ISBN: 978-605-7505-92-7

Türkiye Klinikleri

ENFEKSİYON HASTALIKLARI

ÖZEL

BİYOFİLM ENFEKSİYONLARI

Editörler: Prof. Dr. Serhan SAKARYA
Doç. Dr. Şerife Barçın ÖZTÜRK

1 **Biyofilm Nedir?** Ayşe WILLKE TOPÇU
4 **"Quorum Sensing" ve Biyofilm** Vahide BAYRAKAL, Hüseyin BASKIN
14 **Bakteri ve Biyofilm** Şerife Barçın ÖZTÜRK
20 **Mantar ve Biyofilm** Nur YAPAR
26 **Diyabetik Ayak ve Kronik Yaralarda Biyofilm** Şamil AKTAŞ, M. Bülent ERTUĞRUL
33 **Enfektif Endokarditler ve Biyofilm** Serap ŞİMŞEK YAVUZ
40 **Ortopedik Enfeksiyonlar ve Biyofilm** Vahit YILDIZ, Serhan SAKARYA
45 **Kateter Enfeksiyonları ve Biyofilm** Necla EREN TÜLEK
51 **Yabancı Cisim Enfeksiyonları** Emel YILMAZ
56 **Kistik Fibrozis ve Biyofilm** Şule TAŞ GÜLEN, Emel CEYLAN
62 **Oral ve Dental Enfeksiyonlar ve Biyofilm** Senem YİĞİT ÖZER
66 **Anti-biyofilm Stratejiler** Serhan SAKARYA

www.turkiyeklinikleri.com www.dijitalakademi.org

Türkiye Klinikleri

ENFEKSİYON HASTALIKLARI

ÖZEL

BİYOFİLM ENFEKSİYONLARI

İÇİNDEKİLER CONTENTS

Ön Söz
Serhan SAKARYA

1 **Biyofilm Nedir?**
What is Biofilm?
Ayşe WILLKE TOPÇU

4 **"Quorum Sensing" ve Biyofilm**
"Quorum Sensing" and Biofilm
Vahide BAYRAKAL, Hüseyin BASKIN

14 **Bakteri ve Biyofilm**
Bacteria and Biofilm
Şerife Barçın ÖZTÜRK

20 **Mantar ve Biyofilm**
Fungal Agents and Biofilm
Nur YAPAR

26 **Diyabetik Ayak ve Kronik Yaralarda Biyofilm**
Biofilm in Diabetic Foot and Chronic Wounds
Şamil AKTAŞ, M. Bülent ERTUĞRUL

33 **Enfektif Endokarditler ve Biyofilm**
Infective Endocarditis and Biofilm
Serap ŞİMŞEK YAVUZ

40 **Ortopedik Enfeksiyonlar ve Biyofilm**
Orthopedic Infections and Biofilm
Vahit YILDIZ, Serhan SAKARYA

45 **Kateter Enfeksiyonları ve Biyofilm**
Catheter Infections and Biofilm
Necla EREN TÜLEK

51 **Yabancı Cisim Enfeksiyonları**
Foreign Body Infections
Emel YILMAZ

56 **Kistik Fibrozis ve Biyofilm**
Cystic Fibrosis and Biofilm
Şule TAŞ GÜLEN, Emel CEYLAN

62 **Oral ve Dental Enfeksiyonlar ve Biyofilm**
Oral, Dental Infections and Biofilm
Senem YİĞİT ÖZER

66 **Anti-biyofilm Stratejileri**
Anti-biofilm Strategies
Serhan SAKARYA

Bu çalışmada yayımlanan şekil/resimlerin renkli hâli için:
http://www.turkiyeklinikleri.com

Türkiye Klinikleri

ENFEKSİYON HASTALIKLARI

ÖZEL

EDİTÖR - EDITOR

Prof. Dr. Serhan SAKARYA *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, AYDIN)*

YARDIMCI EDİTÖR - ASSOCIATE EDITOR

Doç. Dr. Şerife Barçın ÖZTÜRK *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, AYDIN)*

YAZARLAR - AUTHORS

Prof. Dr. Şamil AKTAŞ *(İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp AD, İSTANBUL)*

Prof. Dr. Hüseyin BASKIN *(Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İZMİR)*

Dr. Vahide BAYRAKAL *(Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Translasyonel Tıp AD, İZMİR)*

Prof. Dr. Emel CEYLAN *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD, AYDIN)*

Prof. Dr. Necla EREN TÜLEK *(Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, ANKARA)*

Prof. Dr. M. Bülent ERTUĞRUL *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, AYDIN)*

Doç. Dr. Şerife Barçın ÖZTÜRK *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, AYDIN)*

Prof. Dr. Serhan SAKARYA *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, AYDIN)*

Prof. Dr. Serap ŞİMŞEK YAVUZ *(İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, İSTANBUL)*

Uzm. Dr. Şule TAŞ GÜLEN *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD, AYDIN)*

Prof. Dr. Ayşe WILLKE TOPÇU *(Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, KOCAELİ)*

Prof. Dr. Nur YAPAR *(Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, İZMİR)*

Uzm. Dr. Vahit YILDIZ *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji AD, AYDIN)*

Prof. Dr. Emel YILMAZ *(Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD, BURSA)*

Prof. Dr. Senem YİĞİT ÖZER *(Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti AD, AYDIN)*

Bu çalışmada yayımlanan bölümlerin yazar kurum bilgilerinde OHAL nedeniyle değişiklikler oluşmuş olabilir.
Bu değişiklikler nedeniyle oluşabilecek her türlü sorumluluk yazar(lar)ın kendisine ait olup, yayınevi herhangi bir sorumluluk kabul etmemektedir.

ÖN SÖZ PREFACE



Prof. Dr. Serhan SAKARYA
Editör



Doç. Dr. Şerife Barçın ÖZTÜRK
Yardımcı Editör

Dünyanın en eski canlı topluluğu olan mikroorganizmalar, diğer canlıların da gezegende varoluşları ile simbiyotik ve patojenite ilişkisi içinde günümüze kadar birlikte yaşamışlardır. İnsanlık tarihinde kitlesel ölümlere kadar önemli bir yeri olan mikroorganizmalar; bu kapsamda uzun yıllardır nasıl hastalık yaptıkları ve tedavi edilebilecekleri konusunda önemli araştırma alanı olmuştur. Bu araştırmalar sırasında bulunan birçok mikroorganizmaya ait özellikler, mikroorganizmanın yaşam şeklini ve buna bağlı olarak tedavi ajanlarının geliştirilmesi konusunda önemli noktalar olurken, bir kısmı ise o gün için önemsenmemiştir.

Biyofilm; tanımlandığı dönemde çok önemsenmeyen, fakat artan antibiyotik direnci ve bazı kritik enfeksiyonların tedavisindeki güçlük sonucu yapılan araştırmalarda, mikroorganizmanın kendisi için zararlı olabilecek koşullardan korunmada ve yaşamını sürdürmede kullandığı ve kendisi tarafından yapılan önemli bir fenotipik özellik olduğu belirlenmiştir. Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile yapılan mikroskobik gözlemlerde; bakterilerin doğadaki sıvısal ekosistemlerde farklı yüzeylere yapışarak çoğalmasının %99,9 oranında biyofilm aracılığı ile olduğu ve insanlarda oluşan enfeksiyonların %65'inin de biyofilm enfeksiyonu olduğu gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle katater, implant, stent gibi yabancı cisimlerde, kistik fibrozis, prostatitis, endokarditis ve kronik yara enfeksiyonları gibi klinik durumlarda yoğun olarak biyofilm oluşumu ile karşılaşılmaktadır. Buna ek olarak günümüzde derin yeraltı suları ve okyanusların derinlikleri hariç, biyofilmin tüm doğal ekosistemde oluşabildiği kabul edilmektedir.

Günümüzde gelişen tıp teknolojisi ve uygulanan tedaviler sonucu oluşan enfeksiyonların büyük bir kısmı, hekimlerin tedavide zorlandıkları konulardan biri hâline gelmiştir. Bunlardan, biyofilm ilişkili enfeksiyonların oluşumu ve tedavisi konusunda sorunların iyi belirlenmesi, biyofilm oluşumu ve oluşmuş biyofilmin yok edilmesine yönelik stratejilerin geliştirilmesi, günümüz sorunlu enfeksiyonlarında önemlidir. Buradan yola çıkarak biyofilmin; ne olduğu, oluş şekli, oluşturduğu enfeksiyonlar ve biyofilme yönelik tedavi stratejilerinin mercek altına alındığı "Biyofilm Enfeksiyonları" çalışması, değerli araştırmacılar, hocalarım ve Türkiye Klinikleri yönetimi ve yazı işleri servisinin ortak çalışması sonucunda mümkün olmuştur. Emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Diyabetik Ayak ve Kronik Yaralarda Biyofilm

Biofilm in Diabetic Foot and Chronic Wounds

Şamil AKTAŞ,[a]
M. Bülent ERTUĞRUL[b]

[a]Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp AD,
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi,
İstanbul, TÜRKİYE
[b]Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji AD,
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Aydın, TÜRKİYE

Yazışma Adresi/*Correspondence:*
M. Bülent ERTUĞRUL
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları ve
Klinik Mikrobiyoloji AD,
Aydın, TÜRKİYE
bulentertugrul@yahoo.com

KAYNAK GÖSTERMEK İÇİN:
Aktaş Ş, Ertuğrul MB. Diyabetik Ayak ve Kronik Yaralarda Biyofilm. Sakarya S, editör. Biyofilm Enfeksiyonları. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2018. p.26-32.

ÖZET Kronik yara günümüzde her geçen gün görülme sıklığı artan önemli bir halk sağlığı sorunu olarak hekimlerin uğraş alanına girmektedir. Venöz ülserler, bası yaraları ve diyabetik ayak yaraları en önemli kronik yara çeşitleri olarak sayılabilir. Bu yaraların tedavi edilmesi zor iken bir de bunların enfekte olması tedaviyi daha da zorlaştırmaktadır. Enfekte kronik yaranın tedavisinin zorlaşmasındaki en önemli faktör ise enfeksiyona yol açan etkenlerin biyofilm üretmesidir. Bu derlemede kronik yara enfeksiyonlarında biyofilmin önemi ve tedavi yöntemleri açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik ayak; yara enfeksiyonu; biyofilmler

ABSTRACT Chronic wounds have become an important public health problem increasingly frequent last few decades. Venous ulcers, compression wounds and diabetic foot injuries are among the most important types of chronic wounds. Especially in the case of infection in these wounds, treatment is much more difficult than in non-infected wounds. The most important factor in the treatment of infected chronic wounds is the causative bacteria to produce biofilm. In this review, importance and treatment methods of biofilm in chronic wound infections are explained.

Keywords: Diabetic foot; wound infection; biofilms

YARA İYİLEŞMESİ

Yara, doku bütünlüğünün türlü nedenlerle bozulması; yara iyileşmesi de bozulmuş olan bu bütünlüğün sağlanmasına yönelik olarak organizmanın gösterdiği tüm çabalar olarak tanımlanabilir. Yara iyileşmesi süreci oldukça karmaşık, birbiri ile üst üste binen ve iyi düzenlenmiş üç ayrı basamakta gerçekleşir: inflamasyon, doku oluşumu/proliferasyon ve dokunun olgunlaşması/yeniden şekillenmesi. Bu basamakların hemen başına kanamanın durdurulması sürecini, koagülasyon ve hemostazı da yerleştirmek gerekir. Basamakların her birinde çok sayıda hücre görev alır ve bu hücreler hem kendilerinin, hem de birbirlerinin işlevlerini düzenleyecek sitokinler üretirler.

Yara oluşur oluşmaz yara iyileşme süreci de başlar. Koagülasyonda rol oynayan trombositler kanamayı durdururken buraya göç edecek hücreler için de temel bir matriks yapı oluştururlar. Bir yandan da salgıladıkları çeşitli büyüme faktörleri ve kemotaktik ajanlarla nötrofil ve monositleri çağırarak inflamasyon aşamasını başlatırlar. İnflamasyonun başlıca amacı yaralanmış dokunun debridmanının sağlanmasıdır. Öte yandan bu hücrelerin salgıladığı büyüme faktörleri dokunun yeniden yapılması sürecini tetikler. Doku oluşumu/proliferasyon aşaması başlıca granülasyon, anjiogenez ve epitelizasyon işlemlerini içerir. Bu süreçte görev alan esas hüc-

reler, fibroblastlar, keratinositler ve damar endotel hücreleridir. Fibroblastlar ekstrasellüler bir matriks üreterek doku boşluğunu dolduracak yapı iskeletini inşa ederler. Bu matrikse yerleşecek hücrelere besin ve oksijen, damar endotel hücreleri tarafından oluşturulan yeni kapiller damar ağı ile sağlanır. Yeterli granülasyon dokusu sağlandığında yara kenarından veya epitelyal kalıntılardan keratinositler çoğalarak yaranın üzerini kapatırlar. Yara kapatıldıktan sonra keratinositler yukarıya doğru çoğalıp farklılaşarak çok katlı yapıyı oluştururlar. Saatler ve günlerle tariflenen bu aşamalardan sonra aylar ve hatta yıllar içinde yaranın değiştiği, defalarca yeniden yapıldığı döneme; dokunun olgunlaşması/yeniden şekillenmesi dönemine geçilir. Böylece fibronektin ve Tip III kollajen yapıdan daha kontrakte, daha esnek ve ağırlıklı olarak Tip I kollajen yapıya dönüşüm gerçekleşir.

KRONİK YARALAR VE ÖNEMİ

Yukarıda özet olarak anlatılan yara iyileşme süreci eğer sorunsuz olarak gerçekleşirse bu tip yaralar problemsiz yaralar, akut yaralar olarak isimlendirilir. Ancak ne yazık ki tüm yaralar sorunsuz değildir. Hastaya, dokuya veya yaralanmaya ait nedenlerle bazı yaralar problemlidir. Bunlar geç veya güç iyileşir, hatta iyileşemezler. Bu tip yaralar için problemli yara veya kronik yara terimleri kullanılır. Çeşitli kaynaklarda akut-kronik yara ayrımı yapmak için belirli süreler verilse de asıl olan *beklenen sürede* iyileşemeyen yaraların kronik yara olarak kabul edilmesidir. Kronik yaraların inflamasyon fazında takıldığı kabul edilir.

Kronik yaralar başlıca diyabetik ayak, venöz bacak ülseri, bası yarası, arteriyel yetmezlik yaraları olarak sınıflandırılırlar. Bunlardan başka daha seyrek rastlanan vaskülitik yaralar, radyoterapiye bağlı yaralar, cerrahi alan yaraları vs gibi kronik yara türleri de bulunmaktadır. Kronik yaraların önemi, çok sayıda hastayı ilgilendirmesi, önemli bir morbidite ve hatta mortalite sebebi olmaları ve sağlık ekonomisi üzerine bindirdiği yükler nedeniyledir. Ülkemizde kronik yara sıklığı ile ilgili sağlıklı istatistiksel veriler bulunmamaktadır. Buna karşın uluslararası verilere dayanarak hesaplama yapılabilir. Venöz bacak ülserlerinin dünya popülasyonunun %1'ini ilgilendirdiği bilinmektedir.[1] Yaklaşık 10 yıl önce beş Avrupa ülkesinde yapılan bir çalışmada hastanede yatan hastalar arasında bası yarası sıklığı ortalama %18,1 olarak saptanmıştır. İtalya'da bu oran %8,3 ile en düşük, İsveç'te %22,9 ile en yüksektir.[2] Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Basınç Ülseri Tavsiye Paneli'nin birçok çalışmayı derlediği çalışmasında bası yarası insidansları evde bakılanlarda %0-17, akut bakım alanlarında %0,4-38, uzun süreli bakım alanlarında ise %2,2-23,9 gibi oldukça büyük farklılıklar göstermektedir.[3] Ülkemizde yapılan çalışmalarda bası yarası sıklığı için değişik oranlar verilmiştir. Örneğin hastanede yatan hastalarda bu oran iki farklı çalışmada %7,2 ve %10,4, spinal kord hasarlı hastalarda %28,4 ve yoğun bakım ünitesinde yatan hastalarda yapılan üç farklı çalışmada sırası ile %10,5, %17 ve %20,6 olarak bulunmuştur.[4-10]

Diyabet ve diyabetik ayak da hem küresel hem de ulusal bir problemdir. Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)'nun her iki yılda bir yayımladığı Diyabet Atlası'nın 2017 sayısında tüm dünyada erişkin nüfusta diyabetik hasta sayısı 425 milyon kişi olarak belirtilmiştir. IDF'nin öngörülerine göre bu değerler 2040 yılında %10,4 ve 642 milyona ulaşacaktır. Ülkemiz maalesef dünya ortala- malarına kıyasla daha kötü durumdadır. Ülkemizde diyabet ve metabolik hastalıklara yönelik yürütülen en kapsamlı epidemiyolojik araştırmalar, TURDEP I ve II sonuçlarına göre, ülkemizde yetişkin nüfusta diyabet prevalansı 1998-2010 yılları arasında geçen 12 yılda %90 oranında artarak %13,7'ye ulaşmıştır.[11,12] IDF verileri daha da kötüdür: Avrupa'da diyabetli sayısı açısından ülkemiz Rusya Federasyonu ve Almanya'nın ardından gelmekte, diyabet sıklığı açısından ise ilk sırayı almak- tadır.Ülke nüfusumuzun henüz genç olduğu ve giderek yaşlandığı dikkate alınırsa, bu rakamların daha da yukarılara tırmanacağı açıktır. Hesaplamalara göre her yüz diyabetliden 15'inin, yaşamının bir döneminde ayağında yara açılacağı kabul edilmektedir.[13] Ayağında yarası bulunanlarda bacak ampütasyonu oranı %14-24 arasında değişmektedir.[14]

Yaraların kronikleşmesinin yara türlerine göre bilinen nedenleri bulunmaktadır: Venöz ülserde artmış venöz basınç, bası yaralarında dokuya etki eden basınç ve makaslama kuvvetleri, diyabetik ayakta nöropati ve vaskülopati gibi. Bunlar dışında yara iyileşmesini geciktiren ve yarayı kronikleştiren diğer faktörler de bulunmaktadır: malnutrisyon, bozulmuş immunite, perfüzyon bozukluğu ve yara yeri enfeksiyonu. Son yıllarda giderek artan bilimsel veriler, enfeksiyonun ve özellikle yarada biyofilm oluşumunun yara iyileşmesini geciktiren sıradan bir etken olmadığını, çok daha önemli bir rol oynadığını ve adeta yarayı kendi başına kronikleştiren bir faktör olduğunu göstermektedir.

YARADA BİYOFİLM SIKLIĞI

Biyofilmin tüberküloz, diş hastalıkları, kistik fibroz, kronik otitis media gibi dirençli hastalıklarda veya vücut içinde kullanılan yabancı cihazların enfeksiyonlarında önemi uzun yıllardır bilinmektedir. İnsanlardaki enfeksiyon hastalıklarının %80 kadarının biyofilm ilişkili olduğu, bakterilerin %99'undan fazlasının doğada biyofilm ortamında bulunduğu bilinmektedir.[15] Kronik yara da biyofilmin özel bir önem taşıdığı hastalıklar arasındadır. James ve ark. mikroskopik yöntemlerle inceledikleri 50 kronik ve 16 akut yara örneğinde biyofilm sıklığını kronik yaralarda %60, akut yaralarda ise %6 olarak saptadılar.[16] Bu alanda yapılan daha yeni bir sistematik derleme ve meta-analiz çalışmasında kronik yaralarda biyofilm prevalansı %78,2 olarak bulunmuştur. Çalışmanın ilginç yönü derlemeye alınan 8 çalışmadan üçünde sıklık %60, diğer altı yayında ise %100 düzeyindedir.[17]

YARADA BİYOFİLM GELİŞİMİ

Yarada enfeksiyon ajanlarının yerleşimi geleneksel olarak; kontaminasyon, kolonizasyon, kritik kolonizasyon ve enfeksiyon aşamaları altında incelenir. Biyofilm gelişimi açısından bu aşamalar şu şekilde ele alınabilir:[18]

Planktonik adı da verilen tek tek bakteriler yara yüzeyine yerleşirler. Bunlar toprak, su, başka hastalardan olduğu gibi eksojenik; ya da deri, tükürük, idrar veya dışkıdan olduğu gibi endojenik kaynaklı olabilirler. Bu aşamada bakteriler çoğalmazlar ve yaraya yapışırlar. Bu yapışma oldukça güçsüz ve geri dönüşlüdür.

İkinci aşamada bakteriler çoğalmaya ve koloni oluşturmaya başlarlar. Yapışma giderek daha güçlü hale gelir. Bu aşamada bakteriler farklılaşmaya, birbirleri ile iletişim kurarak gen değişimi yoluyla direnç geliştirmeye başlarlar. Bakterilerin birbirleri ile iletişimi *quorum sensing* olarak isimlendirilir.

Üçüncü aşamada yara tabanına sıkıca yapışan bakteriler ekstrasellüler polimerik madde (EPS) adı verilen yapışkan balçığımsı koruyucu bir tabaka salgılarlar. Salgılayan mikroorganizmaya göre değişmekle birlikte bu maddenin bileşiminin %80'i polisakkarid, protein, glikolipid ve nükleik asitten oluşur. Bu yapı içinde yerleşen mikroorganizmalar ancak %20'sini oluştururlar.[19]

Biyofilmin tam olarak olgunlaşmasıyla son aşama gerçekleşir. Bu aşamada biyofilmden planktonik bakteriler, koloniler veya biyofilm parçaları koparak yayılırlar. Bunlar yaranın diğer kısımlarına taşınarak buralara yapışırlar.

Bir bakterinin yara yatağına yapışması, biyofilm oluşturması ve bunun olgunlaşması sanılandan çok daha kısa sürelerde gerçekleşir. Çeşitli planktonik bakteri türleri ile yapılan deneysel çalışmalara göre bakterinin yara yatağına yapışması dakikalar içinde gerçekleşmekte, bakteriler 2-4 saat içinde yara yatağına yapışık mikrokoloniler oluşturmakta, 6-12 saat içinde EPS üreterek direnç geliştirmekte ve oluşan biyofilm 2-4 gün içinde olgunlaşmaktadır. Olgun biyofilm mekanik olarak debride edildiğinde kalan parçanın kendini onarması en fazla 24 saatte gerçekleşmektedir.[18]

BİYOFİLM VE ARTMIŞ DİRENÇ

Planktonik bir bakteri ile biyofilm içine yerleşmiş bakteri arasında birçok önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bu durum bakterinin direncini önemli ölçüde arttırır.

Öncelikle biyofilm mekanik bir diffüzyon bariyeri oluşturur. Böylece büyük moleküllerin ve konak savunma hücrelerinin mikroorganizmalara ulaşması engellenir. Olgun bir biyofilm tabakası antimikrobiyal ajanlar gibi küçük moleküllerin diffüzyonunu bile engellerler. EPS molekülleri bir yandan antimikrobiyal ajanları bağlayabilir veya nötralize edebilir.

Biyofilmin besin açısından daha uygun olan dış kısımlarında bulunan mikroorganizmalar metabolik olarak aktiftirler. Oysa biyofilmin derinliklerinde yer alan aynı mikroorganizmanın alt grupları ya da farklı mikroorganizmalar pasif durumdadırlar. Antibiyotiklerin etkinliği mikroorganizmaların metabolik aktifliği ile doğrudan ilişkili olduğu için bu uyku halindeki mikroorganizmalar doğal bir direnç içindedirler.[15]

Polimikrobiyal biyofilmlerin önemli bir özelliği de direnç gelişiminde rol oynar. Özellikle betalaktamaz üreten türlerin betalaktamazları diğer bakterilerin de etkilenmesini engelleyebilir. Mikroorganizmalar arasında hatta faklı türler arasındaki gen değişimi de antibiyotik direncinin diğerlerine aktarılmasını sağlar.

Biyofilm içindeki mikro ortamda pH, pO_2 ve pCO_2 değerleri değişir. Bu durum antibiyotiklerin etkinliğini düşürür.[20]

Biyofilmin yarattığı önemli bir sorun da uygun antibiyotik seçimidir. Yara enfeksiyonlarında uygun antibiyotik seçiminin önündeki, sürüntü kültürü/derin doku kültürü, besiyeri seçimi, mikroskobik yöntemler/moleküler yöntemler gibi genel mikrobiyolojiyi ilgilendiren sorunlara ek olarak biyofilm de önemli sorunlar yaratır. Biyofilmin küçük topluluklar halinde yara yüzeyinin her yerine eşit dağılmaması, dağılımının heterojen olması,

ayrıca daha derin dokularda da bulunması, negatif veya yanlış kültür sonuçlarını açıklamaktadır.[21-24] Polimikrobiyal biyofilmlerde kolayca üretilen mikroorganizmalar yanında zor üreyen mikroorganizmalar virülansı yanında, biyofilm oluşumundan ve yara enfeksiyonunun kronikleşmesinden sorumlu zor üreyen, virülansı yüksek mikroorganizmalar da bulunabilir. Besiyerinde, uygun gelişme şartlarında üreyen mikroorganizmalar genellikle biyofilm içinde yerleşmiş mikroorganizmadan genotip bakımından farklı olmasa da fenotip bakımından farklı olabilir. Böylece doğrudan biyofilm içindeki mikroorganizma üretilmiş olsa bile, bunların antibiyotik duyarlılığı gerçeği yansıtmayabilir.[25]

BİYOFİLM VE BOZULMUŞ YARA İYİLEŞMESİ

Biyofilm ile ilişkili olarak yara iyileşmesinde gecikme ve yaranın kronikleşmesine yönelik yayınlar giderek önem kazanmaktadır.[26-28] Yapılan deneysel çalışmalar biyofilmin birçok değişik mekanizma ile yara iyileşmesinde gecikmeye yol açtığını göstermektedir.

Biyofilm, kronik inflamatuar yanıt artışına yol açar. Böylece makrofaj ve nötrofillerden salgılanan oksjen radikalleri, proteazlar ve elastaz biyofilmin parçalanmasına, yapıştığı yerden ayrılmasına ve biyofilm içine yerleşen mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasına yarar. Ancak çoğu zaman olgunlaşmış bir biyofilmi ortadan kaldırmak mümkün olmaz. Öte yandan artmış inflamatuar yanıt konağın normal ve iyileşen dokularına, proteinlerine ve immün hücrelerine de zarar verir ve yara iyileşmesi bozulur. Hatta ileri sürülen bir görüşe göre biyofilmin ortadan kalkmasına yeterli gelmeyen inflamatuar yanıt, artmış sekresyon miktarı ile biyofilm içindeki mikroorganizmaların beslenmesine yardımcı olur.[18]

Yara iyileşmesinde rol oynayan başlıca hücreler, keratinositler ve fibroblastlar üzerine çeşitli mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilmin etkileri birçok deneysel model ile araştırılmıştır. Keratinosit ve fibroblast hücre kültürleri yanında daha karmaşık bir model olarak deri eşdeğerleri de bu tip çalışmalarda kullanılmıştır. Çalışmaların ortak noktaları biyofilmin hem keratinositler hem de fibroblastların göçüne, gelişmesine ve canlılığına yönelik zararlı etkilerini ortaya koymasıdır. Artmış inflamatuar yanıt, epidermal ve dermal yapıların hasarları da çalışmaların ortak sonucudur.[29-34] Deneysel çalışmalarda ortaya konan bir durum da keratinosit ve fibroblastların yara iyileşmesinde önemli bir işlevi olan sitokin ve büyüme faktörü sentezleme yeteneğinin biyofilm etkisiyle değişmesidir.[33,35]

Yara iyileşmesinin önemli bir bileşeni de ortamda yeterli basınçta oksijen bulunmasıdır. Mikroelektrod kullanılarak yürütülen deneysel çalışmalarda biyofilm varlığında oksijen düzeyinin önemli oranda düştüğü ve hipoksi geliştiği, bu durumun yara iyileşmesi için gereken oksijen miktarının ortamda bulunmadığı gösterilmiştir.[32,34,36]

KLİNİK GÖRÜNÜM

Kronik yarada biyofilm varlığından şüphe duyulmasını sağlayacak klinik görünüm üzerine tartışmalı görüşler bulunmaktadır. Soluk yara tabanı, sarı akıntı, nekrotik doku varlığı, balçık görüntüsü, kötü koku, kültürde biyofilm oluşturma yeteneği bulunan mikroorganizmaların üremesi, kırılgan granülasyon dokusu, ağrı ve aşırı kırmızı yara yatağı görünümü gibi çeşitli indikatörler üzerinde durulmaktadır. Uzun süreli ve uygun antimikrobiyal tedaviye yanıt vermeyen bir yara varlığı biyofilmden şüphelenmeyi gerektirir. Yara yüzeyinin parlak ve parıltılı görünümünün de biyofilm varlığını işaret ettiği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte günümüzde boyama ve mikroskobik teknikler gibi laboratuvar yöntemlerin dışında biyofilm varlığını klinik olarak ortaya koyacak genel kabul görmüş bir indikatör bulunmamaktadır.[37-39.]

Özel bir dikkat yara yüzeyinde görülen pseudomembranöz jelatinimsi tabakaya ve sarı fibrin yapıya verilmelidir. Bu yapılar sıklıkla biyofilm ile karıştırılmaktadır. Oysa bu yapılar zengin protein içerikli yara sekresyonunun bir sonucudur. Biyofilmin 100 μm'den küçük yapılar olduğu ve çoğu durumda yara yatağında 50-70 μm derinlikte yerleştiği, bu nedenle çıplak gözle görülmesinin mümkün olmadığı gösterilmiştir.[40,41] Başlıca fibrin gibi plazma proteinleri, özellikle kollajen içerikli parçalanmış ekstrasellüler matriks yapıları ve ölü dokuların bir bileşimi olan bu sarı fibrinotik doku biyofilm değildir, ancak biyofilm yerleşimi için ideal bir ortamdır. Yine bu yapılar artmış inflamatuar yanıtın, aşırı sekresyonun bir göstergesi olduğundan biyofilm varlığı için bir haberci olabilir, mutlaka debride edilmelidir, ancak doğrudan biyofilmin kendisi değildir.[39]

DİYABETİK AYAK ENFEKSİYONLARINDA BİYOFİLM

Diyabetin en sık ve ciddi komplikasyonlarından birisi olan ayak ülserleri kronik yaranın en iyi örneklerinden biridir ve diyabetik hastaların %12-25'i yaşamlarının herhangi bir döneminde ayak sorunu nedeniyle sağlık kuruluşlarına başvururlar.[42] Diyabetik ayak ülserlerinin yarısından fazlasında enfeksiyon vardır ve bu enfeksi-

yonların yarısına yakını ise kemiği de tutar.[43] Ne yazık ki, bu durumda çoğu kez ampütasyon bir tedavi yöntemi olarak uygulanır. Bu gün tüm dünyada diyabetin ayak komplikasyonu nedeniyle her 30 saniyede bir ayak kaybı yaşanmakta ve bu ampütasyonların %60'ı ise ayak enfeksiyonu nedeniyle olmaktadır.[44,45]

Mikroorganizmalar genellikle olumsuz koşullarda biyofilm yaparlar. Pürüzlü yüzeyler, besin yetersizliği, oksijen radikalleri, ısı ve uygun pH biyofilm oluşumnu etkiler ve dayanıklı, viskozitesi yüksek biyofilm oluşumunu neden olur. Diyabetik ayakta diyabetin oluşturduğu vaküler hasara bağlı yeterli oksijenasyonun olmaması ve yüksek glikoz düzeyi nedeniyle oluşan ileri glikolizasyon ürünlerine bağlı devam eden sürekli inflamasyon sonucu ortaya çıkan oksijen radikalleri yarada biyofilm oluşmunu kolaylaştırıcı önemli faktörlerdir. Ayrıca ortamdaki yüksek glikozun bakteriler tarafından kullanılabilmesinin *Pseudomonas* spp., *Esherichia coli* ve stafilokoklarda biyofilm oluşumunu arttırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.[46,47] Ülkemizde diyabetik ayak enfeksiyonlarının etkenlerine yönelik yapılan çalışmalarda yine bu üç bakteri diyabetik ayak etkeni olarak öne çıkmaktadır. Son 15 yıl içinde yayımlanmış diyabetik ayak enfeksiyonları etkenlerinin araştırıldığı çalışmaların analizinin yapıldığı ve yakın zamanda yayımlanmış çalışmaya göre ülkemizde en sık görülen ilk üç etken sırasıyla *Staphylococcus aureus* (%22.8), *Pseudomonas aeruginosa* (%16.7) ve *E.coli* (%12.9)'dir.[48] Bu da diyabetik ayak enfeksiyonlarında yüksek biyofilm olması gerektiğini düşündürmektedir. Ancak gerek ulusal gerekse uluslararası düzeyde diyabetik ayak enfeksiyonu ve biyofilm ilişkisi araştıran çok fazla çalışma ne yazık ki bulunmamaktadır. Diyabetik ayak enfeksiyonu etkeni bakterilerin biyofilm oluşturma oranı ile ilgili ülkemizde yapılmış ve yakın zaman önce yayımlanmış bir çalışmaya göre tüm etkenler dikkate alındığında bu oran %82.7 gibi yüksek bir oran olarak saptanmıştır.[49] Aynı çalışmada *P. aeruginosa* için bu oran %93.7 iken *S.aureus* için %75'dir. Değişik ülkelerde diyabetik ayak enfeksiyonu etkeni olan *P. aeruginosa* için %26.5 ile %82.5 arasında verilmektedir.[50,51] Bu farklılığın temel nedeni biyofilm incelemesi için çalışmaların standart bir yöntem kullanmamalarıdır. Yine de yapılan çalışmalar diyabetik ayak enfeksiyonlarında tüm etkenler için bu oranı %60-80 arasında vermektedir.[50,52]

TEDAVİ YAKLAŞIMI

Kronik yarada biyofilmin önemi arttıkça yara tedavisinde **"biyofilm odaklı yara tedavisi"** yaklaşımı önem kazanmıştır. Ancak günümüzde bu yaklaşımı tek başına karşılayacak bir tedavi bulunmamaktadır. Yaklaşım birçok tedavi biçiminin uygun kombinasyonu ile sağlanmaktadır.

Biyofilm ile mücadelede en önemli yaklaşım debridmandır. Debridman sayesinde yalnızca biyofilm parçalanmaz veya yara yatağın uzaklaştırılmaz. Ayrıca fibrinotik veya ölü dokular gibi biyofilm yerleşmesi için uygun yapılar da ortadan kaldırılır. Yara debridmanı geniş bir yelpazede ele alınmaktadır: Nemli yara ortamının sağladığı otolitik debridman, bazı proteolitik enzimleri kapsayan enzimatik debridman, sinek kurtçuklarıyla biyolojik debridman, ultrasonik debridman gibi fiziksel debridman yöntemleri ve en önemlisi çeşitli cerrahi debridman türleri. Biyofilmle mücadele için cerrahi debridman yöntemleri dışındaki yöntemler hakkında belirgin bir konsensus bulunmamaktadır. Ancak debridman ile biyofilmin tamamen uzaklaştırılamayacağı; devitalize dokuların tamamen kaldırılmasının biyofilmi de tamamen yok etmeyeceği, debridmandan sonra biyofilmin hızla tekrar oluşacağı konularında uzmanlar görüş birliği içindedirler.[39] Gerçekten de debridmandan sonra yara yatağında yeni biyofilm 24 saatten az bir sürede gözlenmektedir.[22]Ancak debridmanın önemli bir yararı biyofilm olgunlaşana kadar geçen sürede bakterilerin antibiyotik, antiseptik ve konak savunma faktörlerine karşı direncinin kırılmış olmasıdır. Böylece biyofilm ile mücadelede debridman tek başına ele alınmamalı, seri debridmanlar sırasında sağlanan tedavi aralığında diğer etkin yöntemler de tedaviye eklenmelidir.[22,39]

Biyofilm varlığında antibiyotiklere direncin çeşitli sebepleri bulunmaktadır. Bunlar; biyofilm içine diffüzyon zorluğu, EPS molekülleri ile birleşerek bunları etkisiz kılması, biyofilm içindeki oksijen, pH, düşük besin vs gibi özelliklerin antibiyotik etkinliğini azaltması, biyofilm içinde düşük metabolik hızlara sahip bakterilerin antibiyotiklerden etkilenmemesi gibi faktörlerdir. Bazı iskemik yara türlerinde dokulara yeterli antibiyotiğin ulaşmaması da ayrı bir sorundur. Yine de özellikle seri debridmanlarla sağlanan tedavi aralığında uygun antibiyotik kullanımı mikroorganizmaların eradikasyonuna ve yeni biyofilm oluşmasının engellenmesine katkı sağlayacaktır. Eğer antibiyotik kullanımı gerekiyorsa dapdomisin, tigesiklin ve rifampisin gibi biyofilm içine penetre olabilen ve buradaki bakterilere etkili olan antibiyotiklerin seçilmesi uygun olacaktır.[53]

Biyofilmle mücadelede çeşitli antiseptiklerin kullanımı önerilebilir. Gümüş, iyod, poliheksametilen biguanid (PHMD), bal ve hipokloröz asit gibi ürünlerin yara

enfeksiyonu tedavisinde biyofilm üzerine etkinliği bulunduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir.[54-60] İyileşmesi durmuş bir yarada ilk tedavi seçeneklerinden biri olarak uygun antiseptik kullanımı, öte yandan antiseptik tedavinin debridman yerine geçemeyeceği konusunda genel bir konsensus bulunmaktadır. İdeal antiseptik ajan olgun biyofilme de penetre olabilmeli, biyofilm içinde beklenen konsantrasyonunu korumalı ve elbette sağlıklı doku ve konak hücrelerine zararlı olmamalıdır.[39]

Biyofilm mücadelesinde kullanımı önerilen bir grup da antibiyofilm ajanı olarak tanımlanmaktadır. Bunlar biyofilme etkilerini çeşitli mekanizmalarla gösterirler: hücresel iletişimin baskılanması, biyofilm matriksinin parçalanması, biyofilm içinde hücre metabolizmasının artırılması, bakterilerin yapışma yeteneklerinin azaltılması gibi. Antibiyofilm ajanı olarak önerilen maddelerin çoğu deneysel olarak araştırılmış ancak klinik etkinlikleri test edilmemiştir. Bunların özel olarak kronik yara ortamındaki biyofilme etkinliğinin araştırıldığı çalışmalar da az sayıdadır. Laktoferrin, Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), RNA III inhibitör peptid, Ksilitol, Dispersin B, Galyum, Asetil salisilik asit bu grup arasında sayılabilir.[15,61-63] Benzer şekilde bakteriyofaj olarak adlandırılan virüsler, glukoz oksidaz ve vurgulu (pulsed) elektrik alan yöntemi de antibiyofilm etkinliği bulunan yöntemlerdendir.[64,65]

SONUÇ

Kronik yara önemli bir sağlık sorunudur. Son yıllarda elde edilen bilimsel veriler kronik yara enfeksiyonu ve özellikle biyofilm oluşumunun yaranın kronikleşmesini etkileyen en önemli etkenler arasında olduğunu ortaya koymaktadır. Yara tedavisi içinde "biyofilm temelli yara tedavisi" kavramı giderek önem kazanmaktadır. Günümüzde biyofilmi kolayca saptayacak rutin kullanıma girmiş bir klinik veya laboratuvar yöntemi bulunmamaktadır. Benzer şekilde biyofilm sorununu ortadan kaldıracak tek bir tedavi yaklaşımı da yoktur. Bu alanda özel bir tedavi geliştirilene dek, yara yatağı hazırlama (TIME) konsepti içinde yaranın seri debridmanı ve biyofilme etkili ajanların kullanımı en etkin yol olarak gözükmektedir.

KAYNAKLAR

1. Trent JT, Falabella A, Eaglstein WH, Kirsner RS. Venous ulcers: pathophysiology and treatment options. Ostomy Wound Manage 2005; 51(5):38-54.
2. Vanderwee K, Clark M, Dealey C, Gunningberg L, Defloor T. Pressure ulcer prevalence in Europa: a pilot study. J Eval Clin Pract 2017;13(2): 227-35.
3. NPUAP Advisory Panel. Pressure ulcers in America: prevalence, incidence, and implication for the future. An executive summary of the National Pressure Ulcer Advisory Panel monograph. Adv Skin Wound Care 2001; 14(4):208-15.
4. Hug E. AKM, Ünalan H, Karamehmetoğlu ŞS, Tüzün Ş, Gürgöze M, Tüzün F. Bir eğitim hastanesinde bası yarası prevalansı ve bası yarası gelişiminde etkili risk faktörleri. Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Dergisi 2001; 47:3-11.
5. İnan DG, Öztunç G. Pressure ulcer prevalence in Turkey: a sample from a university hospital. J Wound Ostomy Continence Nurs 2012;39(4): 409-13.
6. Alaca R, Hazneci B, Göktepe S, Gündüz Ş, Kalyon TA. Spinal kord hasarlılarda bası yarası gelişimi için risk faktörleri. Gülhane Tıp Dergisi 2001;43:25-9.
7. Kıraner E, Terzi B, Uzun Ekinci A, Tunalı B. Yoğun bakım ünitemizdeki basınç yaraları insidansı ve risk faktörlerinin belirlenmesi. Yoğun Bakım Hemşireliği Dergisi 2016;20(2): 78-83.
8. Özyürek P, Yavuz M, Yıldız Ö. Investigation of the risk factors of pressure ulcers in intensive care unit patients: According to the Braden Scale. East J Med 2016;21(1):1-9.
9. Katran HB. Bir Cerrahi yoğun bakım ünitesi'nde bası yarası görülme sıklığı ve bası yarası gelişimini etkileyen risk faktörlerinin irdelenmesi. G.O.P. Taksim E.A.H.JAREN 2015; 1(1):8-14.
10. Karadağ M. Gümüşkaya N. The incidence of pressure ulcers in surgical patients: a sample hospital in Turkey. J Clin Nurs 2006;15(4):413-21.
11. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care 2002;25(9):1551-6.
12. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. Eur J Epidemiol 2013;28(2): 169-80.
13. Reiber GE. The epidemiology of diabetic foot problem. Diabetes Med 1996;13(suppl,1):6-11.
14. American Diabetes Association. Consensus development conference on diabetic foot wound care. Diabetes Care 1999;22(8):1354-60.
15. Rhoads DD, Wolcott RD, Percival SL. Biofilms in wounds: management strategies. J Wound Care 2008;17(11):502-8.
16. James GA, Swogger E, Wolcott R, deLancey Puccini E, Secor P, Sestrich J, et al. Biofilms in chronic wounds. Wound Rep Reg 2008;16(1):37-44.
17. Malone M, Bjarnsholt T, McBain AJ, James GA, Stoodley P, Leaper D, et al. The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. J Wound Care 2017;26(1):20-5.
18. Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS. Biofilms made easy. Wounds International 2010;1(3):1-6.
19. Flemming HC, Neu TR, Wozniak DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells". J Bacteriol. 2007;189(22):7945-7.
20. Walters MC, Roe F, Bugnicourt A, Franklin MJ, Stewart PS. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of Pseudomonas aeruginosa biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. Antimicrob Agents Chemother 2003;47(1):317-23.
21. Fazli M, Bjarnsholt T, Kirketerp-Møller K, Jørgensen B, Andersen AS, Krogfelt KA, et al. Nonrandom distrubution of Pseudomonas aeruginosa and Stahpylococcus aureus in chronic wounds. J Clin Microbiol 2009;47(12): 4084-9.
22. Wolcott RD, Rumbaugh KP, James G, Schultz G, Phillips P, Yang Q, et al. Biofilmmaturity studies indicate sharp debridement opens a time- dependent therapeuticwindow. J Wound Care 2010;19(8):320-8.

23. Rhoads DD, Wolcott RD, Sun Y, Dowd SE. Comparison of culture and molecularidentification of bacteria in chronic wounds. Int J Mol Sci 2012;13(3):2535-50.
24. Price LB, Liu CM, Melendez JH, Frankel YM, Engelthaler D, Aziz M, et al. Community analysis ofchronic wound bacteria using 16S rRNA gene-based pyrosequencing: impact ofdiabetes and antibiotics on chronic wound microbiota. PLoS One 2009;4:e6462.
25. Percival SL, Hill KE, Malic S, Thomas DW, Williams DW. Antimicrobial tolerance and the significance of persister cells in recalcitrant chronic wound biofilms. Wound Repair Regen 2011;19(1):1-9.
26. Bjarnsholt T, Kirkterp-Mller K, Jensen PØ, Madsen KG, Phipps R, Krogfelt K, et al. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. Wound Repair Regen 2008;16(1):2-10.
27. Davis SC, Ricotti C, Cazzaniga A, Welsh E, Eaglstein WH, Mertz PM. Microscopic and physiologic evidence for bio- film-associated wound colonisation in vivo. Wound Repair Regen 2008;16(1):23-9.
28. Wolcott RD, Rhoads DD, Bennett ME, Wolcott BM, Gogokhia L, Costerton JW, et al. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm. J Wound Care 2010;19(2):45-53.
29. Kirker KR, Secor PR, James GA, Fleckman P, Olerud JE, Stewart PS. Loss of viability and induction of apoptosis in human keratinocytes exposed to Staphylococcus aureus biofilms in vitro. Wound Repair Regen 2009;17(5):690-9.
30. Tankersley A, Frank MB, Bebak M, Brennan R. Early effects of Staphylococcus aureus biofilm secreted products on inflammatory responses of human epithelial keratinocytes. J Inflamm 2014;11:17.
31. Jeffery Marano R, Jane Wallace H, Wijeratne D, William Fear M, San Wong H, O'Handley R. Secreted biofilm factors adversely affect cellular wound healing responses in vitro. Sci Rep 2015;5:13296.
32. Lone AG, Atci E, Renslow R, Beyenal H, Noh S, Fransson B, et al. Colonization of epidermal tissue by Staphylococcus aureus produces localize hypoxia and stimulates secretion of antioxidant and caspase-14 proteins. Infect Immun 2015;83(8):3026-34.doi:10.1038/ srep 13296.
33. Kirker KR, James GA, Fleckman P, Olerud JE, Steward PS. Differential effects of planktonic and biofilm MRSA on human fibroblast. Wound Repair Regen 2102;20(2):253-61.
34. Lone AG, Atci E, Renslow R, Beyenal H, Noh S, Fransson B, et al. Staphylococcus aureus induces hypoxia and cellular damage in porcine dermal explants. Infect Immun 2015; 83(6):2531-41.
35. Secor PR, James GA, Fleckman P, Olerud JE, McInnerey K, Stewart PS. Staphylococcus aureus biofilm and planktonic cultures differantially impact gece expression, mapk phos- phorylation, and cytokine production in human keratinocytes. BMC Microbiol 2011;11:143.
36. James GA, Ge Zhao A, Usui M, Underwood RA, Nguyen H, Beyenal H, et al. Microsensor and transcriptomic signatures of oxygen depletion in biofilms associated with chronic wounds. Wound Repair Regen2016;24(2): 373-83.
37. Gardner SE, Frantz RA, Doebbeling BN. The validity of the clinical signs and symptoms used to identify localized chronic wound infection. Wound Repair Regen.2001;9(3):178-86.
38. Davis SC, Ricotti C, Cazzaniga A, Welsh E, Eaglstein WH, Mertz PM. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo. Wound Repair Regen 2008;16(1):23-9.
39. Schultz G, Bjarnsholt T, James GA, Leaper DJ, McBain AJ, Global Wound Biofilm Expert Panel. Consensus guidelines forthe identification and treatment of biofilms in chronic non-healing wounds. Wound Repair Regen. 2017; Sep 29. Doi: 10.1111/wrr.12590. [Epub ahead of print]
40. Bjarnsholt T, Alhede M, Alhede M, Eickhardt-Sørensen SR, Moser C, Kühl M, et al. Thein vivo biofilm. Trends Microbiol 2013;21(9):466-74.
41. Johani K, Malone M, Jensen S, Gosbell I, Dickson H, Hu H, et al. Microscopyvisualisation confirms multi-species biofilms are ubiquitous in diabetic foot ulcers.Int Wound J 2017;doi:10.1111/iwj.12777.
42. Lipsky BA, Berendt AR, Embil J, De Lalla F: Diagnosing and treating diabetic foot infections. Diabetes Metab Res Rev 2004;2(1):56-64.
43. Ertuğrul MB, Baktıroğlu S: Diyabetik Ayak ve Osteomiyeliti. Klimik Derg 2005;18(1):8-13.
44. Peters EJ, Armstrong DG, Wunderlich RP, Bosma J, Stacpoole-Shea S, Lavery LA: The benefit of electrical stimulation to enhance perfusion in persons with diabetes mellitus. J Foot Ankle Surg 1998;37(5):396-400; discussion 447-398.
45. Forst T, Pfutzner A, Bauersachs R, Arin M, Bach B, Biehlmaier H, et al. Comparison of the microvascular response to transcutaneous electrical nerve stimulation and postocclusive ischemia in the diabetic foot. J Diabetes Complications 1997;11(5): 291-7.
46. Jefferson KK. What drives bacteria to produce a biofilm? FEMS microbiology letters 2004; 236(2):163-73.
47. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R: Biofilm formation as microbial development. Annual review of microbiology 2000;54:49-79.
48. Ertuğrul MB, Uyar-Güleç G, Baktıroğlu S, Çörekli E, Türe M: Diyabetik ayak infeksiyonu etkenlerinin yıllara göre dağılımı: Değişim var mı? Klimik Derg 2017;30(1):27-31.
49. Öztürk ŞB, Ertuğrul MB, Çörekli E: Diyabetik ayak enfeksiyonlrında etken bakteriler ve biyofilm oluşturma oranları. Türk Mikrobiol Cem Derg 2017;47(1):33-38.
50. Banu A, Noorul Hassan MM, Rajkumar J, Srinivasa S: Spectrum of bacteria associated with diabetic foot ulcer and biofilm formation: A prospective study. The Australasian medical journal 2015, 8(9):280-285.
51. Malik A, Mohammad Z, Ahmad J: The diabetic foot infections: biofilms and antimicrobial resistance. Diabetes & metabolic syndrome 2013;7(2):101-7.
52. James GA, Swogger E, Wolcott R, Pulcini E, Secor P, Sestrich J, et al. Biofilms in chronic wounds. Wound Repair Regen 2008;16(1): 37-44.
53. Özturk B, Gunay N, Ertugrul BM, Sakarya S. Effects of vancomycin, daptomycin, and tigecycline on coagulase-negative staphylococcus biofilm and bacterial viability within biofilm: an in vitro biofilm model Can J Microbiol 2016; 62(9):735-43.
54. Gottrup F, Apelqvist J, Bjarnsholt T, Cooper R, Moore Z, Peters EJ, et al. EWMA document: Antimicrobial and non-healing wounds: evidence, controversies and suggestions. J Wound Care 2013;22(5 Suppl):1-89.
55. Percival SL, Bowler P, Woods EJ. Assessing the effect of an antimicrobial wound dressing on biofilms. Wound Repair Regen 2008;16(1): 52-7.
56. Fitzgerald DJ, Renick PJ, Forrest EC, Tetens SP, Earnest DN, McMillan J, et al. Cadexomer iodine provides superior efficacy against bacterial wound biofilms in vitro and in vivo. Wound Repair Regen 2017;25(1):13-24.
57. Hoekstra MJ, Westgate SJ, Mueller S.Povidone-iodine ointment demonstrates in vitro efficacy against biofilm formation. Int Wound J 2017;14(1):172-9.
58. Halstead FD, Webber MA, Rauf M, Burt R, Dryden M, Oppenheim BA. In vitro activity of an engineered honey, medical-grade honeys, and antimicrobial wounddressings against biofilm-producing clinical bacterial isolates.J Wound Care 2016;25(2):93-4,96-102.
59. Davis SC, Harding A, Gil J, Parajon F, Valdes J, Solis M, et al. Effectiveness of a polyhexanide irrigation solution on methicillin-resistant Staphylococcus aureus biofilms in a porcine wound model. Int Wound J. 2017 Mar 7. doi: 10.1111/iwj.12734.
60. Sakarya S, Gunay N, Karakulak M, Ozturk B, Ertugrul B. Hypochlorous Acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency.Wounds 2014;26(12):342-50.
61. Ammons MC, Ward LS, James GA.Anti-biofilm efficacy of a lactoferrin/xylitol wound hydrogel used in combination with silver wound dressings.Int Wound J 2011;8(3):268-73.
62. Finnegan S, Percival SL.EDTA: An Antimicrobial and Antibiofilm Agent for Use in Wound Care.Adv Wound Care (New Rochelle) 2015; 4(7):415-421.
63. Gawande PV, Leung KP, Madhyastha S. Antibiofilm and antimicrobial efficacy of DispersinB®-KSL-W peptide-based wound gel against chronic wound infection associated bacteria.Curr Microbiol 2014;68(5):635-41.
64. Seth AK, Geringer MR, Nguyen KT, Agnew SP, Dumanian Z, Galiano RD, Leung KP, et al. Bacteriophage therapy for Staphylococcus aureus biofilm-infected wounds: A new approach to chronic wound care.Plast Reconstr Surg 2013;131(2):225-34.
65. Cooper RA.Inhibition of biofilms by glucose oxidase, lactoperoxidase and guaiacol: the active antibacterial component in an enzyme alginogel.Int Wound J 2013;10(6):630-7.