 0,282 | 1,035 ± 0,512 | II |
| <i>P.aeruginosa</i> -22 | 0,344 ± 0,282 | 1,421 ± 0,585 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -23 | 0,344 ± 0,282 | 0,948 ± 0,078 | II |
| <i>P.aeruginosa</i> -24 | 0,344 ± 0,282 | 2,048 ± 0,004 | III |
| <i>P.aeruginosa</i> -25 | 0,344 ± 0,282 | 0,236 ± 0,013 | 0 |



Şekil 12. *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm-OD grafiği

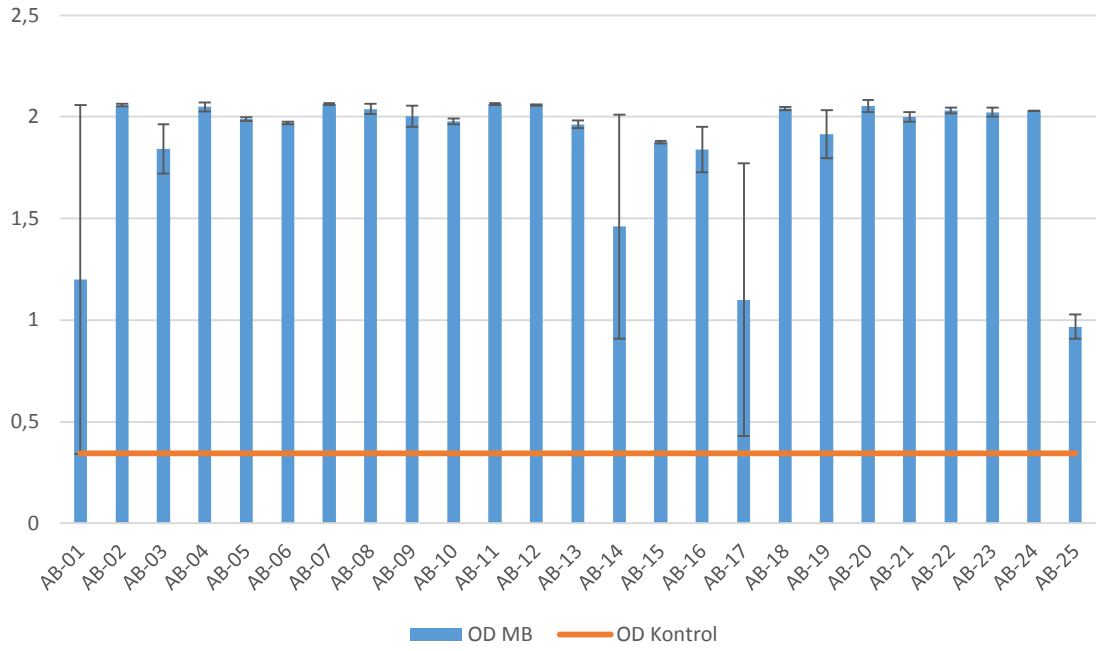


■ Biyofilm Oluşturmayan ■ Zayıf Biyofilm ■ Orta Derecede Biyofilm ■ Güçlü Biyofilm

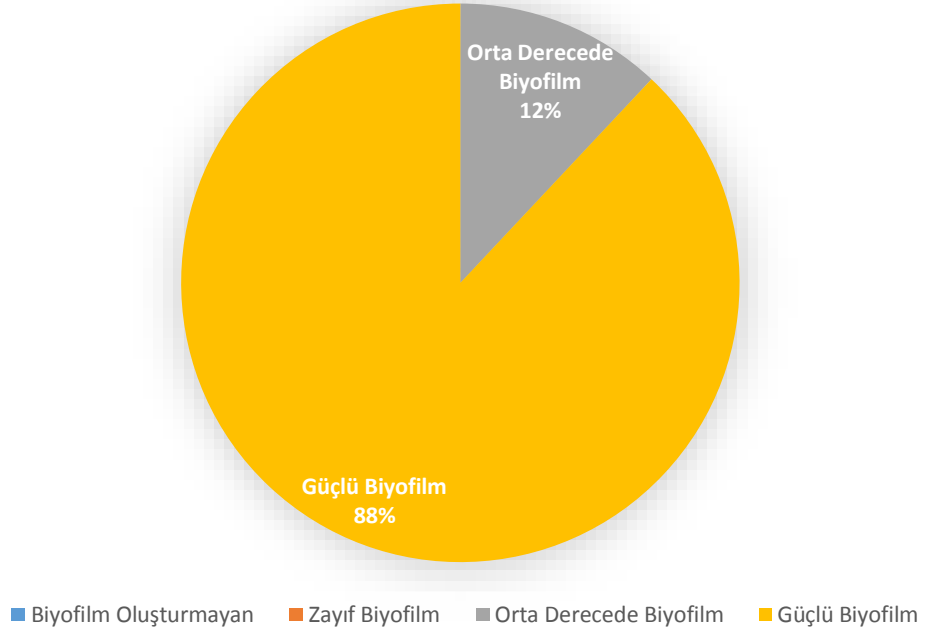
Şekil 13. *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm dereceleri grafiği

Tablo 16. *A. baumannii* suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri

| Mikroorganizmalar | OD Kontrol | OD MB | Biyofilm Derecesi |
|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Ao. OD \pm SD | Ao. OD \pm SD | |
| <i>A.baumannii</i> -01 | 0,344 \pm 0,282 | 1,199 \pm 0,858 | II |
| <i>A.baumannii</i> -02 | 0,344 \pm 0,282 | 2,058 \pm 0,006 | III |
| <i>A.baumannii</i> -03 | 0,344 \pm 0,282 | 1,843 \pm 0,121 | III |
| <i>A.baumannii</i> -04 | 0,344 \pm 0,282 | 2,049 \pm 0,023 | III |
| <i>A.baumannii</i> -05 | 0,344 \pm 0,282 | 1,989 \pm 0,010 | III |
| <i>A.baumannii</i> -06 | 0,344 \pm 0,282 | 1,970 \pm 0,005 | III |
| <i>A.baumannii</i> -07 | 0,344 \pm 0,282 | 2,063 \pm 0,004 | III |
| <i>A.baumannii</i> -08 | 0,344 \pm 0,282 | 2,039 \pm 0,024 | III |
| <i>A.baumannii</i> -09 | 0,344 \pm 0,282 | 2,003 \pm 0,053 | III |
| <i>A.baumannii</i> -10 | 0,344 \pm 0,282 | 1,979 \pm 0,014 | III |
| <i>A.baumannii</i> -11 | 0,344 \pm 0,282 | 2,063 \pm 0,006 | III |
| <i>A.baumannii</i> -12 | 0,344 \pm 0,282 | 2,057 \pm 0,003 | III |
| <i>A.baumannii</i> -13 | 0,344 \pm 0,282 | 1,963 \pm 0,018 | III |
| <i>A.baumannii</i> -14 | 0,344 \pm 0,282 | 1,460 \pm 0,552 | III |
| <i>A.baumannii</i> -15 | 0,344 \pm 0,282 | 1,876 \pm 0,007 | III |
| <i>A.baumannii</i> -16 | 0,344 \pm 0,282 | 1,840 \pm 0,112 | III |
| <i>A.baumannii</i> -17 | 0,344 \pm 0,282 | 1,100 \pm 0,670 | II |
| <i>A.baumannii</i> -18 | 0,344 \pm 0,282 | 2,040 \pm 0,008 | III |
| <i>A.baumannii</i> -19 | 0,344 \pm 0,282 | 1,915 \pm 0,119 | III |
| <i>A.baumannii</i> -20 | 0,344 \pm 0,282 | 2,053 \pm 0,029 | III |
| <i>A.baumannii</i> -21 | 0,344 \pm 0,282 | 2,000 \pm 0,024 | III |
| <i>A.baumannii</i> -22 | 0,344 \pm 0,282 | 2,030 \pm 0,014 | III |
| <i>A.baumannii</i> -23 | 0,344 \pm 0,282 | 2,023 \pm 0,021 | III |
| <i>A.baumannii</i> -24 | 0,344 \pm 0,282 | 2,030 \pm 0,001 | III |
| <i>A.baumannii</i> -25 | 0,344 \pm 0,282 | 0,968 \pm 0,060 | II |



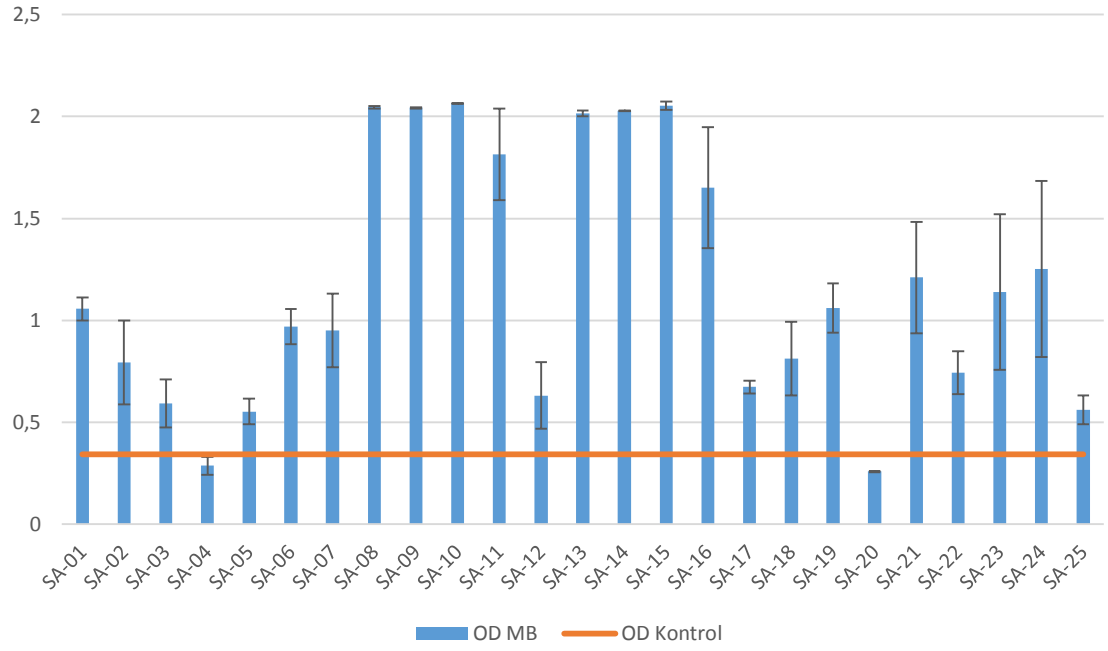
Şekil 14. *A. baumannii* suşlarının biyofilm-OD grafiği



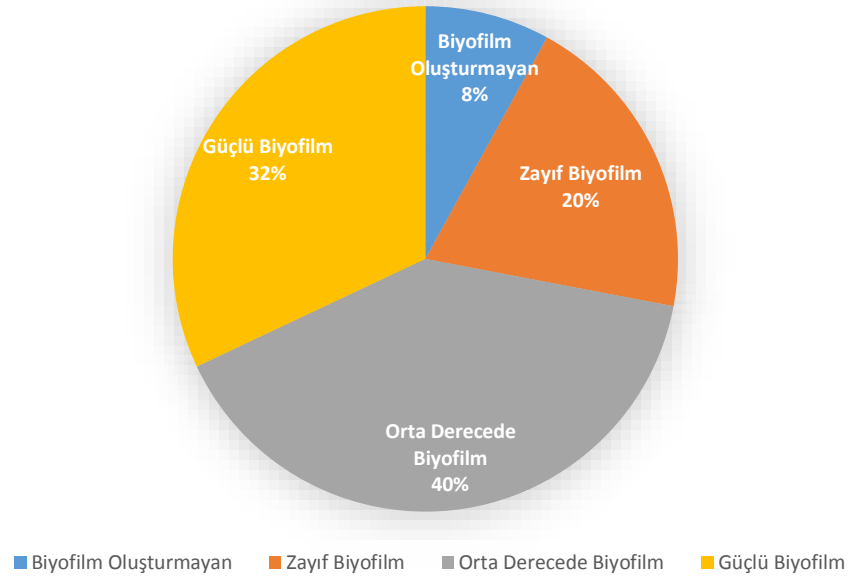
Şekil 15. *A. baumannii* suşlarının biyofilm dereceleri grafiği

Tablo 17. *S. aureus* suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri

| Mikroorganizmalar | OD Kontrol | OD MB | Biyofilm Derecesi |
|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Ao. OD \pm SD | Ao. OD \pm SD | |
| <i>S. aureus</i> -01 | 0,344 \pm 0,282 | 1,056 \pm 0,056 | II |
| <i>S. aureus</i> -02 | 0,344 \pm 0,282 | 0,793 \pm 0,206 | II |
| <i>S. aureus</i> -03 | 0,344 \pm 0,282 | 0,594 \pm 0,118 | I |
| <i>S. aureus</i> -04 | 0,344 \pm 0,282 | 0,288 \pm 0,044 | 0 |
| <i>S. aureus</i> -05 | 0,344 \pm 0,282 | 0,553 \pm 0,063 | I |
| <i>S. aureus</i> -06 | 0,344 \pm 0,282 | 0,969 \pm 0,087 | II |
| <i>S. aureus</i> -07 | 0,344 \pm 0,282 | 0,950 \pm 0,180 | II |
| <i>S. aureus</i> -08 | 0,344 \pm 0,282 | 2,045 \pm 0,007 | III |
| <i>S. aureus</i> -09 | 0,344 \pm 0,282 | 2,042 \pm 0,004 | III |
| <i>S. aureus</i> -10 | 0,344 \pm 0,282 | 2,063 \pm 0,000 | III |
| <i>S. aureus</i> -11 | 0,344 \pm 0,282 | 1,813 \pm 0,225 | III |
| <i>S. aureus</i> -12 | 0,344 \pm 0,282 | 0,632 \pm 0,162 | I |
| <i>S. aureus</i> -13 | 0,344 \pm 0,282 | 2,015 \pm 0,015 | III |
| <i>S. aureus</i> -14 | 0,344 \pm 0,282 | 2,028 \pm 0,001 | III |
| <i>S. aureus</i> -15 | 0,344 \pm 0,282 | 2,053 \pm 0,021 | III |
| <i>S. aureus</i> -16 | 0,344 \pm 0,282 | 1,651 \pm 0,297 | III |
| <i>S. aureus</i> -17 | 0,344 \pm 0,282 | 0,673 \pm 0,032 | I |
| <i>S. aureus</i> -18 | 0,344 \pm 0,282 | 0,813 \pm 0,181 | II |
| <i>S. aureus</i> -19 | 0,344 \pm 0,282 | 1,062 \pm 0,121 | II |
| <i>S. aureus</i> -20 | 0,344 \pm 0,282 | 0,260 \pm 0,003 | 0 |
| <i>S. aureus</i> -21 | 0,344 \pm 0,282 | 1,210 \pm 0,273 | II |
| <i>S. aureus</i> -22 | 0,344 \pm 0,282 | 0,743 \pm 0,106 | II |
| <i>S. aureus</i> -23 | 0,344 \pm 0,282 | 1,138 \pm 0,381 | II |
| <i>S. aureus</i> -24 | 0,344 \pm 0,282 | 1,252 \pm 0,433 | II |
| <i>S. aureus</i> -25 | 0,344 \pm 0,282 | 0,561 \pm 0,07 | I |



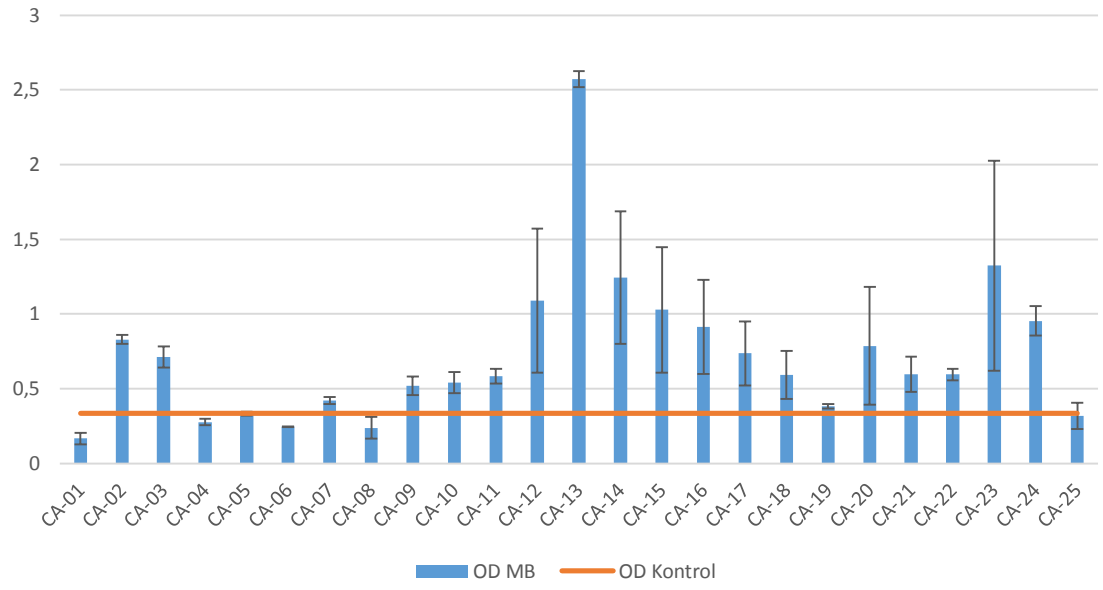
Şekil 16. *S. aureus* suşlarının biyofilm-OD grafiği



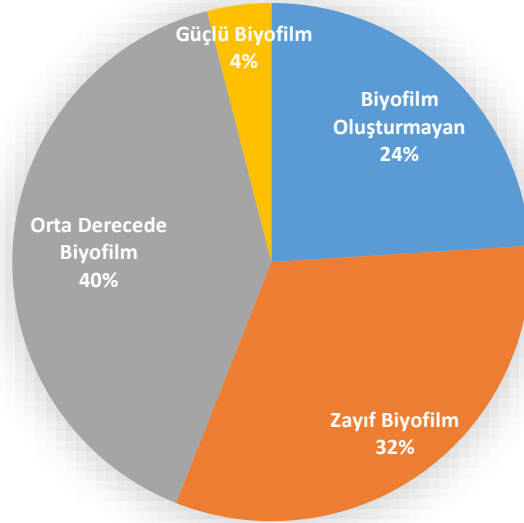
Şekil 17. *S. aureus* suşlarının biyofilm dereceleri grafiği

Tablo 18. *C. albicans* suşlarının biyofilm formasyon aktiviteleri

| Mikroorganizmalar | OD Kontrol | OD MB | Biyofilm Derecesi |
|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Ao. OD \pm SD | Ao. OD \pm SD | |
| <i>C. albicans</i> -01 | 0,336 \pm 0,162 | 0,167 \pm 0,039 | 0 |
| <i>C. albicans</i> -02 | 0,336 \pm 0,162 | 0,830 \pm 0,029 | II |
| <i>C. albicans</i> -03 | 0,336 \pm 0,162 | 0,712 \pm 0,071 | II |
| <i>C. albicans</i> -04 | 0,336 \pm 0,162 | 0,277 \pm 0,021 | 0 |
| <i>C. albicans</i> -05 | 0,336 \pm 0,162 | 0,333 \pm 0,014 | 0 |
| <i>C. albicans</i> -06 | 0,336 \pm 0,162 | 0,245 \pm 0,003 | 0 |
| <i>C. albicans</i> -07 | 0,336 \pm 0,162 | 0,421 \pm 0,024 | I |
| <i>C. albicans</i> -08 | 0,336 \pm 0,162 | 0,239 \pm 0,072 | 0 |
| <i>C. albicans</i> -09 | 0,336 \pm 0,162 | 0,520 \pm 0,061 | I |
| <i>C. albicans</i> -10 | 0,336 \pm 0,162 | 0,541 \pm 0,070 | I |
| <i>C. albicans</i> -11 | 0,336 \pm 0,162 | 0,584 \pm 0,051 | I |
| <i>C. albicans</i> -12 | 0,336 \pm 0,162 | 1,091 \pm 0,483 | II |
| <i>C. albicans</i> -13 | 0,336 \pm 0,162 | 2,572 \pm 0,052 | III |
| <i>C. albicans</i> -14 | 0,336 \pm 0,162 | 1,244 \pm 0,445 | II |
| <i>C. albicans</i> -15 | 0,336 \pm 0,162 | 1,029 \pm 0,420 | II |
| <i>C. albicans</i> -16 | 0,336 \pm 0,162 | 0,914 \pm 0,314 | II |
| <i>C. albicans</i> -17 | 0,336 \pm 0,162 | 0,737 \pm 0,215 | II |
| <i>C. albicans</i> -18 | 0,336 \pm 0,162 | 0,592 \pm 0,161 | I |
| <i>C. albicans</i> -19 | 0,336 \pm 0,162 | 0,383 \pm 0,014 | I |
| <i>C. albicans</i> -20 | 0,336 \pm 0,162 | 0,787 \pm 0,393 | II |
| <i>C. albicans</i> -21 | 0,336 \pm 0,162 | 0,598 \pm 0,118 | I |
| <i>C. albicans</i> -22 | 0,336 \pm 0,162 | 0,595 \pm 0,038 | I |
| <i>C. albicans</i> -23 | 0,336 \pm 0,162 | 1,325 \pm 0,703 | II |
| <i>C. albicans</i> -24 | 0,336 \pm 0,162 | 0,954 \pm 0,098 | II |
| <i>C. albicans</i> -25 | 0,336 \pm 0,162 | 0,318 \pm 0,088 | 0 |



Şekil 18. *C. albicans* suşlarının biyofilm-OD grafiği



■ Biyofilm Oluşturmayan ■ Zayıf Biyofilm ■ Orta Derecede Biyofilm ■ Güçlü Biyofilm

Şekil 19. *C. albicans* suşlarının biyofilm dereceleri grafiği

Çalışmamızda biyofilm formasyon aktiviteleri incelenen suşların antibiyotiklere olan direnç durumları da araştırılmıştır. *P. aeruginosa* suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili incelendiğinde antibiyotiklere direnç oranları yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak karşılaştırıldığında bu farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$). *P. aeruginosa* suşlarında biyofilm oluşum formasyonuna göre antibiyotiklere direnç profili Tablo 19’da verilmiştir.

Tablo 19. *P. aeruginosa* suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]

| Antibiyotikler | Biyofilm Oluşturan s = 22 | | | | | | Biyofilm Oluşturmayan s = 3 | | | |
|-----------------------------|------------------------------|--------------|---------------------------|-------------|----------------------------|------------|--------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| | Güçlü Biyofilm s = 18 | | Orta Biyofilm s = 3 | | Zayıf Biyofilm s = 1 | | Toplam s = 22 | | | |
| | DC | DY | DC | DY | DC | DY | DC | DY | DC | DY |
| Amikasin | 1 (5,5) | 17 (94,5) | 0 (0) | 3 (100) | 0 (0) | 1 (100) | 1 (4,5) | 21 (95,5) | 0 (0) | 3 (100) |
| Siprofloksasin | 5 (27,8) | 13 (72,2) | 0 (0) | 3 (100) | 0 (0) | 1 (100) | 5 (22,7) | 17 (77,3) | 0 (0) | 3 (100) |
| Gentamisin | 2 (11,1) | 16 (88,9) | 0 (0) | 3 (100) | 0 (0) | 1 (100) | 2 (9,1) | 20 (90,9) | 0 (0) | 3 (100) |
| İmipenem | 9 (50) | 9 (50) | 1 (33,3) | 2 (66,7) | 0 (0) | 1 (100) | 10 (45,5) | 12 (54,5) | 0 (0) | 3 (100) |
| Meropenem | 10 (55,6) | 8 (44,4) | 1 (33,3) | 2 (66,7) | 0 (0) | 1 (100) | 11 (50) | 11 (50) | 0 (0) | 3 (100) |
| Aztreonam | 17 (94,5) | 1 (5,5) | 3 (100) | 0 (0) | 1 (100) | 0 (0) | 21 (95,5) | 1 (4,5) | 3 (100) | 0 (0) |
| Sefepim | 4 (22,2) | 14 (77,8) | 0 (0) | 3 (100) | 0 (0) | 1 (100) | 4 (18,2) | 18 (81,8) | 1 (33,3) | 2 (66,7) |
| Seftazidim | 2 (11,1) | 16 (88,9) | 1 (33,3) | 2 (66,7) | 0 (0) | 1 (100) | 3 (13,6) | 19 (86,4) | 1 (33,3) | 2 (66,7) |
| Piperasilin / Tazobaktam | 4 (22,2) | 14 (77,8) | 1 (33,3) | 2 (66,7) | 0 (0) | 1 (100) | 5 (22,7) | 17 (77,3) | 1 (33,3) | 2 (66,7) |

$X^2=0.931$, $p=0.335$

DC : Dirençli, DY : Duyarlı, s=Sayı

A. baumannii suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili incelendiğinde tüm suşların biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Tümü biyofilm oluşturan bu suşlarda direnç oranları yüksek görünmektedir. *A. baumannii* suşlarında biyofilm oluşum formasyonuna göre antibiyotiklere direnç profili Tablo 20’de verilmiştir.

Tablo 20. *A. baumannii* suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]

| Antibiyotikler | Biyofilm Oluşturan | | | | | |
|----------------------------------|--------------------------|-------------|------------------------|-------------|------------------|-------------|
| | Güçlü Biyofilm s = 22 | | Orta Biyofilm s = 3 | | Toplam s = 25 | |
| | DC | DY | DC | DY | DC | DY |
| Amikasin | 19 (86,4) | 3 (13,6) | 2 (66,7) | 1 (33,3) | 21 (84) | 4 (16) |
| Siprofloksasin | 20 (90,9) | 2 (9,1) | 3 (100) | 0 (0) | 23 (92) | 2 (8) |
| Kolistin | 0 (0) | 22 (100) | 0 (0) | 3 (100) | 0 (0) | 25 (100) |
| Gentamisin | 19 (86,4) | 3 (13,6) | 3 (100) | 0 (0) | 22 (88) | 3 (12) |
| İmipenem | 20 (90,9) | 2 (9,1) | 3 (100) | 0 (0) | 23 (92) | 2 (8) |
| Meropenem | 20 (90,9) | 2 (9,1) | 3 (100) | 0 (0) | 23 (92) | 2 (8) |
| Netilmisin | 22 (100) | 0 (0) | 3 (100) | 0 (0) | 25 (100) | 0 (0) |
| Trimetoprim / Sülfometoksazol | 19 (86,4) | 3 (13,6) | 3 (100) | 0 (0) | 22 (88) | 3 (12) |

$X^2=0.246$, $p=0.426$

DC : Dirençli, DY : Duyarlı, s=Sayı

S. aureus suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili incelendiğinde gentamisin, klindamisin, eritromisin, metisilin ve tobramisinine karşı saptanan direnç oranlarının, biyofilm oluşturmeyen suşlara göre yüksek olduğu görülmesine rağmen biyofilm oluşturan *S. aureus* suşları ile biyofilm oluşturmeyen suşların antibiyotik direnç oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0.05$). *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşum formasyonuna göre antibiyotiklere direnç profili Tablo 21’de verilmiştir.

Tablo 21. *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]

| Antibiyotikler | Biyofilm Oluşturan s = 23 | | | | | | Biyofilm Oluşturmeyen s = 2 | | | |
|-----------------------------------|------------------------------|-------------|----------------------------|-------------|----------------------------|------------|--------------------------------|--------------|-----------|------------|
| | Güçlü Biyofilm s = 8 | | Orta Biyofilm s = 10 | | Zayıf Biyofilm s = 5 | | Toplam s = 23 | | | |
| | DC | DY | DC | DY | DC | DY | DC | DY | DC | DY |
| Siprofloksasin | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 5 (100) | 0 (0) | 23 (100) | 0 (0) | 2 (100) |
| Gentamisin | 1 (12,5) | 7 (87,5) | 1 (10) | 9 (90) | 0 (0) | 5 (100) | 2 (8,7) | 21 (91,3) | 0 (0) | 2 (100) |
| Trimetoprim / Sülfomethoksazol | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 5 (100) | 0 (0) | 23 (100) | 0 (0) | 2 (100) |
| Klindamisin | 0 (0) | 8 (100) | 2 (20) | 8 (80) | 0 (0) | 5 (100) | 2 (8,7) | 21 (91,3) | 0 (0) | 2 (100) |
| Eritromisin | 0 (0) | 8 (100) | 2 (20) | 8 (80) | 0 (0) | 5 (100) | 2 (8,7) | 21 (91,3) | 0 (0) | 2 (100) |
| Levofloksasin | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 5 (100) | 0 (0) | 23 (100) | 0 (0) | 2 (100) |
| Oksasilin / Metisilin | 4 (50) | 4 (50) | 2 (20) | 8 (80) | 0 (0) | 5 (100) | 6 (26) | 17 (74) | 1 (50) | 1 (50) |
| Teikoplanin | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 5 (100) | 0 (0) | 23 (100) | 0 (0) | 2 (100) |
| Tetrasiklin | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 5 (100) | 0 (0) | 23 (100) | 0 (0) | 2 (100) |
| Tobramisin | 1 (12,5) | 7 (87,5) | 1 (10) | 9 (90) | 0 (0) | 5 (100) | 2 (8,7) | 21 (91,3) | 0 (0) | 2 (100) |
| Vankomisin | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 5 (100) | 0 (0) | 23 (100) | 0 (0) | 2 (100) |

$X^2=0.110$, $p=0.598$

DC : Dirençli, DY : Duyarlı, s=Sayı

C. albicans suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili incelendiğinde ketokonazol ve itrakonazole karşı saptanan direnç oranlarının, biyofilm oluşturmeyan suşlara göre yüksek olduğu görülmesine rağmen biyofilm oluşturan *C. albicans* suşları ile biyofilm oluşturmeyan suşların antibiyotik direnç oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0.05$). *C. albicans* suşlarında biyofilm oluşum formasyonuna göre antibiyotiklere direnç profili Tablo 22’de verilmiştir.

Tablo 22. *C. albicans* suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili [Sayı (%)]

| Antibiyotikler | Biyofilm Oluşturan s = 19 | | | | | | Biyofilm Oluşturmeyan s = 6 | | | |
|-----------------|------------------------------|------------|----------------------------|-------------|----------------------------|-------------|--------------------------------|--------------|-------------|-------------|
| | Güçlü Biyofilm s = 1 | | Orta Biyofilm s = 10 | | Zayıf Biyofilm s = 8 | | Toplam s = 19 | | | |
| | DC | DY | DC | DY | DC | DY | DC | DY | DC | DY |
| Amfoterisin B | 0 (0) | 1 (100) | 2 (20) | 8 (80) | 0 (0) | 8 (100) | 2 (10,5) | 17 (89,5) | 1 (16,7) | 5 (83,3) |
| Flukonazol | 0 (0) | 1 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 19 (100) | 0 (0) | 6 (100) |
| Ketokonazol | 0 (0) | 1 (100) | 1 (10) | 9 (90) | 0 (0) | 8 (100) | 1 (5,3) | 18 (94,7) | 0 (0) | 6 (100) |
| Mikonazol | 0 (0) | 1 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 19 (100) | 0 (0) | 6 (100) |
| 5-Fluorositozin | 0 (0) | 1 (100) | 0 (0) | 10 (100) | 0 (0) | 8 (100) | 0 (0) | 19 (100) | 0 (0) | 6 (100) |
| İtrakonazol | 0 (0) | 1 (100) | 4 (40) | 6 (60) | 1 (12,5) | 7 (87,5) | 5 (26,3) | 14 (73,7) | 1 (16,7) | 5 (83,3) |

$X^2=0.094$, $p=0.554$

DC : Dirençli, DY : Duyarlı, s=Sayı

5. TARTIŞMA

Hastanede gelişen enfeksiyonlar; oluşturduğu ekonomik maliyet, morbidite ve mortalite oranlarındaki yükseklik nedeniyle tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de önemli bir sağlık sorunudur. Hastane enfeksiyonlarının tedavisi amacıyla uygulanan girişimler, yoğun antibiyotik kullanımı gibi etkenlerin sonucunda antimikrobiyal maddelere dirençli bakteriler ortaya çıkmaktadır.

Antimikrobiyal maddelere karşı oluşan direncin en önemli sebeplerinden biri de mikroorganizmaların biyofilm oluşturmasıdır. Kullanılan antimikrobiyal maddelerin Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri çok düşük olsa bile biyofilm tabakası içinde yaşayan sesil mikroorganizmaların MİK değerleri artarak tedavinin başarısızlığına sebep olur. Biyofilmler özellikle çevresel ve kimyasal strese karşı oluşturduğu EPM yapısı ile mikroorganizmaların korunmasına, hayatta kalmasına ve direnç göstermesine neden olur [6]. Biyofilmin sebep olduğu mikrobiyal direncin gelişmesinde oksijen yoğunluğu, bakteri metabolizması sonucu oluşan asidik atık maddeler, direnç genlerinin bakteriler arasında kolay aktarılması gibi etkenler önemli rol oynar [5]. Biyofilmin tıbbi açıdan önemi bakteri aderansı, antibiyotik direnci ve inflamasyona etkisidir [10]. Bu yüzden hastane enfeksiyonlarına neden olan mikroorganizmaların biyofilm formasyon aktivitelerinin de bilinmesi önem arz etmektedir.

Özellikle biyofilm oluşturan mikroorganizmalardan *A. baumannii*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* giderek artan oranlarda hastane enfeksiyonu etkeni olduğu bildirilmektedir [71].

Bu çalışmada 25'er adet *A. baumannii*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* suşları kullanılmıştır. Bu suşların farklı düzeylerde biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma bize hastanede yatan hastalardan izole edilen *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* suşlarının sırasıyla % 100, % 88, % 92 ve % 76 oranlarında biyofilm oluşturduklarını göstermiştir.

Mikroorganizmaların biyofilm formasyon aktivitelerinin incelenmesinde en çok iki yöntem kullanılmaktadır. Bunlar mikrotitre plak ve tüp aderans yöntemleridir. Ancak bu yöntemlerle elde edilen sonuçlar birbirleri ile uyumlu

bulunmamaktadır. Yücesoy ve arkadaşları [113] çalışmalarında her iki yöntemi de kullanmış ancak mikrotitre plak yönteminin değerlendirilmesinin daha objektif ve uygun bir yöntem olması nedeniyle daha geçerli olduğunu bildirmişlerdir. Bizimde çalışmamızda daha uygun bir kantitatif yöntem olan mikrotitre plak yöntemi kullanılmıştır.

Hastanelerde nemli ortamlardan ve hasta tedavisinde kullanılan alet ve sıvılardan sıklıkla izole edilen *P. aeruginosa* hastane enfeksiyonlarında önemli bir fırsatçı patojendir. Son zamanlarda bu bakterinin virulans faktörlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Virulans özelliklerinden olan biyofilm, kronik enfeksiyonlara zemin hazırlamaktadır [26].

Çalışmamızda 25 *P. aeruginosa* suşundan 22'sinin (% 88) biyofilm oluşturduğu gözlenmiştir. Yüksek oranda biyofilm oluşturan *P. aeruginosa* suşlarının % 72'si güçlü biyofilm, % 12'si orta derecede biyofilm ve % 4'ü zayıf biyofilm oluşturmuştur. Bunun sonucunda *P. aeruginosa* suşlarının önemli derecede biyofilm oluşturdıkları tespit edilmiştir.

Sanchez ve arkadaşları [114] yaptıkları çalışmada mikrotitre plak yöntemini kullanarak, hastalardan izole ettikleri 36 *P. aeruginosa* suşunun 30'unun (% 83) biyofilm oluşturduğunu saptamışlardır. Sanchez ve arkadaşlarının çalışmalarında elde ettikleri sonuç bizim çalışma sonuçlarımız ile uygun görülmektedir.

Sebit ve arkadaşları [115] çoklu ilaç direncine sahip 50 *P. aeruginosa* suşu ile yaptıkları çalışmada suşların 20'sinde (% 40) biyofilm oluşumu gözlenirken, 30'nun (% 60) biyofilm oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Tepeli [116] 2009 yılında yaptığı çalışmada 100 *P. aeruginosa* suşunun mikrotitre plak yöntemi ile biyofilm düzeylerini incelemiş ve 16'sının (% 16) güçlü biyofilm, 46'sının (% 46) orta düzeyde biyofilm ve 38'inin (% 38) zayıf biyofilm oluşturduğunu bildirmiştir. Tepeli'nin yaptığı çalışmada tespit edilen veriler bizim çalışma sonuçlarımız ile uygun görünmektedir.

A. baumannii tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de, özellikle YBÜ'de gelişen hastane enfeksiyonlarının en önemli etkenlerinden biridir. Günümüzde, kullanımdaki tüm antimikrobiyalere dirençli suşların varlığı bilinmektedir. Bu direncin oluşmasında serum direnci, hareket, demir kazanımı gibi çeşitli

etkenlerin yanında biyofilm oluşturmasının da rol oynadığı bildirilmektedir [119].

Çalışmamızda 25 *A. baumannii* suşunun tamamının biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu suşların %88'i gcl biyofilm, % 12'si orta derecede biyofilm oluşturmuştur. Böylece çalışmamızın sonucunda *A. baumannii* suşlarının önemli ölçüde biyofilm oluşturabildikleri grlmştir.

Sanchez ve arkadaşları [114] yaptıkları çalışmada hastaların klinik örneklerinden izole ettikleri 53 *A. baumannii* suşundan 29'unun (% 55) biyofilm oluşturduğunu saptamışlardır.

Sebit ve arkadaşları [115] yaptıkları çalışmada 50 adet çoklu ilaç direncine sahip *A. baumannii* suşlarını kullanmışlardır. Çalışma sonucunda bu suşların 37'si (% 74) biyofilm oluştururken 13'ünün (% 26) ise biyofilm oluşturmadığı gözlenmiştir.

Can ve arkadaşları [72] yaptıkları çalışmada hastanede yatan hastalardan izole edilen 17 *A. baumannii* suşunu çalışmaya almışlardır. *A. baumannii* suşlarında biyofilm oluşumu kantitatif yöntemle incelenmiştir ve suşların birinde gcl pozitif, beşinde orta düzeyde pozitif ve ikisinde zayıf pozitif olmak üzere toplam dokuzunda (% 52,9) biyofilm oluştuğu gözlemlenmiştir.

S.aureus sağlıklı yetişkin bireylerin % 30 - 50'sinde kolonizedir ve % 10 - 20 dirençli kolonizasyon göstermektedir. Kolonize kişiler sonradan oluşacak enfeksiyonlar için yüksek risk taşımaktadır. Hastane enfeksiyonlarının çoğu ise hastane personeli aracılığı ile yayılmaktadır. Bunların kendileri taşıyıcı olabileceği gibi enfekte hastalarla temasla da enfekte edilmiş olabilirler [118].

Stafilokokların, sahip oldukları ekzotoksinler, yüzey proteinleri ve enzim gibi virulans faktörlerinin yanı sıra biyofilm üretiminin de, artan oranda önemli bir virulans faktörü olduğu vurgulanmaktadır [103].

Çalışmamızda 25 *S. aureus* suşundan 23'ünün (% 92) biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. *S. aureus* suşlarının % 32'si gcl biyofilm, % 40'ı orta derecede biyofilm ve % 20'si zayıf biyofilm oluşturmuştur.

Sanchez ve arkadaşları [114] mikrotitre plak yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada 23 insan kaynaklı klinik *S. aureus* suşundan 21'inin (% 91) tanesinin biyofilm formasyon aktivitesini pozitif olarak saptamışlardır. Bu sonuç

bizim çalışmamızda elde edilen *S. aureus* biyofilm sonuçları ile oldukça yakın görünmektedir.

Demir ve İnanç [119] yaptıkları çalışmada ise 127 *S. aureus* suşunun 88'inin (% 69,3) biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir. Biyofilm oluşturan bu suşların 48'inin (% 37,8) orta derecede biyofilm, 40'ının (% 31,5) güçlü biyofilm oluşturduğunu gözlemişlerdir.

Şahin, [118] hastalardan izole edilmiş olan 175 *S. aureus* suşu ile yaptığı çalışmada mikrotitre plak yöntemi ile 141 (% 80,6) suşun biyofilm oluşturduğunu saptamıştır. Bu suşların 112'si (% 64) orta derecede biyofilm oluştururken 29'u (% 16,6) güçlü biyofilm oluşturmuştur.

Yapılan çalışmalarda, *Candida* türlerinde saptanan biyofilm oranları % 8 - 85 arasında değişmektedir. Bu oranlar suşların izolasyon bölgelerine, enfeksiyon etkeni olup olmamasına ve izole edilen *Candida* türüne göre farklılık göstermektedir [120].

Çalışmamızda 25 *C. albicans* suşunun 19'u (% 76) tanesinin biyofilm oluşturduğu gözlenmiştir. *C. albicans* suşlarının %32'si zayıf biyofilm, % 40'ı orta derecede biyofilm, % 4'ü güçlü biyofilm oluşturmuştur. Bu sonuçlara göre *C. albicans* suşlarının da önemli oranda biyofilm oluşturduğu gözlenmiştir.

Yarar'ın [105] yaptığı çalışmada, *C. albicans* suşlarının biyofilm aktiviteleri mikrotitre plak yöntemiyle incelenmiş, 140 suşun 123'ünde (% 87,9) biyofilm aktivitesi pozitif, 17'sinde (% 12,1) negatif bulunmuştur. Pozitif bulunan 123 suşun 93'ünün (% 66,4) zayıf biyofilm, 17'sinin (% 12,1) orta derecede biyofilm, 13'ünün (% 9,3) güçlü biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar bizim çalışma sonuçlarımıza benzer görünmektedir.

Mahmoudabadi ve arkadaşları [121] yaptıkları çalışmada 120 *C. albicans* suşunun tamamının biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Demirbilek ve arkadaşları [120] yaptıkları çalışmada 79 *C. albicans* suşunun 18 (% 23) tanesinin biyofilm oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Görüldüğü gibi farklı çalışmalarda benzer sonuçlar kadar bazı farklı sonuçlar da bildirilmektedir. Bu durum çalışmalarda kullanılan yöntemlerin farklılığından, çalışma yapılan merkezlerin ve kullanılan suşların farklı

özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Ancak yapılan tüm çalışmaların ortak noktası hepsinde de biyofilm oranlarının yüksek olmasıdır.

Çalışmaya alınan 25 *P. aeruginosa*, 25 *A.baumannii*, 25 *S. aureus* ve 25 *C. albicans* suşlarının sırasıyla 22, 25, 23 ve 19 tanesinin güçlü, orta derecede ve zayıf biyofilm oluşturması, servislerde ve özellikle YBÜ gibi birimlerde bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların ciddiyetinin ve öneminin büyüklüğünü göstermektedir. Kendi grupları içerisinde istatistiksel olarak önemli ölçüde biyofilm oluşturan ($p < 0,05$) *P. aeruginosa*, *A.baumannii*, *S. aureus* ve *C. albicans* suşlarının birbirlerine göre biyofilm oluşturma durumları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p = 0,393$). Yani tüm mikroorganizma suşlarının % 76 - 100 arasında biyofilm oluşturduğu görülmüştür.

Günümüzde antibiyotik direnci önemli bir toplum sağlığı sorunudur. Antimikrobiyal direnç, farklı mekanizmalar ile gelişebilir. Bu mekanizmalardan biri de mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilmlerdir. Bazı mikroorganizmalar birkaç mekanizmayı barındırarak birden çok ilaca dirençli olma potansiyeli taşırlar. Birden çok ilaca dirençli mikroorganizmaların oluşması hem hastane enfeksiyonlarının hem de toplumdan kazanılan enfeksiyonların yönetiminde büyük bir problem oluşturmaktadır [122].

Çalışmamızda biyofilm formasyon aktiviteleri incelenen mikroorganizma suşlarının antibiyotiklere olan direnç durumları da incelenmiştir.

Çalışmamızda biyofilm oluşturan 22 *P. aeruginosa* suşunun biri (% 4,5) amikasine, beşi (% 22,7) siprofloksasine, ikisi (% 9,1) gentamisine, 10'u (% 45,5) imipeneme, 11'i (% 50) meropeneme, 21'i (% 95,5) aztreonoma, dördü (% 18,2) sefepime, beşi (% 22,7) piperasilin / tazobaktama, üçü (% 13,6) seftazidime dirençli bulunmuştur. Biyofilm oluşturmayan üç suşun üçü (% 100) aztreonoma, biri (% 33,3) sefepime, biri (% 33,3) seftazidime, biri (% 33,3) piperasilin / tazobaktama dirençli bulunmuştur.

Bu çalışmada biyofilm oluşturan *P. aeruginosa* suşları ile biyofilm oluşturmayan suşların antibiyotik direnç oranları karşılaştırıldığında,

antibiyotiklere direnç oranları yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).

Sanchez ve arkadaşları [114] yaptıkları çalışmada 36 *P. aeruginosa* suşundan % 25'i amikasine, % 75'i siprofloksasine, % 39'u gentamisine, % 75'i imipeneme, % 58'i meropeneme, % 73'ü aztreonoma, % 63'ü sefepime, % 67'si seftazidime, % 67'si piperasilin / tazobaktama dirençli bulduklarını bildirmişlerdir.

Tepeli [116] çalışmaya aldığı *P. aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarını da incelemiştir. Buna göre en yüksek direncin % 84 oranında sefotaksime, % 67 oranı ile aztreonoma ve % 63 oranı ile gentamisine dirençli oldukları tespit edilmiştir. Diğer antibiyotiklerin direnç oranları ise % 45 ve altında bulunmuştur.

Çalışmamızda güçlü biyofilm oluşturan 22 *A. baumannii* suşunun 19'u (% 86,4) amikasine, 20'si (% 90,9) siprofloksasine, 19'u (% 86,4) gentamisine, 20'si (% 90,9) imipeneme, 20'si (% 90,9) meropeneme, 19'u (% 86,4) trimetoprim / sülfometoksazole ve tamamının netilmisine dirençli olduğu saptanmıştır. Orta biyofilm oluşturan üç *A. baumannii* suşunun ise ikisi (% 66,7) amikasine, ve tamamı siprofloksasine, gentamisine, imipeneme, meropeneme, trimetoprim / sülfometoksazole ve netilmisine dirençli olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada güçlü biyofilm oluşturan *A. baumannii* suşları ile orta düzeyde biyofilm oluşturan suşların antibiyotik direnç oranları arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ancak güçlü ve orta düzeyde biyofilm oluşturan suşların antibiyotik direnç oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0.05$).

Kaliterna ve arkadaşları [123] yaptıkları çalışmada, karbapenemlere ampisilin / sulbaktama ve amikasine dirençli olan *A. baumannii* suşlarının büyük bir kısmının biyofilm oluşturmadığını tespit etmişlerdir. Buna karşılık, ampisilin / sulbaktama, karbapenemlere ve amikasine duyarlı ve orta derecede duyarlı suşların ise biyofilm oluşturduğunu görmüşlerdir.

Kireççi ve arkadaşları [124] klinik örneklerden izole ettikleri 47 *A. baumannii* suşu ile yaptıkları araştırmada izole edilen suşların tamamının

kolistine duyarlı olduğunu bulmuşlardır. 37 (% 78,7) suşun netilmisine, 38 (% 80,8) suşun imipeneme, 41 (% 87,3) suşun meropeneme, 43 (% 91,5) suşun siprofloksasine ve gentamisine dirençli olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmaya alınan *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* suşlarının 20'si yoğun bakım ünitelerinde çoklu ilaç tedavisi gören hastalardan izole edildiği için literatürdeki çalışmalara göre daha yüksek direnç oranlarının gelişmesine neden olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda biyofilm oluşturan 23 *S. aureus* suşunun ikisi (% 8,7) gentamisine, ikisi (% 8,7) klindamisine, ikisi (% 8,7) eritromisine, altısı (% 26) metisiline, ikisi (% 8,7) tobramisine dirençli bulunmuştur. Ancak biyofilm oluşturan suşların tamamının siprofloksasin, trimetoprim / sülfometoksazol ve levofloksasine karşı duyarlı olduğu görülmüştür. Biyofilm oluşturmeyen iki *S. aureus* suşunun ise birisinin (% 50) metisiline dirençli olduğu saptanmıştır. Biyofilm oluşturmeyen bu iki suşun gentamisine, klindamisine, eritromisine, tobramisine, siprofloksasine, trimetoprim / sülfometoksazola ve levofloksasine karşı duyarlı olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada, biyofilm oluşturan *S. aureus* suşlarında gentamisine, klindamisine, eritromisine ve tobramisine karşı saptanan direnç oranlarının, biyofilm oluşturmeyen suşlara göre yüksek olduğu görülmüştür. Fakat biyofilm oluşturan *S. aureus* suşları ile biyofilm oluşturmeyen suşların antibiyotik direnç oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0.05$).

Demir ve İnanç'ın [119] yaptıkları çalışmada biyofilm oluşturan 92 *S. aureus* suşunun, 61'i (% 66,3) penisiline, 57'si (% 61,9) ampisiline, dokuzu (% 9,8) amoksisilin-klavulanik aside, 17'si (% 18,5) tetrasikline, 18'i (% 19,6) eritromisine, biri (% 1,1) gentamisine dirençli olduğu saptanmıştır. Biyofilm oluşturmeyen 35 *S. aureus* suşunun ise 16'sı (% 45,7) penisiline, sekizi (% 22,9) ampisiline, ikisi (% 5,71) amoksisilin-klavulanik aside, beşi (% 14,3) tetrasikline ve yedisi (% 20) eritromisine dirençli bulunurken, tamamı gentamisine duyarlı bulunmuştur. Biyofilm oluşturan suşlarda penisilin, ampisilin, tetrasiklin ve eritromisine karşı saptanan direnç oranları, biyofilm oluşturmeyen suşlara göre yüksek bulunmuş, ancak bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p > 0,05$).

Ozansoy ve arkadaşları [125] tarafından yapılan bir çalışmada 404 *S. aureus* suşunun 145'i (% 35,9) siprofloksasine, 124'ü (% 30,7) gentamisine, 158'si (% 39,1) sefoksitine, 27'si (% 6,7) klindamisine, 130'u (% 32,2) eritromisine dirençli olarak tespit edilmiştir. Bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Candida biyofilmlerinin flukonazol, amfoterisin B, 5-Fluorositozin, itrakonazol, mikonazol ve ketokonazole 30 ile 2000 kat daha dirençli oldukları bildirilmiştir. Biyofilmlerin antimikrobiyal maddelere daha dirençli olmasında biyofilm yapısına bu maddelerin sınırlı nüfuz etmesi, besin ve oksijen sınırlaması nedeniyle yavaş üreme hızı gibi değişikliklerin rol aldığı düşünülmektedir [120].

Tüm *C. albicans* suşlarının flusitozine, flukonazole ve mikonazole duyarlı bulunduğu çalışmamızda, biyofilm oluşturan suşlarda amfoterisin B'ye % 10,5 oranında direnç saptanmıştır. Ayrıca bir suşun (% 5,3) ketokonazole, beş suşun ise (% 26,3) itrakonazole dirençli olduğu saptanmıştır. Biyofilm oluşturmeyen *C. albicans* suşlarının ise biri (% 16,7) amfoterisin B'ye, bir tanesi ise (% 16,7) itrakonazole dirençli bulunmuştur.

Biyofilm oluşturan *C. albicans* suşlarının biyofilm oluşturmeyenlere göre ketokonazole ve itrakonazole daha yüksek oranda dirençli olduğunu tespit ettiğimiz bu çalışmada biyofilm oluşturan ile biyofilm oluşturmeyen suşların antibiyotik direnç oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0,05$).

Demirbilek ve arkadaşları [120] *Candida*'lar ile yaptıkları çalışmada sadece planktonik hücrelerde MİK değerlerini araştırmışlar ve flukonazol direncini suşların %28'inde, itrakonazol direncini ise suşların % 12'sinde saptamışlardır.

Çıkman ve arkadaşları [126] yaptıkları çalışmada klinik örneklerden izole edilen 92 *C. albicans* suşunun antifungal direnç oranlarını; itrakonazol için % 80, flukonazol için % 59 ve amfoterisin B için ise % 4 dirençli olarak bulmuşlar, flusitozine ise direnç tespit edememişlerdir.

Çalışmamızda biyofilm formasyonları oldukça yüksek olan suşların önemli bir kısmında antimikrobiyal direncin yüksek görülmediği tespit

edilmiştir. Biyofilm oluşumu antimikrobiyal direnci de önemli oranda artırmaktadır. Antimikrobiyal dirençlilik testleri mikroorganizmaların planktonik formları ile yapılmaktadır. Oysa in vivo koşullarda mikroorganizmalar biyofilmler içerisinde sesil olarak bulunmaktadırlar. Dolayısı ile planktonik formlar ile yapılan direnç testleri, in vivo koşullar ile uyum göstermeyebilir. Çalışmamızda yüksek biyofilm formasyonuna sahip mikroorganizmaların, bazı antimikrobiyallere karşı düşük direnç oranlarına sahip olmalarının bu nedenden kaynaklandığını düşünüyoruz. Şayet direnç çalışmaları sesil koşullarda tekrarlanabilirse direnç oranlarının da daha yükseleceğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak, hastane kaynaklı *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. aureus* ve *C. albicans* enfeksiyonlarındaki biyofilm formasyon aktivitelerinin artışına paralel olarak antibiyotik dirençliliği de artmakta ve klinisyenler için tedavi seçenekleri her geçen gün azalmaktadır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu çalışmada, aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Her biri 25 suş olacak şekilde toplam 100 adet *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *C. albicans* suşu çalışmaya alınmıştır.
2. Çalışmaya dahil edilen 100 adet suş, Christensen ve arkadaşlarının [110] tanımladığı mikrotitre plak yöntemiyle biyofilm varlığı açısından değerlendirilmiştir. Bu yöntemle *A. baumannii* suşlarının tamamının, *P. aeruginosa* suşlarının 22'sinin (% 88), *S. aureus* suşlarının 23'ünün (% 92) ve *C. albicans* suşlarının 19'unun (% 76) biyofilm oluşturduğu saptanmıştır.
3. *A. baumannii* suşlarının 22'si (% 88) güçlü biyofilm oluştururken üçünün (% 12) orta derecede biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir.
4. *P. aeruginosa* suşlarından 18'inin (% 72) güçlü biyofilm, üçünün (% 12) orta derecede biyofilm ve birinin (% 4) zayıf biyofilm oluşturduğu saptanmıştır.
5. *S. aureus* suşlarından sekizinin (% 32) güçlü biyofilm, 10'unun (% 40) orta derecede biyofilm ve beşinin (% 20) zayıf biyofilm oluşturduğu saptanmıştır.
6. *C. albicans* suşlarından birisinin (% 4) güçlü biyofilm, 10'unun (% 40) orta derecede biyofilm ve sekizinin (% 32) zayıf biyofilm oluşturduğu saptanmıştır.
7. Çalışmaya dahil edilen 25 *A. baumannii*'den güçlü biyofilm ve orta düzeyde biyofilm oluşturan suşların amikasin, siprofloksasin, gentamisin, imipenem, meropenem ve trimetoprim / sülfometoksazole direnç oranları yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).
8. *P. aeruginosa* suşlarında biyofilm oluşumu formasyonuna göre antibiyotik direnç profili incelenmiştir. Biyofilm oluşturan suşların siprofloksasin, imipenem, meropenem ve gentamisine karşı direnç oranları yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel olarak karşılaştırıldığında bu farkın anlamlı olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$).

9. Biyofilm oluşturan 23 adet *S. aureus* suşunda gentamisin, klindamisin, eritromisin ve tobramisine karşı saptanan direnç oranları, biyofilm oluşturmeyen suşlara göre yüksek bulunmasına rağmen biyofilm oluşturan ve biyofilm oluşturmeyen suşların antibiyotik direnç oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0.05$).
10. Biyofilm oluşturan *C. albicans* suşlarının biyofilm oluşturmeyenlere göre ketokonazol ve itrakonazole yüksek oranda dirençli olduğu tespit edilmiş ancak bu direnç artışında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p > 0,05$).

6.2. Öneriler

Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda;

1. Hastane enfeksiyonlarının kontrolünü kolaylaştırabilmek için biyofilm formasyon sürecinin tam olarak anlaşılması gerekmektedir.
2. Biyofilmler enfeksiyonlar üzerindeki etkili rolü nedeniyle toplum sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Hasta yönetimini sağlamak amacıyla biyofilm kontrolü için yeni ve etkili stratejiler geliştirilmelidir.
3. Kalıcı tıbbi araçların kullanılmasında ve immün sistemi baskılanmış hastalarda gelişen enfeksiyonlarda önemli rolü olan biyofilmlerle mücadele edebilmek için, tedavi maliyetleri ve mortalite oranlarını azaltan yeni ve etkin stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir.
4. Aynı zamanda, sesil mikroorganizmaların antibiyotik direnci açısından planktonik formdaki mikroorganizmalardan daha dirençli olması tedaviyi uygulayan klinisyenler açısından ciddi bir problem olarak görülmeli ve önlemler buna göre alınmalıdır.
5. Sağlık çalışanları tarafından, enfeksiyon kontrol önlemlerine azami ölçüde dikkat edilmesi, enfeksiyonları önlemede ve tedavisinde önemli bir yer tutacaktır.
6. Ülkemizde enfeksiyonların takibinde ve kontrolünde, sürveyans çalışmaları ile ulusal veriler elde edilmeli ve radikal antibiyotik kullanım politikaları belirlenmelidir.

7. İnsan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olduğu bilinen biyofilmlerin oluşumlarının tam olarak anlaşılması ile ilgili yapılacak çalışmalar önem arz etmektedir. Biz de alışmamızda *A. baumannii*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* suşlarına ait biyofilm formasyon verilerinin bu konuda çalışma yapacak araştırcılara ve konuyla ilgili literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.



7. KAYNAKLAR

- [1] Kütük E (2011). Yoğun Bakım Ünitesinde *A. baumannii* Enfeksiyonu, Risk Faktörleri ve Antibiyotik Direnç Durumları. Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır.
- [2] Özkan Ç, Erdem G, Oldacay M (2002). Hastane Enfeksiyonu Etkeni Olarak İzole Edilen *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Sıklığı. *Ankem Dergisi* 16(1):65-68
- [3] Özer B, Tatman M, Memiş D, Otkun M (2006). Yoğun Bakım Ünitesinde Hastane Enfeksiyonu Etkenleri, Antibiyotik Duyarlılıkları ve Antibiyotik Kullanımı. *İnfeksiyon Dergisi*, 20(3):165-170.
- [4] Sağır M, Parlakpınar H (2014) Akılcı İlaç Kullanımı. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(2):32-35.
- [5] Yüksekdağ ZN, Baltacı N (2013). *Staphylococcus aureus* Türlerinde Biyofilm ve Biyofilm Oluşumundan Sorumlu Genler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 43(3):77-83.
- [6] Balcázar JL, Subirats J, Borrego C (2015). The Role of Biofilms As Environmental Reservoirs of Antibiotic Resistance. *Frontiers in Microbiology*, 6:1216.
- [7] Gülgör G, Korukluoğlu M (2014). Mikroorganizmalar Arasında Çoğunluk Algılanması (Quorum Sensing). *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2):83-92.
- [8] Szczuka E, Kaznowski A (2014). Antimicrobial Activity of Tigecycline Alone or in Combination with Rifampin Against *Staphylococcus epidermidis* in Biofilm. *Folia Microbiologica*, 59(4):283-288.

- [9] Myszka K, Czaczyk K (2011). Bacterial Biofilms on Food Contact Surfaces. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61(3):173-180.
- [10] Öztürk ŞB, Sakarya S, Öncü S, Ertuğrul MB (2008). Biyofilmler ve Yabancı Cisim İnfeksiyonları. *Klinik Dergisi*, 21(3):79-86.
- [11] Hazırolan G, Altan G, Baran I, Mumcuoğlu İ, Aksu N (2015). Bir Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Yatan Hastalardan İzole Edilen Nonfermentatif Gram Negatif Basillerin Dağılımı ve Direnç Profilleri. *Ankem Dergisi*, 29(2):66-72.
- [12] Gözütok F, Sarıgüzel FM, Çelik İ, Berk E, Aydın B, Güzel D (2013). Hastane İnfeksiyonu Etkeni *Acinetobacter baumannii* Suşlarının Antimikrobiyal Direnç Oranlarının Araştırılması. *Ankem Dergisi*, 27(1): 7-12
- [13] Çiftçi İH, Aşık G (2011). *Acinetobacter baumannii*'nin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. *Ankem Dergisi*, 25(3):196-207.
- [14] Öztürk B (2011). Kandida ve Biyofilm. *Bamçag Bülteni*, 2:28-32.
- [15] Uzun Ö (2003). Hastane Enfeksiyonları, Doğanay M, Ünal S (Ed.), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 35-37.
- [16] Orucu M, Geyik MF (2008). Yoğun Bakım Ünitesinde Sık Görülen Enfeksiyonlar. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 10(1):40-43.
- [17] Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçlu G, Kiraklı C (2010). Yoğun Bakım Ünitesinde Yatan Hastaların Kan Kültürlerinde Üreyen Mikroorganizmalar, Antibiyotik Duyarlılıkları ve Nozokomiyal Bakteriyemi Etkenleri, *Ankem Dergisi*, 24(1):12-19.
- [18] Glupczynski Y, Delmee M, Goossens H, Struelens M (2001). Prevalance of Antimicrobial Resistance Among Gram-Negative Isolates in Intensive Care Units in Belgian Hospitals Between 1996 and 1999, *Acta Clinica Belgica*, 56(5):297-306.

- [19] Çetinkaya YŞ (2002). Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonlarının İzlemi, Kontrolü Ve Korunma. *Yoğun Bakım Dergisi*, 2(1):16-25.
- [20] Rhomberg PR, Fritsche TR, Sader HS, Jones RN (2006). Antimicrobial Susceptibility Pattern Comparisons Among Intensive Care Unit And General Ward Gram-Negative Isolates From The Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection Program (USA). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease Journal*, 56(1):57-62.
- [21] Yüceer S, Demir SG (2009). Prevention of Nosocomial Infections in Intensive Care Unit and Nursing Practices. *Dicle Medical Journal*. 36(3): 226-232.
- [22] Aygen B, Kayabaş Ü (2001). Yoğun Bakım Birimlerinde Dirençli Enfeksiyon Sorunu. *Klimik Dergisi*, 14(2):83-88.
- [23] Carlet J, Ali AB, Chalfine A (2004). Epidemiology and Control of Antibiotic Resistance in The Intensive Care Unit. *Current Opinion in Infectious Diseases Journal*, 17(4):309-316.
- [24] Yalçın AN (2009). Yoğun Bakım Ünitesinde Antibiyotik Kullanımı ve Direnç Sorununa Genel Bakış, *Ankem Dergisi*, 23(2):136-142.
- [25] Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A (1999). The Calgary Biofilm Device: New Technology For Rapid Determination Of Antibiotic Susceptibilities Of Bacterial Biofilms. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(6):1771-1776.
- [26] Altun HU, Şener B (2008). Biyofilm İnfeksiyonları ve Antibiyotik Direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39(2):82-88.
- [27] Bayrakal V (2008). *Pseudomonas aeruginosa* İnfeksiyonu Gelişiminde, Etken-Konak Etkileşiminin Karşılıklı Kinetiği, Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

- [28] Öztürk ŞB, Sakarya S, Öncü S, Ertuğrul MB (2008). Biyofilmler ve Yabancı Cisim İnfeksiyonları. *Klinik Dergisi*, 21(3):79-86.
- [29] Drenkard E (2003). Antimicrobial Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Microbes and Infection*, 5(13):1213-1219.
- [30] Mah TFC, O'Toole GA. (2001). Mechanisms of Biofilm Resistance to Antimicrobial Agents. *Trends in Microbiology*, 9(1):34-39.
- [31] Yassien M, Khardori N (2001). Interaction Between Biofilms Formed by *Staphylococcus epidermidis* and Quinolones. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 40(3):79-89.
- [32] Çağlar K (2005). Dezenfektanlara Direnç Gelişim Mekanizmaları Dezenfektan İşlemi Ne Kadar Tehdit Etmektedir, 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi Kongre Kitabı, Günaydın M, Saniç A ve Gürler B (Ed.), Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 702-714.
- [33] Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ (1978). How Bacteria Stick. *Scientific America*, 238(1):86-95.
- [34] Zobell EC, Eshter CA (1935). The Significance Of Marine Bacteria In The Fouling Of Submerged Surfaces. *Journal of Bacteriology*, 29(2):239-251.
- [35] Characklis WG (1973). Attached Microbial Growths-II. Frictional Resistance Due to Microbial Slimes. *Water Research*, 7(9); 1249-1258.
- [36] Elder MJ, Stapleton F, Evans E, Dart JK (1995). Biofilm Related Infections in Ophthalmology. *Eye*; 9(1):102-109.
- [37] Donlan RM, Costerton JW (2002). Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology*, 15(2):167-193.

- [38] Lindsay D, Von Holy A (2006). Bacterial Biofilms Within the Clinical Setting: What Healthcare Professionals Should Know? *Journal of Hospital Infection*, 64(4):313-325.
- [39] Şahin E, Yürüken Z, Göçmen JS (2012). Toplumda Kazanılmış Çoklu İlaç Dirençli Nonfermentatif Gram Negatif Bakterilerde Duyarlılık Sonuçları. *Pamukkale Tıp Dergisi*; 5(1):15-19.
- [40] Sakarya S (2005). Biyofilm Yapısı ve İnfeksiyon Hastalıklarının Virulans ve Tedavisindeki Rolü, 12. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, Eraksoy E (Ed). Antalya, 18.Cilt, 3-8.
- [41] Simões M, Simões LC, Vieira MJ (2010). A Review of Current and Emergent Biofilm Control Strategies. *LWT-Food Science and Technology*; 43(4):573-583.
- [42] Allison DG (2003). The Biyofilm Matrix. *Biofouling*, 19(2):139-150.
- [43] Jones HC, Roth IL, Saunders WM (1969). III. Electron Microscopic Study of a Slime Layer. *Journal of Bacteriology*, 99(1):316-325.
- [44] Allison DG, Ruiz B, SanJose C, Jaspe A, Gilbert P (1998). Extracellular Products as Mediators of the Formation and Detachment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms. *FEMS Microbiology Letters*, 167(2):179-184.
- [45] Costerton B ve Dirckx P, (1997). Center for Biofilm Engineering. Montana State University. Şekil 1. Biyofilm Yapısı. Şekil 3. Biyofilmdeki mikroorganizmaların sinyal molekülleri ile iletişimi.
- [46] Branda SS, Vik A, Friedman L, Kolter R (2005). Biofilms: The Matrix Revisited. *Trends in Microbiology*, 13(1):20-26.
- [47] Flemming HC, Wingender J (2010).The Biofilm Matrix. *Nature Review Microbiology*, 8(9):623-633.

- [48] Öztürk B (2006). Bakteri Yüzey Slime Yapısındaki Moleküllerin, Bakteri Aderansı ve Antibiyotik Direncine Etkisi, Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- [49] Gün İ, Ekinci FY (2009). Biyofilmler: Yüzeylerdeki Mikrobiyal Yaşam, *Gıda Derneği Dergisi*, 34(3):165-173.
- [50] Türetgen İ (2005). Su Sistemlerinde Mikrobiyal Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [51] Lewis K (2001). Riddle of Biofilm Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 45(4):999-1007.
- [52] Jefferson KK, Pier DB, Goldmann DA, Pier GB (2004). The Teicoplanin-associated Locus Regulator (TcaR) and The Intercellular Adhesion Locus Regulator (IcaR) Are Transcriptional Inhibitors of The Ica Locus in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*; 186(8):2449-2456
- [53] 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. *Infection and Immunity*, 70(6):2758-2762.
- [54] Donlan RM (2001). Biofilm Formation: a Clinically Relevant Microbiological Process. *Clinical and Infectious Diseases*, 33(8):1387-1392.
- [55] Stoodley P, Cargo R, Rupp CJ, Wilson S, Klapper I (2002). Biofilm Material Properties As Related to Shear-Induced Deformation and Detachment Phenomena. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 29(6):361-367.

- [56] Karatan E. (2005). Biofilm Development in Bacteria. *Advances in Applied Microbiology*, 57(1):79-111.
- [57] Akan E, Kınık Ö (2014). Biyofilm Oluşum Mekanizması ve Biyofilmlerin Gıda Güvenliğine Etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*, 14:42-51.
- [58] Watnick PI, Kolter R (2000). Biofilm; City Microbes. *Journal of Bacteriology*, 182(10):2675-2679.
- [59] Jiang X, Pace JL (2006). Microbial Biofilms. Biofilms Infections and Antimicrobial Therapy, Pace JL Rupp ME Finch RG (Ed.), Taylor & Francis Group, United States, 3-14.
- [60] Stoodley LH, Stoodley P (2002). Developmental Regulation of Microbial Biofilms, *Current Opinion in Biotechnology*, 13(3):228-233.
- [61] Shih PC, Huang CT (2002). Effect of Quorum Sensing Deficiency on *P. aeruginosa* Biofilm Formation and Antibiotic Resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(2):309-314.
- [62] Labbate M, Qeck SY, Koh KS, Rice SA, Givskov M, Kjelleberg S. (2004). Quorum Sensing-Controlled Biofilm Development in *Serratia liquefaciens* MG1. *Journal of Bacteriology*; 186(3): 692-698.
- [63] Lynch MJ, Swift S, Kirke DF, Keevil CW, Dodd CE, Williams P (2002). The Regulation of Biofilm Development By Quorum Sensing in *Aeromonas hydrophila*. *Environmental Microbiology*; 4(1):18-28.
- [64] Donabedian H (2003). Quorum Sensing and Its Relevance to Infectious Diseases. *Journal of Infection*, 46(4):207-214.
- [65] Lynch SA, Robertson TG (2008). Bacterial and Fungal Biofilm Infections. *Annual Review of Medicine*, 59(1):415-428.

- [66] Baskın H (2005). Mikroorganizmanın Çevreye Uyumu ve Biyofilm: "Quorum Sensing" (Çoğunluğu Algılama), 12. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre Kitabı, Eraksoy E (Ed). Antalya, 18.Cilt, 9-10.
- [67] Dong YH, Zhang LH (2005). Quorum Sensing and Quorum Quenching Enzymes. *Journal of Microbiology*, 43:101-109.
- [68] Redfield R (2002). Is Quorum Sensing a Side Effect of Diffusion Sensing? *Trends in Microbiology*, 10(8):365-370.
- [69] Doğanlı GA (2015), Medikal İmplantlarda Biyofilm Oluşumu, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi Kitabı, Muğla, 459-462.
- [70] Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P (2005). Survival Strategies of Infectious Biofilms. *Trends in Microbiology*; 13(1):34-40.
- [71] Can F, Azap ÖK, Demirbilek M, Karabay G, Ergin F, Arslan H, (2006). Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Biyofilm Oluşumu. *İnfeksiyon Dergisi*, 20(3):159-163.
- [72] Ferrara AM (2006). Potentially Multidrug-resistant Non-fermentative Gram-negative Pathogens Causing Nosocomial Pneumonia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27(3):183-195.
- [73] Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (2009). Manual of Clinical Microbiology. Nobel Yayınevi, (Çevir: Başustaoglu A.) 9.baskı, Ankara. 770-794.
- [74] Narita V, Arum AL, Isnaeni, Fawzya NY (2012). Analisis Bioinformatika Berbasis WEB Untuk Eksplorasi Enzim Kitosanase Berdasarkan Kemiripan Sekuens. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 1(4):197-203.

- [75] Bahar İH, Esen N (2008). *Acinetobacter* Türleri ve Diğer Gram-negatif Nonfermentatif Basiller, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Ed.). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2195-2201.
- [76] Şahin İ (2010), Gram Negatif Diğer Bakteriler ve Nonfermenterler. Altındaş M (Ed.), Hemşireler için Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitabevi, Afyon, 206-208.
- [77] Şekil 4. *A. baumannii*'nin (a) kanlı agar besiyerindeki koloni morfolojisi ve <http://www.antimicrobe.org/ClinicMicro/Acinetobacter1.htm> (Erişim 05.03.2016).
- [78] Şekil 4. *A. baumannii*'nin (b) Gram boyama yöntemindeki görünümü, <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-microscopy.html> (Erişim 05.03.2016).
- [79] Günaydın M (2004). Gram-negatif Bakteri İnfeksiyonlarında Mikrobiyolojik Tanı. Ulusoy S, Leblebicioğlu H, Arman D (Ed.), Gram-Negatif Bakteri İnfeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, 45-67.
- [80] Speller DCE, Humphreys H (1998). Hospital-acquired Infection, Collier L, Balows A, Sussman M (Ed.), Topley&Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Arnold,. London, 187-229.
- [81] Vahaboğlu H, Coşkun F, Tansel O, Öztürk R, Şahin N, Köksal İ (2001). Clinical Importance of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (PER-1-type) Producing *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* Strains. *Journal of Medical Microbiology*, 50(7):642-645.
- [82] Balcı M, Bitirgen M, Kandemir B, Arıba ET, Erayman İ (2012). Nozokomiyal *Acinetobacter baumannii* Enfeksiyonlarında İmipenem Direnci İle İlişkili Risk Faktörleri. *Nobel Medicus*, 8(3):24-31.
- [83] Towner K (2006). The Genus *Acinetobacter*. *Prokaryotes*, 6:746-758.

- [84] Li XZ, Nikaido H (2009). Effl Ux-mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update. *Drugs*, 69(12):1555-1623.
- [85] Bonomo RA, Szabo D (2006). Mechanisms of Multidrug Resistance in Acinetobacter species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Disease*; 43(2):49-56.
- [86] Longo F, Vuotto C, Donelli G (2014). Biofilm Formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiologica*, 37(2):119-127.
- [87] Gaddy JA, Actis LA (2009). Regulation of *Acinetobacter baumannii* Biofilm Formation Jennifer. *Future Microbiology*, 4(3):273-278.
- [88] Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. (2010). *Pseudomonas* ve İlişkili Bakteriler (Çeviri: P. Çıragil) Başustaoğlu A, Yıldırım T, Tanyüksel M, Yapar M (Ed.) Tıbbi Mikrobiyoloji, Atlas Kitapçılık, Ankara, 333-341.
- [89] Şen A (2006). Çiğ Sütte *Pseudomonas aeruginosa* Sayılması İçin Yöntem Modifikasyonları Üzerine Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [90] Tablo 2: *Acinetobacter* cinsinin sınıflandırılması, Tablo 3: *Pseudomonas* cinsinin sınıflandırılması, Tablo 4: *Staphylococcus* cinsinin sınıflandırılması, Tablo 6: *Candida* cinsinin sınıflandırılması <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/> (Erişim: 05.03.2016).
- [91] Er H, Şen M, Altındış M (2015). İdrar Yolu Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa*'larda Antibiyotik Direnci. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory*, 6(3):80-84.
- [92] Blondel EH, Henry DA, Speert DP. (2007). *Pseudomonas*. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA ve Tenover FC (Ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, 734-748.

- [93] Şekil 5. *P. aeruginosa*'nın (a) Gram boyama yöntemindeki görünümü, Centers for Disease Control and Prevention CDC (<http://phil.cdc.gov/phil/quicksearch.asp>) (Erişim: 05.03.2016).
- [94] Şekil 5. *P. aeruginosa*'nın (b) kanlı agardaki koloni yapısı, <https://www.pinterest.com/bacteriophage/microbiology/> (Erişim: 05.03.2016).
- [95] Demirhan F (2013), Çoklu Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* Klinik Suşlarında Biyofilm Formasyonu, Bitirme Ödevi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri.
- [96] Akoğlu A (2006). Çiğ Sütte *Pseudomonas Aeruginosa* Sayılması İçin Yöntem Modifikasyonları Üzerine Çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [97] Aksoy MD (2013). Karbapenemlere Dirençli *Pseudomonas aeruginosa* Kökenlerinde Metallo Beta Laktamaz Enzimlerinin Fenotipik Ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
- [98] Alpak O (2011), Karbapenem Grubu Antibiyotiklerin (Meropenem, İmipenem, Ertapenem) Etkisi Altında Quorum Sensing Olumlu ve Quorum Sensing Olumsuz *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Konak Etken Etkileşiminin Araştırması, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- [99] Altındış M (2010). Hemşireler için Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi, Afyon, 168.
- [100] Torun M, Kiraz N (2011), Gram Pozitif Koklar. Samantu M (Ed.), Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ders Kitabı, 2.Baskı, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 775-791.

- [101] Şekil 6. *S. aureus*'un (a) Gram boyama yöntemindeki mikroskopi görünümü, <https://www.pinterest.com/pin/83457399319637904/> (Erişim: 05.03.2016).
- [102] Şekil 6. *S. aureus*'un (b) *S. aureus*'un kanlı agardaki koloni morfolojisi <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteriaphotos/staphylococcus aureusphotos/STAU2.html> (Erişim: 05.03.2016).
- [103] Özdemir T (2014). Yara Yerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarının Biyofilm Oluşumunun Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [104] Gürbüz M (2008). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Candida albicans* Kökenlerinin Moleküler Analizi, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
- [105] Yazar M (2014). Klinik Materyallerden İzole Edilen *Candida Albicans* Suşlarında *Sap* Genlerinin Araştırılması, Uzmanlık tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
- [106] Hazen KC and Howell SA (2009). *Candida*, *Cryptococcus* ve Tıbbi Önemi Olan Diğer Mantarlar, Başustaoğlu A. (Ed.) Klinik Mikrobiyoloji. Atlas Kitabevi, Ankara, 1762-1765.
- [107] Seyedmousavi S, İlkit M, Durdu M, Ergin Ç, Polat SH, Melchers W Verweij P (2015). *Candida* ve Kandidoz: Epidemiyoloji, Tanı, Tedavi, Antifungal İlaç Direnci ve Konağın Genetik Yatkınlığında Güncel Durum. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 45(1):1-11.
- [108] Keçeli S (2007). Tıbbi Gereçlerle İlişkili *Candida* Biyofilm ve Enfeksiyonları, *Türkiye Klinikleri*, 27(4):589-600.
- [109] Kojic EM, Darouiche RO (2004). *Candida* Infections of Medical Devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 17(2):255-267.

- [110] Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM ve diğçerleri (1985). Adherence of Coagulase-Negative Staphylococci to Plastic Tissue Culture Plates; a Quantitative Model for the Adherence of Staphylococci to Medical Devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22:996-1006 .
- [111] Chusri S, Phatthalung PN, Voravuthikunchai SP (2012). Anti-biofilm Activity of *Quercus Infectoria* G. Olivier Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Letters in Applied Microbiology*, 54(6):511-517.
- [112] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing (2016).
- [113] Yücesoy M, Karaman M (2004). *Candida* Türlerinin Biofilm Üretimi ve Antifungal Duyarlılık Paternleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 38(1-2):91-99.
- [114] Sanchez C, Mende K, Beckius ML, Akers KS, Romano DR, Wenke JC, Murray CK (2013), Biofilm Formation by Clinical İsolates and The Implications in Chronic Infections, *BMC Infectious Diseases*, 13(1):47.
- [115] Sebit B, Aksu B, Yağcı AK (2016). Biofilm Production and Biocidal Efficacy in Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* Isolates, *International Journal of Antiseptic Disinfection Sterilization*, 1(1):7-12.
- [116] Tepeli EÇ (2009). *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Biyofilm Yapımının ve Quorum Sensing'de Rol Alan Genlerin Araştırılması Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
- [117] Eraç B, Yılmaz FF, Limoncu MH, Öztürk İ, Aydemir Ş (2014). Çok İlaça Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Virulans Faktörlerinin Araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 48(1):70-81.
- [118] Şahin R (2007). *Staphylococcus aureus* Suşlarında Biyofilm Üretimi, Biyofilm Pozitif Ve Negatif Suşların Genotipik ve Fenotipik

Karakterlerinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

- [119] Demir C, İnanç BB (2013). Nazal Kolonize Stafilokok Türlerinde Biyofilm Üretiminin Araştırılması, *Journal Of Clinical And Analytical Medicine*, 6(4):414-418.
- [120] Demirbilek M, Timurkaynak F, Can F, Azap Ö, Arslan H (2007). Hastane Kaynaklı Candida Türlerinde Biyofilm Oluşumu ve Antifungal Duyarlılık Paternleri. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 41(2):261-269.
- [121] Mahmoudabadi AZ, Zarrin M, Kiasat N (2014). Biofilm Formation and Susceptibility to Amphotericin B and Fluconazole in *Candida albicans*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(7):e17105.
- [122] Yavaş ES (2015). Gıdalardan İzole Edilen *Enterobacteriaceae* Türlerinin Amino Asit Dekarboksilaz Aktivitesi Biyofilm Oluşumu ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [123] Kaliterna V, Kaliterna M, Hrenović J, Barišić Z, Tonkić M, Goic-Barisic I. (2015). *Acinetobacter baumannii* in Southern Croatia: Clonal Lineages, Biofilm Formation, and Resistance Patterns. *Infectious Diseases Journals*, 47(12):902-907.
- [124] Kireççi E, Kireççi M (2014). Aksu M. Klinik Örneklerden İzole Edilen *Acinetobacter baumannii* Türlerinin Antibiyotiklere Duyarlılıklarının Araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 44(2):65-69.
- [125] Ozansoy FA, Cevahir N, Kaleli İ (2014). Klinik Örneklerden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında Makrolid, Linkozamid Ve Streptogramin B Direncinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 49(1):1-14.
- [126] Çıkman A, Parlak M, Ceylan MR, Güdücüoğlu H, Berktaş M (2014). Çeşitli Klinik Örneklerden Soyutlanan Kandidaların Tür Dağılımı Ve Antifungal Direnci, *Van Tıp Dergisi*: 21(1):1-5.

[127] Şekil 7. *C. albicans*'ın (a) Sabouraud dekstroz agar besiyerindeki koloni morfolojisi ve (b) Gram boyama yöntemindeki görünümü <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com.tr/2009/12/candida-albicans.html> (Erişim: 05.03.2016)



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Abdulhamit ÇALI
Doğum Yeri : Eskişehir
Doğum Tarihi : 07.06.1992

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü 2010-2014
Lise Öğrenimi : Erzincan Ertuğrul Gazi Anadolu Lisesi 2006-2010
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Katıldığı Eğitim ve Seminerler

ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi Temel ve İç Tetkik Eğitimi / KAS-CERT
International ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi Temel ve İç Tetkik Sertifikası
/ KAS Uluslararası Sertifikasyon Göz. Tek. Kont. Hiz. Ltd. Şti. (29-30.10.2010)

İletişim

E-mail : abdul.hamit.c2@gmail.com