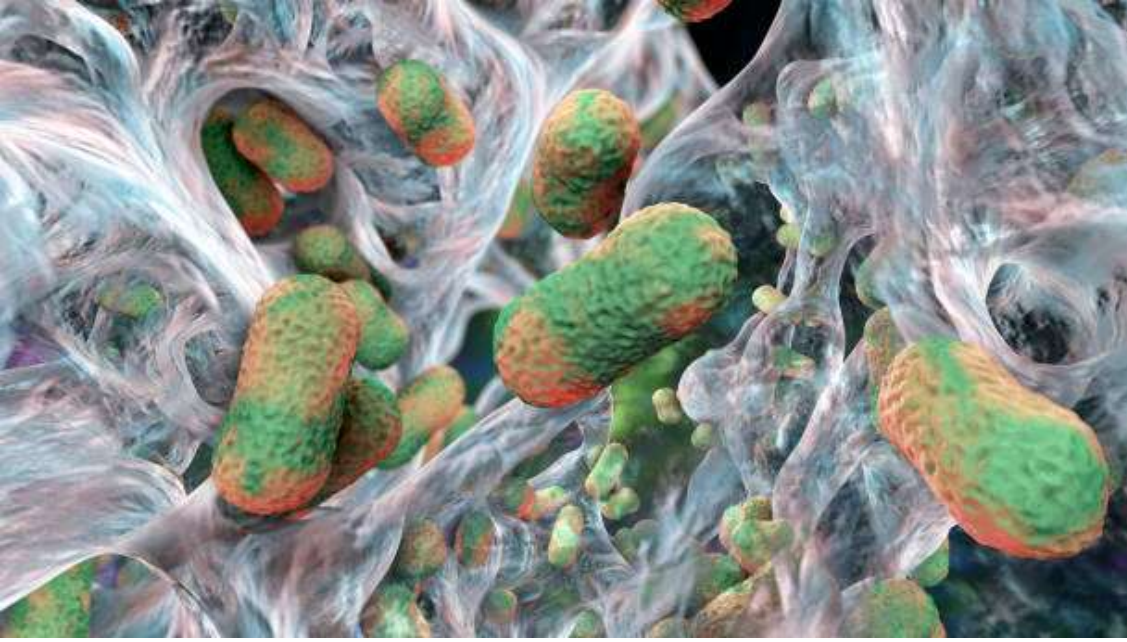




BİYOFİLMİN ÖNEMİ VE YÖNETİMİ

Dr. Tuğba ARSLAN GÜLEN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Adana Şehir EAH
Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji AD

**UYGULAMALI
YARA BAKIM
KURSLARI**
/ 2025-2026

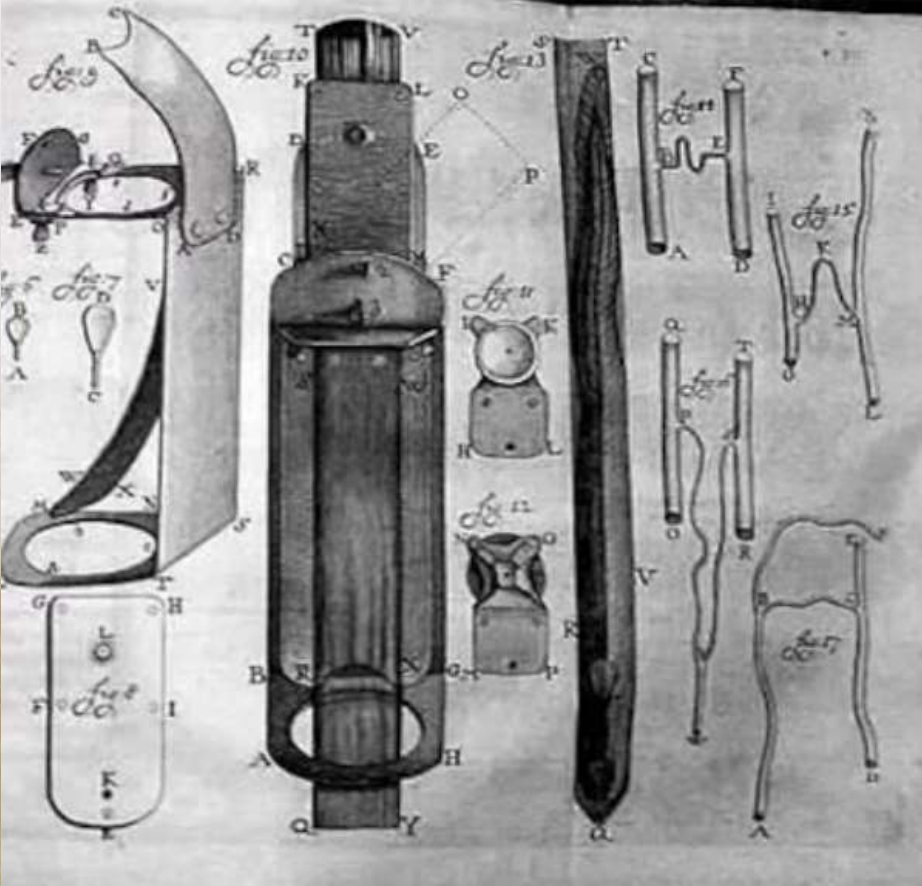
12-13 ARALIK 2025 / ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ



IX. UYGULAMALI YARA BAKIM KURSU / ADANA



Antony van Leeuwenhoek
1632-1723



MİKROSKOBİNİN BABASI

MİKROBİYAL BİYOFİLMİ İLK GÖZLEMLEYEN KİŞİ

ANNUAL REVIEW OF MICROBIOLOGY Volume 35, 1981

Review Article

The Bacterial Glycocalyx in Nature and Disease

J W Costerton, R T Irvin and K J Cheng

Vol. 35:299-324 (Volume publication date October 1981) | <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.35.100181.001503>

ANNUAL REVIEW OF MICROBIOLOGY Volume 41, 1987

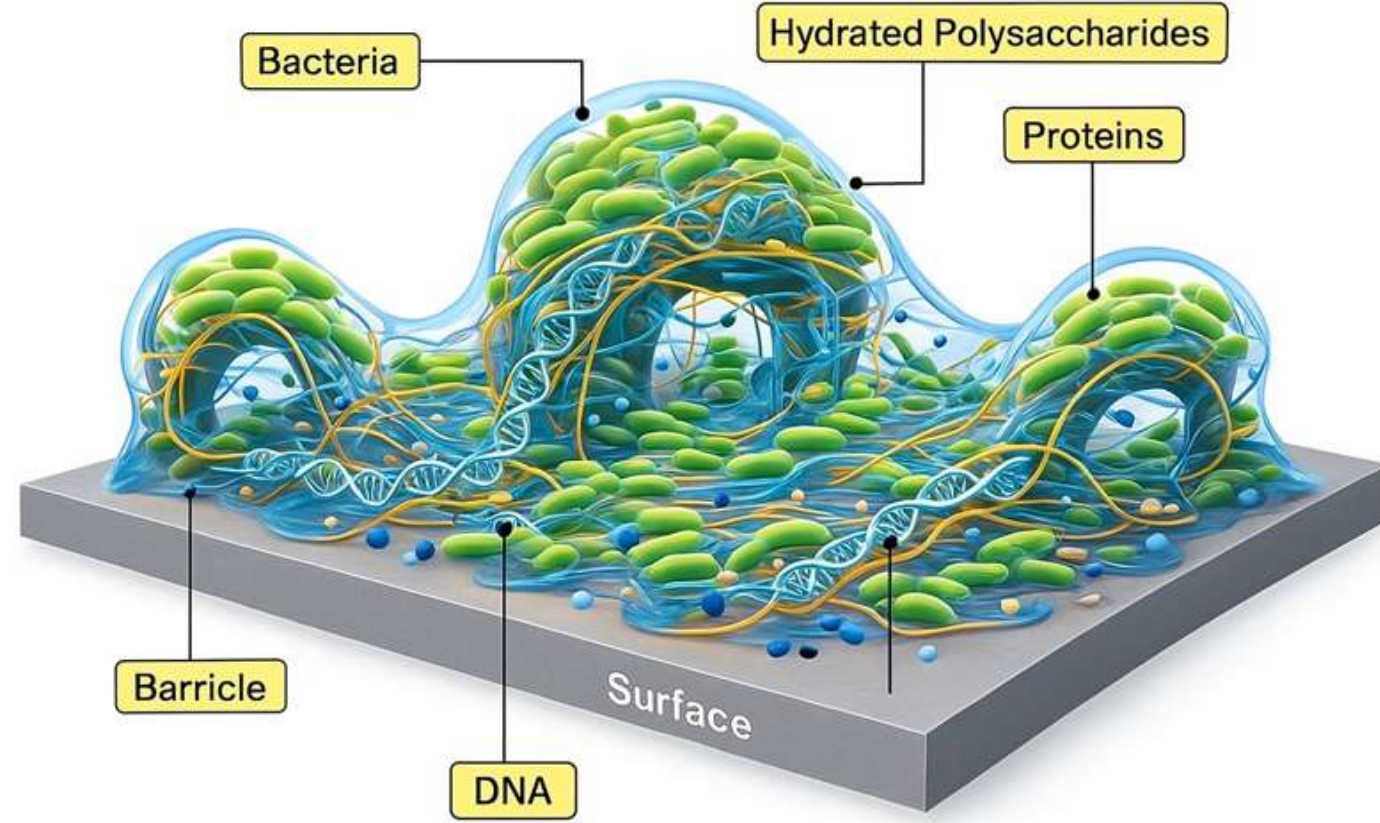
Review Article

Bacterial Biofilms in Nature and Disease

J W Costerton, K J Cheng, G G Geesey, T I Ladd, J C Nickel, M Dasgupta and T J Marrie

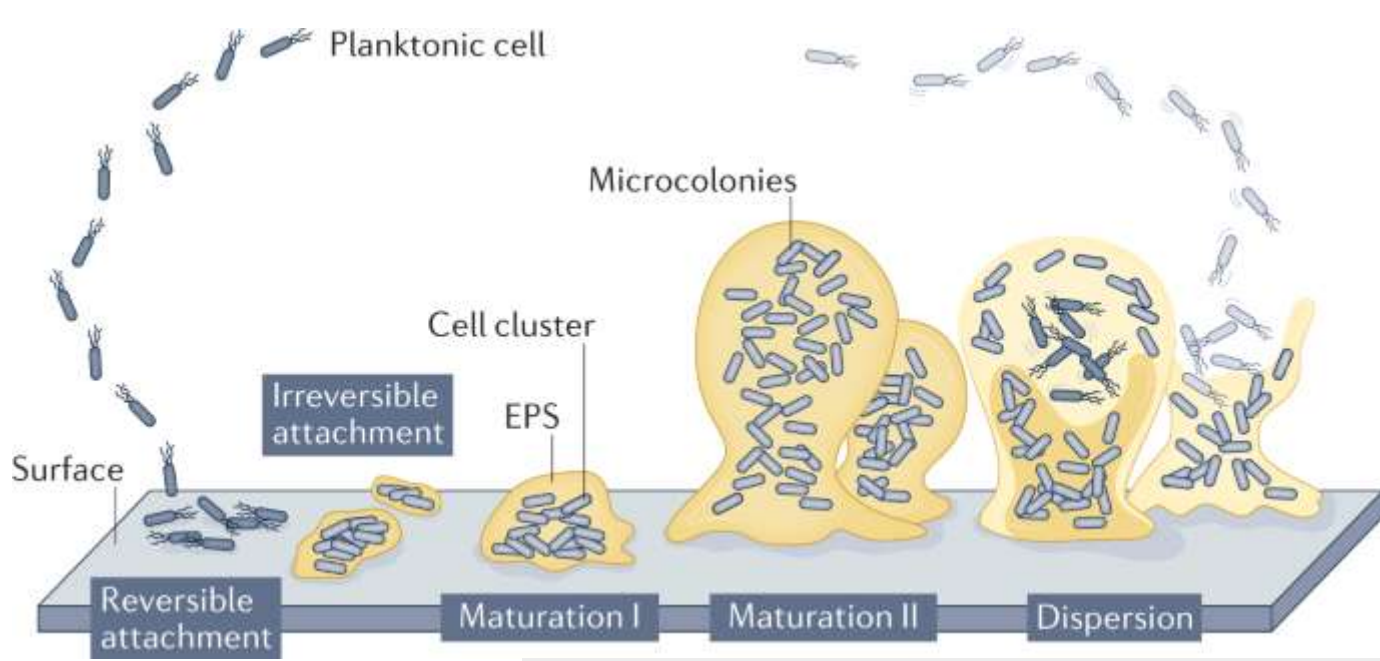
Vol. 41:435-464 (Volume publication date October 1987) | <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002251>

BİYOFLİM NEDİR?



Hidrate polisakkaritler, proteinler ve DNA'dan (Egzopolisakkarit – EPS) oluşan bir ağ içerisinde kapsüllenmiş bakteri topluluğu

Mikroorganizmalar **antibiyotiklerden, immün sistem ve fiziksel klerden** korunur.



Yüzeye tutunma

Bakteriler, yara yatağındaki yüzeylere (nekrotik doku, suture materyali vb.) geçici olarak tutunur.

Kalıcı tutunma

Adhezinler ve pili gibi yüzey yapıları aracılığıyla bakteri yüzeye sıkıca bağlanır.

Mikrokoloni oluşumu

Bakteriler çoğalmaya başlar ve mikrokoloniler oluşturur.

Matriks sentezi

Bakteriler egzopolisakkarit matriks (EPS) üretir (DNA, protein, polisakkarit). Bu matriks bakterileri dış etkilere izole eder.

Yayılma

Matür biyofilmden bazı planktonik bakteriler ayrılır, yeni yüzeylere tutunarak yeni biyofilmler oluşturur.

Biyofilmde Bakteriyel Dirençle İlişkili Faktörler

Biyokimyasal Faktörler

Ekzopolisakkaritler
Antibiyotik parçalayıcı
enzimler
Ekstrasellüler DNA
Efluks pompaları
Quorum sensing

Moleküler mekanizmalar

Lateral – Horizontal gen
transferleri
Mutasyonlar

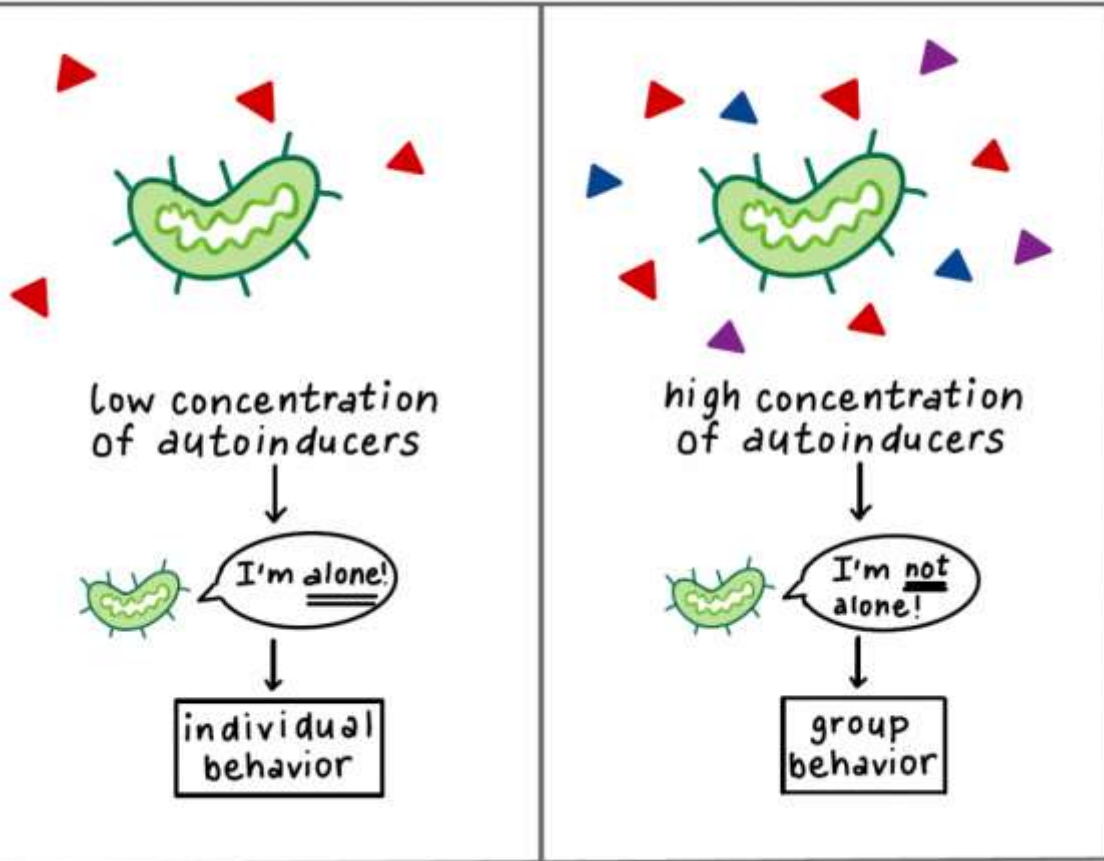
Konak ilişkili değişiklikler

Sub-MIC Antibiyotikler
Oksidatif Stres
SOS Yanıtı
Kimyasal Sinyaller
Toksin–Antitoksin
Modülleri
Besinler
Sıcaklık
pH
Hücre Yoėunluėu
Osmolarite

Biyofilmin Mikrobiyal Özellikleri

- Polimikrobiyal yapı
- EPS matriksi (mikroorganizmaları koruyan bariyer)
- Quorum sensing ile gen ekspresyonu
- Metabolik inaktivite ile antibiyotik etkinliğinde azalma
- Antimikrobiyallerin biyofilm içine düşük penetrasyonu

QUORUM SENSING



Bakterilerin popölasyon yoğunluğunu algılayarak birbirleriyle kimyasal sinyaller ile iletişim kurduğu hücre-hücre iletişim mekanizması

EPS üretimi
Matris stabilizasyonu
Biyofilmin olgunlaşması

Biyofilm içine antibiyotiklerin düşük penetrasyonu

- Bazı antibiyotikler için gerçek bir penetrasyon bariyeri
- *P. aeruginosa*'nın serbest formuna siprofloksasinin penetrasyonu **normalde 40 saniye**
- Biyofilm oluşturmuş formunda **21 dakika**



Bakterilerin çoğalma oranlarında değişiklikler

- Biyofilm üreten bakterilerin çoğalma hızı serbest yaşayan formlara göre **çok daha yavaş**
(Antimikrobiyaller hızlı üreyen bakterilere **daha etkili**)
- Biyofilm içindeki osmotik çevre değişiklikleri **osmotik strese** yol açar.
- Bakterideki porin yapısında veya miktarında değişiklikler özellikle beta-laktam antibiyotiklerin **hücre içine girişini kısıtlayabilir**
- Antibiyotiğin **enzimatik inaktivasyonu** ile birlikte olduğunda direnç daha da belirginleşmekte

Mikroçevre değişiklikleri

- Antimikrobiyal ajanların öncelikli olarak metabolik olarak aktif hücreleri hedef almaları nedeniyle biyofilm içerisindeki heterojen yapı **antibiyotik direncinde artışa** yol açmakta (aminoglikozid, tetrasiklin ve makrolidler)
- Biyofilm mikroçevresinde oluşan **pH ve osmotik değişiklikler** antimikrobiyal ilaç etkinliğini değiştirmekte
- Oksijenin** biyofilmin yüzey katmanlarında **tüketilmesi** ve dip kısımlarda **anaerob ortamın** oluşması özellikle aminoglikozidlerin etkinliğini azaltmakta

BİYOFİLMİN KLİNİK ETKİLERİ

1.Antibiyotik Direnci

Bakteriler **10-1000** kat daha dirençlidir.

2.Yara İyileşmesinin Gecikmesi

Kronik inflamasyon → Fibroblast ve keratinosit aktivitesinde azalma → **Re-epitelizasyon** bozulur.

Persistan enfeksiyon → Granülasyon dokusu oluşumu **engellenir**.

3.Sık Enfeksiyon Nüksleri

Biyofilm içinde dormant bakteriler uygun ortam oluştuğunda reaktif olur → **Nüks**

4.Cerrahi Müdahalelerin Artışı

Özellikle derin dokuya ilerlemiş enfeksiyonlarda **debridman veya amputasyon gerekebilir**.

Lipsky BA, et al. Clin Infect Dis. 2010; 54:e132-73.

Peters BM, et al. FEMS Immunol Med Microbiol. 2010;59:493-503.

Bianchi T, et al. J Wound Care. 2016;25:305-17.

Diyabetik Ayakta Biyofilm Gelişimini Kolaylaştıran Faktörler

Hiperglisemi	Nötrofil fonksiyon bozukluğu
Periferik nöropati	Travmaya karşı hissizlik → minör travmalar → giriş kapısı
Periferik arter hastalığı	Doku perfüzyonu ve oksijenasyonu azalır → İmmün hücrelerin bölgeye ulaşması zorlaşır
Uzamış yara iyileşmesi ≥ 4 hafta	Açık yara ortamı kronikleşir → Bakterilerin tutunması ve biyofilm oluşturmaya kolaylaşır
Sık antibiyotik kullanımı	Direnç gelişimi + Sub-inhibitör antibiyotik düzeyleri, biyofilm oluşumu
Polimikrobiyal enfeksiyon	Bakteriler arasında sinerji → daha kalın ve dirençli biyofilm matriksi

Diyabetik Ayakta Biyofilm Gelişimini Kolaylaştıran Faktörler

Nekrotik doku/yabancı cisim varlığı	Bakterilerin yüzeylere kolayca tutunması ve EPS üretmesi
Ağır eksüda/nemli yara yatağı	Bakteriyel çoğalma için uygun ortam
Topikal ajanların yanlış kullanımı	Doku toksisitesi
Obezite	Dolaşım bozukluğu, inflamasyon
Etken mikroorganizma	Biyofilm oluşturma potansiyeline sahip bakteriler

BİYOFİLM OLUŞTURAN MİKROORGANİZMALAR

Gram – negatifler

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter baumannii

Klebsiella pneumoniae

Escherichia coli

Proteus mirabilis

Burkholderia cepacia complex

Gram – pozitifler

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis

Enterococcus faecalis / *E. faecium*

Streptococcus spp.

Funguslar

Candida spp.

Aspergillus fumigatus

Association between biofilm and multi/extensive drug resistance in diabetic foot infection

Aslı Vatan¹ | Nese Saltoglu¹  | Mucahit Yemisen¹ | Ilker Inanc Balkan¹ | Serkan Surme¹ |
Tayfur Demiray³ | Birgul Mete¹ | Fehmi Tabak¹ | Study Group, Cerrahpasa Diabetic Foot²

339 yara izolatu

Biyofilm üretim oranı %34

Biyofilm oranı Gram-negatiflerde % 39, Gram-pozitiflerde % 21 (p = .01)

En yüksek biyofilm üretim oranına sahip mikroorganizmalar:

Acinetobacter baumannii (%62), *P. aeruginosa* (%52), Koagülaz negatif Stafilokoklar (% 43) ve *Klebsiella* spp. (%40)

Biyofilm oluşumu için bağımsız risk faktörleri: MDR mikroorganizma ve XDR mikroorganizma

BİYO FİLMİN TANISI

KLİNİK ŞÜPHE

Yaranın ≥ 4 hafta boyunca iyileşmemesi

Tekrarlayan enfeksiyonlar

Antibiyotiklere karşı zayıf/hiç yanıt alınmaması

Granülasyon dokusu oluşmaması

Yarada yapışkan sarı-beyaz film tabakası

Mikrobiyolojik kültürlerde MDR/XDR mikroorganizma izolasyonu



Örneğin Hazırlanması



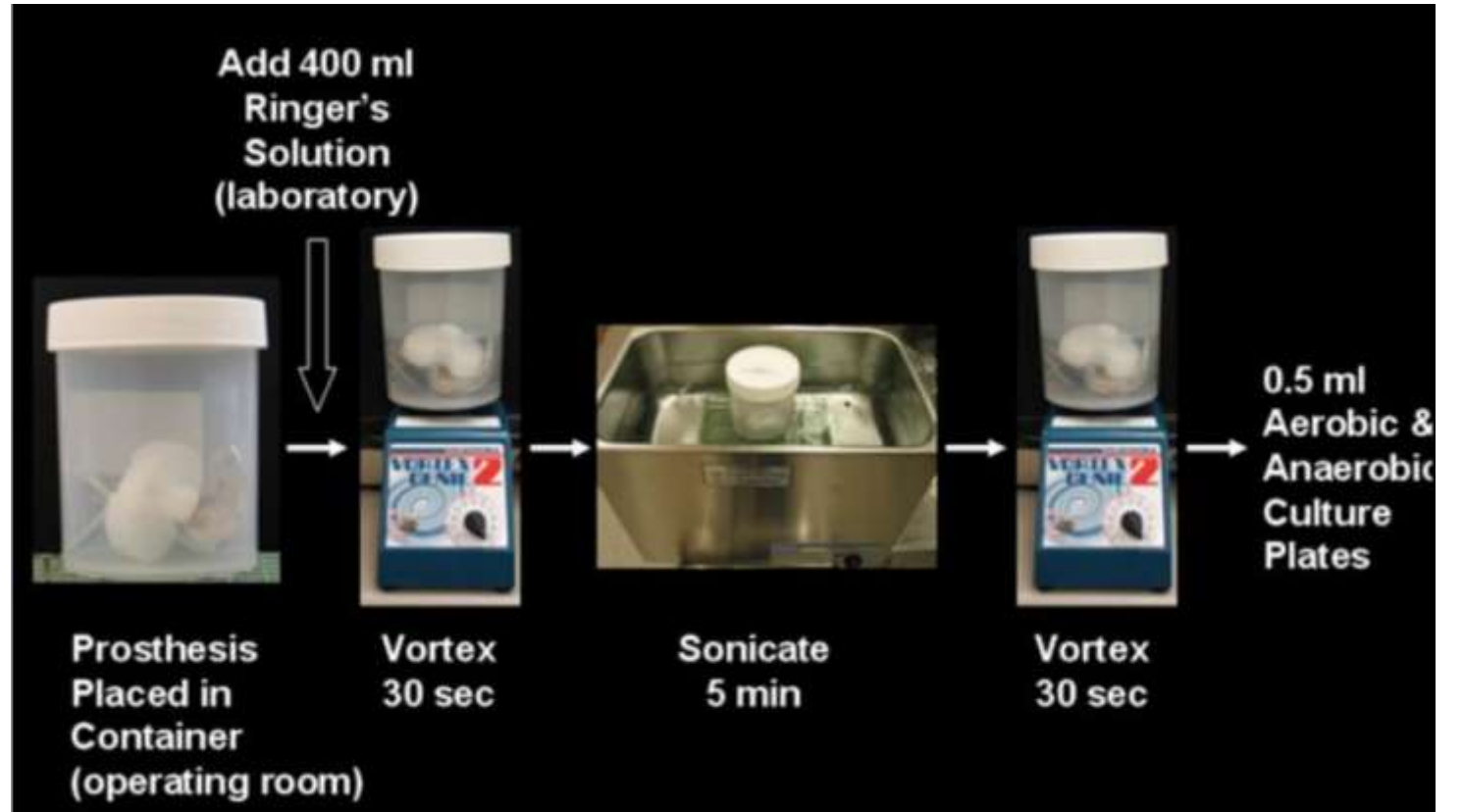
Doku Homojenizasyonu

- Doku içinde saklanan veya biyofilm oluşturarak yüzeye tutunmuş mikroorganizmaların **ortaya çıkarılması ve tanımlanması**
- Özellikle **biofilm içindeki mikroorganizmaların** klasik yüzey swab yöntemleriyle saptanamadığı durumlarda kullanılır

Sonikasyonun Rolü

Numune steril sıvıya konur → **ultrasonik banyoda sonikasyon** → biyofilm çözülür → elde edilen sıvıdan:

- Kültür (aerob/anaerob)
- PCR / qPCR
- Direnç gen analizi



MİKROSKOBİK YÖNTEMLER

- Konfokal Lazer Taramalı Mikroskopi (CLSM):** Canlı biyofilm yapılarının 3 boyutlu görüntülenmesi, floresan boyalarla birlikte kullanılır
- Tarama Elektron Mikroskobu (SEM):** Biyofilm matrisinin yüzey morfolojisini yüksek çözünürlükte gösterir
- Işık mikroskobu:** Basit boyalarla ilk aşamada tarama için kullanılır



KÜLTÜR VE BOYAMA YÖNTEMLERİ

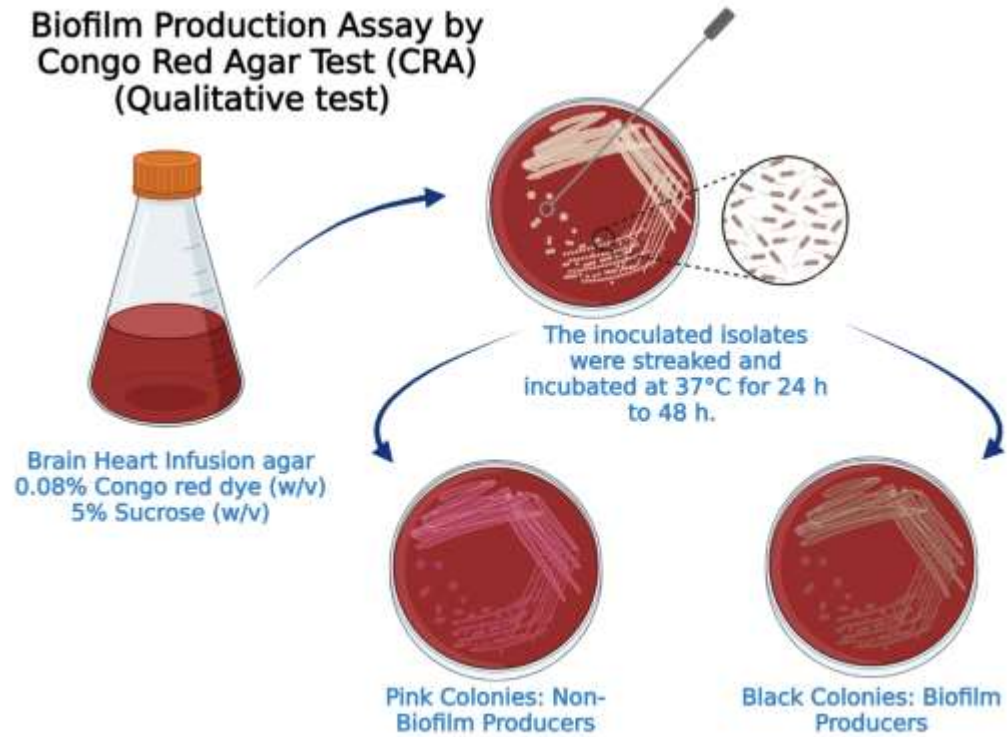


Mikrotitre Plak (Microplate) Yöntemi

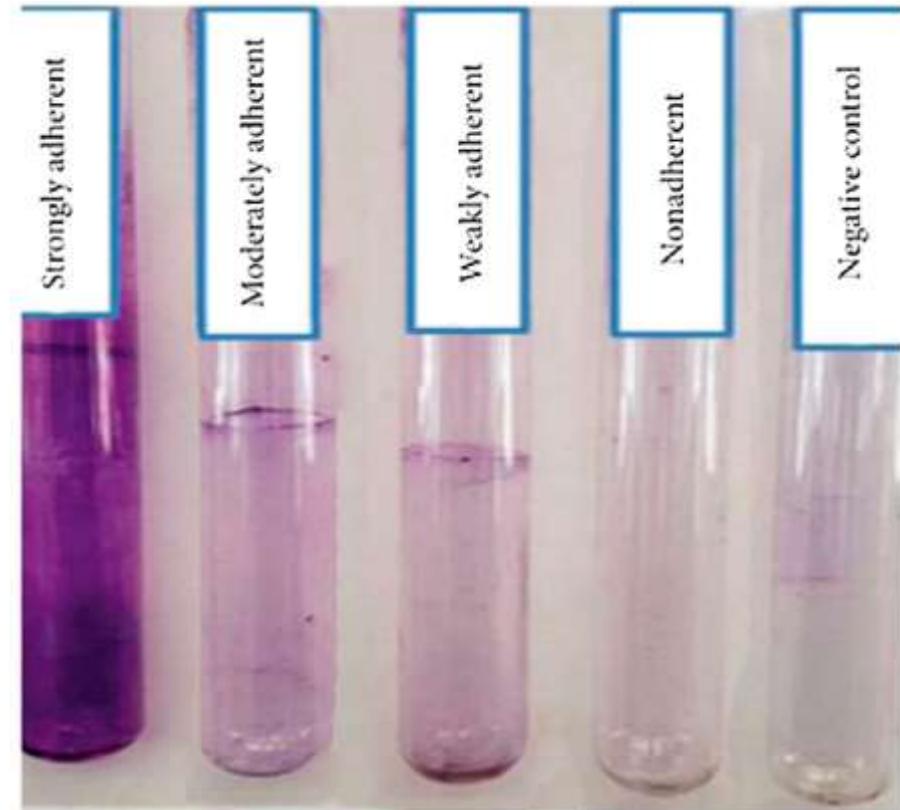
Bakteri kültürleri kuyucuklu plaklara yerleştirilir. Kristal viyole ile boyanır → Optik dansite (OD570) ölçülür.

Ekonomik, ancak klinik örnekten doğrudan çalışmak zordur.

Congo Red Agar (CRA)



Tüp yöntemi



MOLEKÜLER YÖNTEMLER

PCR ve qPCR: Biyofilmle ilişkili genlerin (örneğin *icaA*, *psl*, *pel*) varlığı

16S rRNA Gen Sekanslaması: Kültür-negatif yaralarda mikrobiyal DNA tanımlaması

Metagenomik Analiz: Özellikle karma mikrobiyal topluluklarda detaylı inceleme

PNA-FISH (Peptid Nükleik Asit Fluorescent In Situ Hybridization)



TEDAVİ

DEBRİDMAN

EN TEMEL MÜDAHALE

Amaç: Biyofilmin fiziksel olarak uzaklaştırılması

Erken Müdahale – “Biyofilm oluşmadan yakala!”

İlk 72 saat içinde enfeksiyona müdahale etmek, bakteri kolonizasyonunun biyofilm yapıya dönüşmesini engeller.

Gecikmiş tedavi = biyofilm riski

Debridman Yöntemleri

Cerrahi debridman: En etkili yöntem. Kanama biyofilm tabakasının geçtiğini gösterir.

Enzimatik debridman: Proteaz, kollajenaz içerir. sadece yaranın nekrotik dokusunun debridmanını hedefler.

Otokolitik debridman: Vücut sıvılarıyla biyolojik çözünme sağlanır.

Biyolojik debridman (Larva): Biyofilm ve nekrotik doku üzerinde etkilidir.



Fiziksel Yöntemler

Negatif Basıncı Vakum Tedavisi

Eksüda uzaklaştırma + granülasyon stimülasyonu + bakteriyel yükün azaltılması

- Ultrasonik irrigasyon**

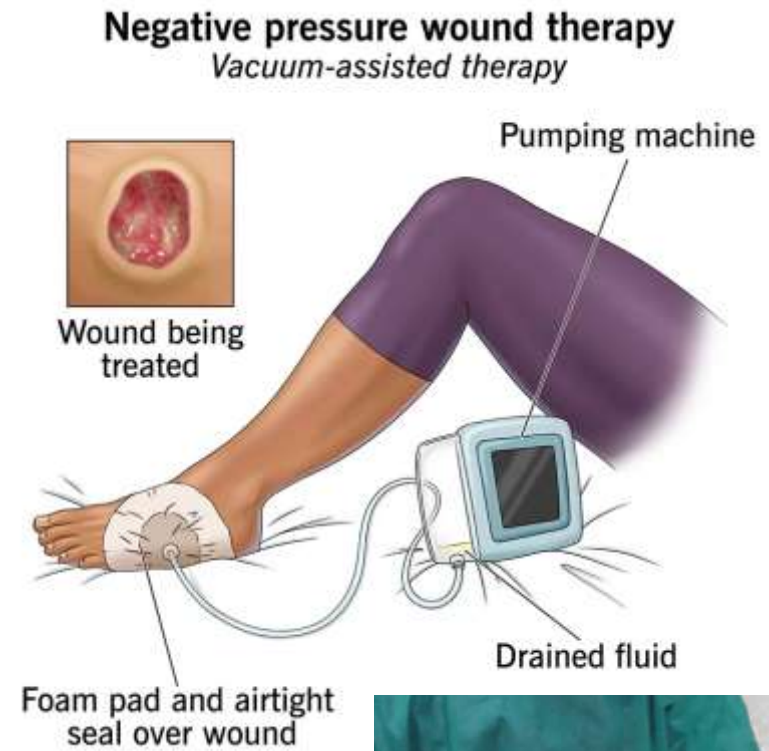
Mikroskobik debridman

- Lazer tedavisi (Low-Level Laser)**

Anti-inflamatuvar ve bakteriyel yükü azaltıcı etki

- Fotodinamik terapi**

- Işık ve fotosensitizan ajanla biofilm yıkımı hedeflenir



Antibiyotik ve Antibiyofilme Ajanlar

Klasik Antibiyotiklerin Zorlukları:

Sub-inhibitör dozlar biyofilme oluşumunu teşvik eder.
Sadece planktonik bakterilere etki eder.

ANTİBİYOTİKLER BİYOFİLME ÖZEL AJANLAR İLE BERABER KULLANILMALI

Biyofilme etkili antibiyotikler kombine kullanılmalı

(Makrolidler, linkozamidler, tetrasiklinler, rifamisinler, kinolonlar, fusidik asit, nitroimidazoller, sülfonamidler ve oksazolidinonlar)

Diğer Tedavi Yöntemleri

Hiperbarik oksijen

Sodyum hipokloröz solüsyonu

Lökosit yamaları

Otolog plateletten zengin fibrinlerin lokal uygulamaları

Bal, dispersin-B, laktoferrin, galyum, bizmut, iyodin

Mezenkimal kök hücre

Yeni Yaklaşımlar

Anti-biyofilm pansumanlar	Gümüş, polihekzanid, oktenidin içeren ürünler
Quorum sensing inhibitörleri	Bakteriler arası iletişimi bozar → biyofilm matriksi oluşmaz
Probiyotik / Prebiyotik ajanlar	Zararlı bakterilerle yarışarak kolonizasyonu azaltır
Nanoparçacıklı ajanlar	Nanopartikül-antibiyotik kompleksleri, pH-duyarlı ilaç salımı, EPS-hedefli nanopartiküller
Aşı çalışmaları	MRSA ve <i>Pseudomonas</i> 'a karşı biyofilm önleyici aşılar geliştirilmeye çalışılıyor
Ultraviyole mavi ışık	<i>Acinetobacter</i> ve <i>Pseudomonas</i> 'a karşı antibiyofilm etki

Bakteriofaj Tedavisi

Bakteriyel hücreleri özgül olarak hedefleyen virüsler

Mikrobiyataya zarar vermeden yüksek özgüllük

Düşük yan etki

Kendi kendine çoğalma yeteneği

Antibiyotiklere belirgin direnç gösteren

biyofilmlerin bozulmasında özellikle etkili

Biyofilmin ekstrasellüler polimerik maddesi (EPS) içine penetrasyon

Biyofilm matriksini parçalayan depolimerazlar gibi faj kökenli enzimler önemli rol oynamakta

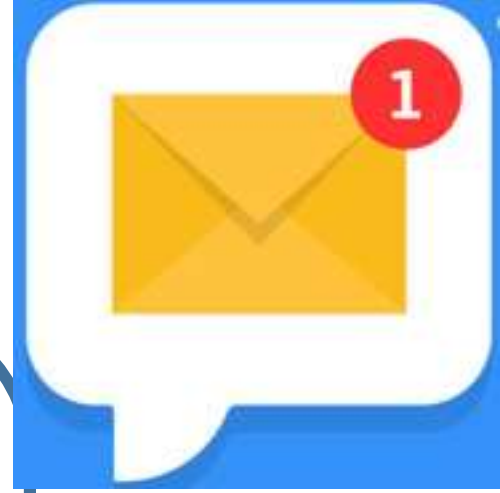


Probiyotik / Prebiyotikler

Lactiplantibacillus (Lactobacillus) plantarum

Lacticaseibacillus rhamnosus

- **Ko-agregasyon ve rekabet** (yapışma bölgelerini kapatma)
- **Asitleştirme (laktik asit), H_2O_2**
- **Bakteriyosinler / küçük antimikrobiyal peptitler**
- **Biosürfaktanlar** (adezyonu azaltma, matriksi zayıflatma)
- **Quorum sensing (QS) inhibisyonu** ve biyofilm genlerinin baskılanması
- **İmmün modülasyon / inflamasyonun dengelenmesi** (özellikle yara iyileşmesi tarafında)



Kronik yarada antibiyotik yanıtı yoksa/nüks varsa biyofilm akla gelmeli

Erken debridman biyofilm oluşumunu önleme ve yönetiminde önemli

Biyofilme etkin antibiyotik kombinasyonları + biyofilm bozucu ajan kombinasyonları tercih edilmeli

Topikal ajanlar + fiziksel yöntemlerle desteklenmeli

Tedavi ekibi multi-interdisipliner olmalı



Teşekkür ederim...