



Olgular Eşliğinde Biyofilm Oluşturan Bakteri Enfeksiyonları

Prof. Dr. İftihar KÖKSAL
Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi
Enfeksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı
Trabzon

1. Olgu; H.E.

- 51 yaşında kadın
- 12 yıldır KBH nedeni ile takipli
- 10 yıldır sol koldaki fistülden diyalize girmekte
- Fistülün çalışmaması nedeni ile hastaya 4 ay önce
 - Sağ jugulerden kalıcı diyaliz kateteri takılıyor

H.E.

- Hemodiyaliz sonrasında ateş, bulantı, halsizlik şikayetleri ile acil servise başvurdu
 - Ateş; 38⁰C
 - Nabız; 120/dk
 - K.B.; 180/100 mm Hg
- Sağ juguler kateter çıkış yerinde pürülan akıntı
- Mitral odakta 3/6 şiddetinde sistolik üfürüm

H.E.

- Labarotuvlar;
 - BK:12.900/mm³
 - PNL:10.900/mm³
 - PLT: 183.000/mm³
 - Hb:11,6 g/dl
 - Eritrosit-Sedimantasyon hızı:115mm/saat
 - C-Reaktif Protein:28,1 mg/dl

H.E.

- Kateter çıkış yerindeki akıntıdan yapılan gram incelemede
 - PNL ve Gram (+) kok kümeleri
- Ampirik olarak vankomisin
- Periferik kan ve eş zamanlı alınan kateter kültürlerinde MRSA
- TTE'de özellik yok
- Batın USG'de; karaciğer parankim doğal
TVU 157 mm
- Ek patoloji yok

H.E.

- Tedavinin 4. gününde ateş kontrolü sağlandı
- Vankomisin 8. gününde alınan kateter kültüründe üremenin devam etmesi nedeni ile
- **Daptomisin**
 - 48 saatte bir 6 mg/kg IV
- Daptomisin 4. gününde
 - kateterin 2 lümeninde MRSA üremesi devam etmekte
- Daptomisin tedavisinin 5. gününde 38,1°C ateş
- AFR değerleri tekrar yükselme
- TTE ve batın görüntüleme tekrarlandı
 - Patoloji saptanmadı

H.E.

- Hastanın septik tabloda olmaması nedeni ile IV tedavinin 5. gününde ek olarak
- **Daptomisin kilit tedavisi**
 - 3,5 mg/ml daptomisin + 0,045 mg/ml kalsiyum; tüm lümeni dolduracak şekilde
- Kilit tedavisinin 4. gününde
 - (IV daptomisin 9. gününde) kan ve kateter kültürlerinde üreme olmadı
- Toplamda tedavi süresi 37 gün
 - Üreme olmayan kültürlerden sonra IV + kilit tedavisi 28 gün

2.Olgu S.Y.

- 64 yaşında kadın
- 3 yıl önce akut lenfoblastik lösemi
 - Pro-B hücreli
- Kalıcı juguler kateter takıldıktan sonra indüksiyon KT'si
- İkinci indüksiyon KT'si başladıktan 3 gün sonra
 - ateş, üşüme, titreme şikayetleri

S.Y.

- Ateş; 38,6 °C
- Nabız; 113/dk
- K.B; 134/69 mmHg
- Solunum sayısı; 23/dk
- Fİ. Normal bulgular

S.Y.

- Beyaz küre; 1100
 - PNL; 750
 - 24 saat içerisinde nötropeni gelişmesi beklenmekte
- Eritrosit sedimentasyon hızı; 98 mm/saat
- C-reaktif protein; 33 mg/dl

S.Y.

- Fizik muayenede kateter çıkış yeri dahil olmak üzere patolojik bulgu yok
- Hastaya febril nütropeni kriterilerini karşılaması nedeni ile ampirik olarak Piperasilin – Tazobaktam başlandı
- Ampirik tedavinin 3.gününde ateş kontrolü sağlandı
- Kùltürlerinde üreme yok

S.Y.

- Nötropenisi devam eden hastanın tedavisinin 10.gününde ateş 38,5⁰C
- Sağ kol ve sırt ağrısı tariflemekte
- Ampirik tedavisi
 - Meropenem – Vankomisin
- Revizyon öncesi alınan kan ve kateter kültürlerinde karbapenamaz + *K.pneumoniae*
 - Meropenem MIC: 2 mg/L
- 14. günde ateş devam etmekte
(meropenem+vankomisin 4. gününde)

S.Y.

- Hastanın tedavisi yeniden revize edildi:
 - Tigesiklin 100 mg IV yükleme; 2X50 mg IV idame+Meropenem 3X2 gr IV
 - Teknik sorunlar nedeni ile kateter revizyonu yapılamadı
 - Tedavinin 3. günü
 - Ateşleri devam etmekte
 - Alınan kontrol periferik kan kültüründe üreme yok
 - Eş zamanlı alınan kateter kültüründe üreme devam etmekte

S.Y.

- Tigesiklin + meropenem tedavisinin 5. gününde
 - Ateş yanıtı olmaması
 - Kateterde üremenin devam etmesi nedeni ile kateter çekildi
 - Kateter çekildikten sonra 36. saatten itibaren ateş yanıtı alındı

BİYOFİLMLER: YÜZEYLERDEKİ MİKROBİYAL YAŞAM

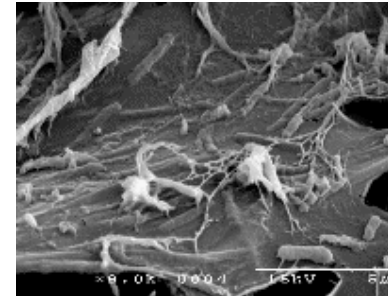
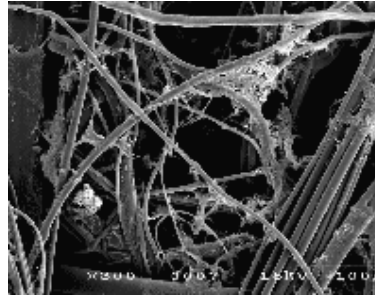
Biyofilm

- Bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk
- Bu jelsi tabaka,
 - bakteri hücreleri tarafından üretilen “hücre dışı polimerik yapı”, “ekzopolisakarit” ya da “ekzopolimer (EPS)” adı verilen polisakkarit bazlı bir ağ yapısıdır
 - Bir başka tanımlamaya göre biyofilm, birbirine ya da bir yüzeye yapışık bakterinin organik bir polimer matriks içine gömülmesidir
- Canlı ve cansız yüzeylerde meydana gelebilir

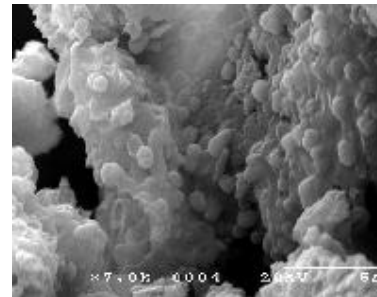
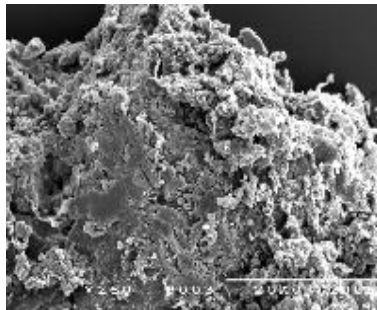
Biyofilmler



Dental plak

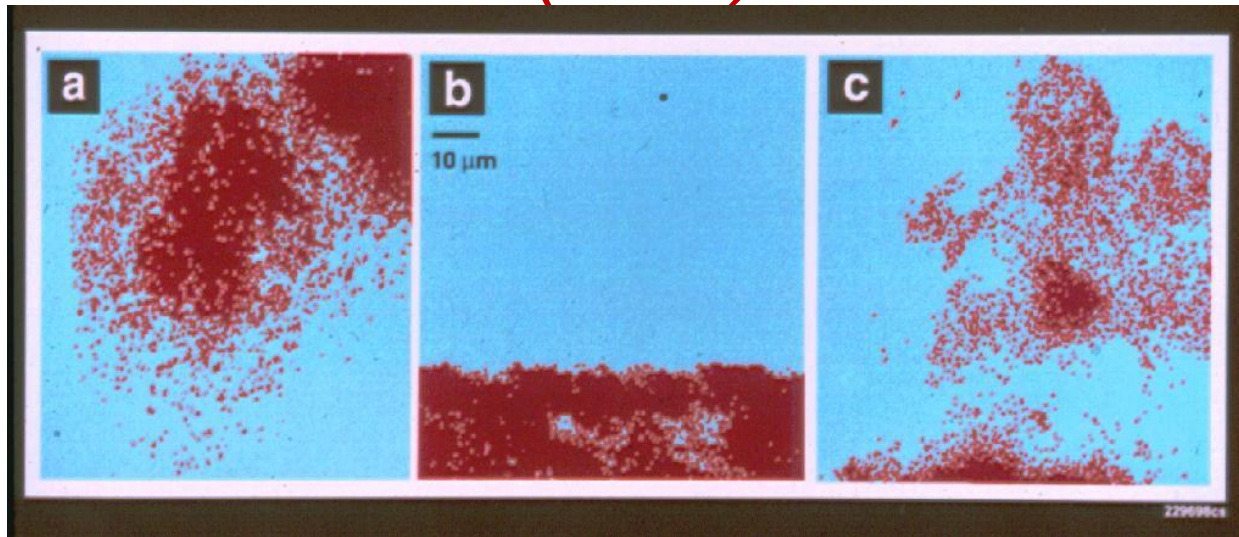


Biofilm fouling of fiber filter



Placque on teeth

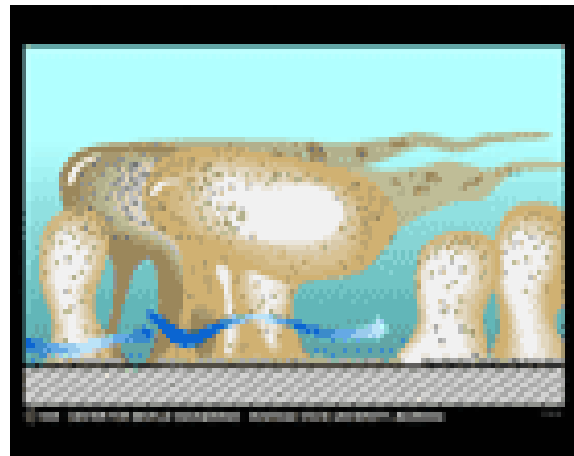
Biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* (slime)



Wild type

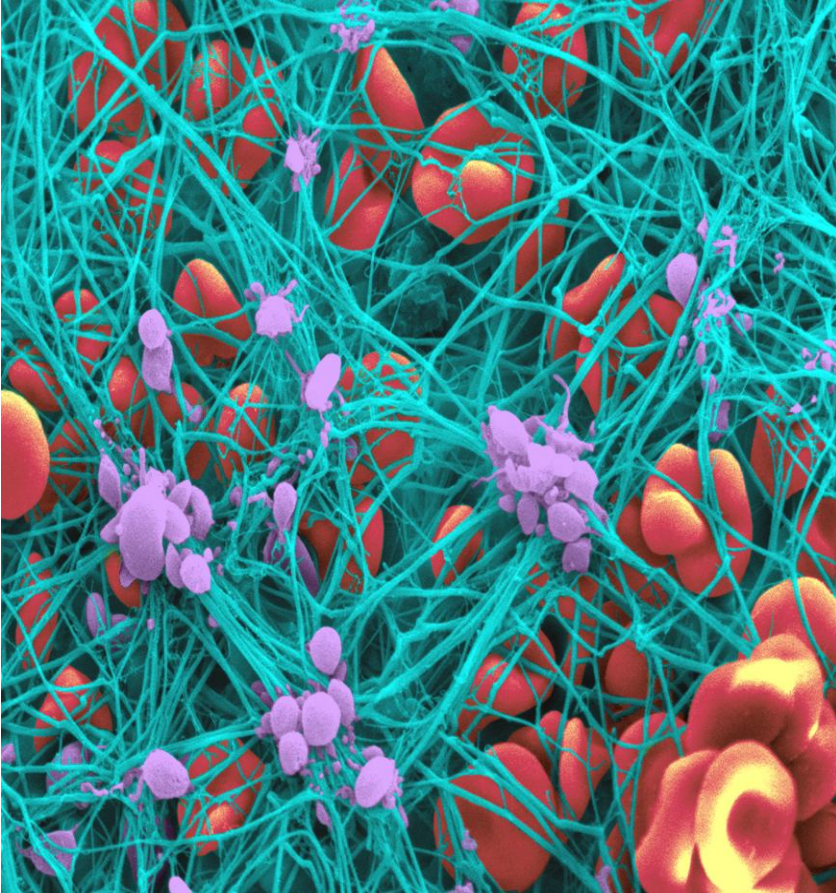
Biofilm mutant

Mutant with autoinducer

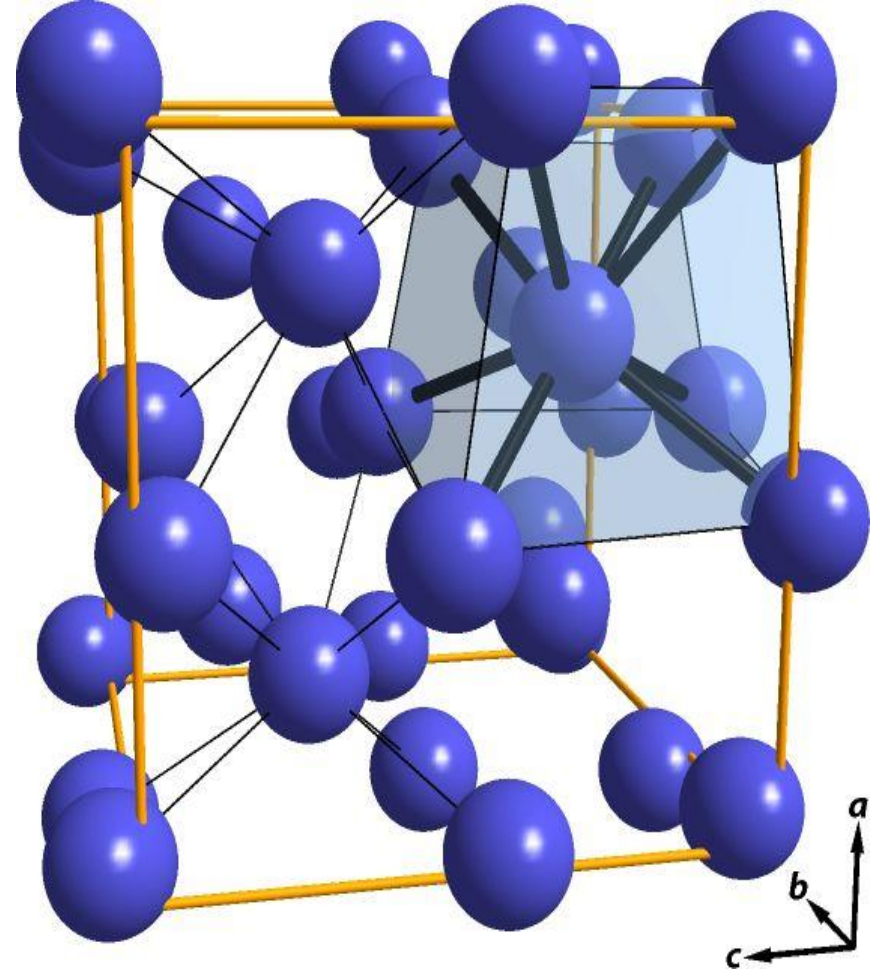


Heterogeneous structures

Fibrin ağı (kan pıhtısı)

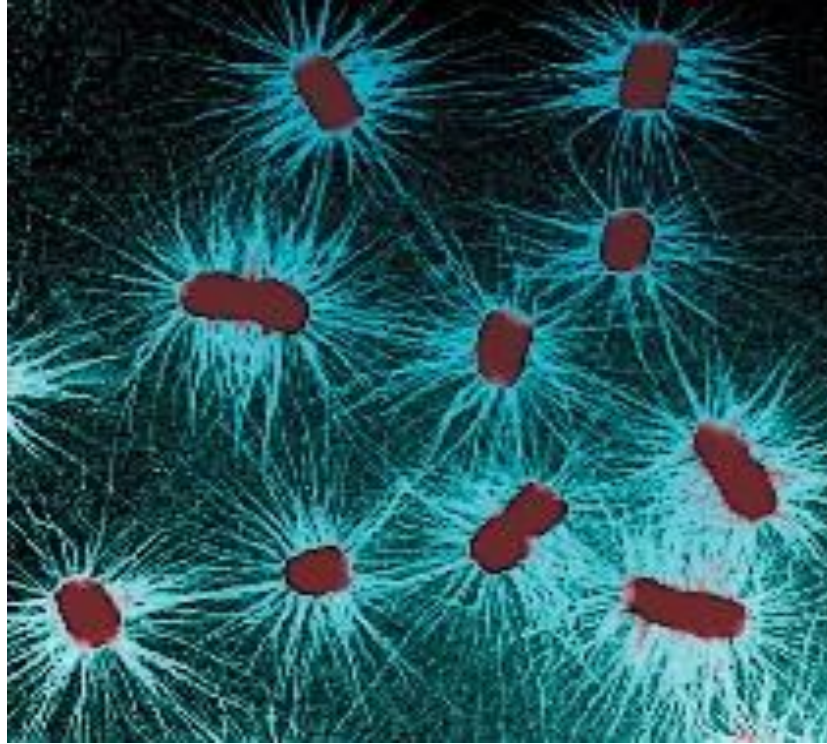


Biyofilm



Hücreden hücreye Sinyal Molekülüyle İletişim (Quorum Sensing)ve Biyofilm

- Biyofilm oluşumu
 - bakterilerin sadece bir araya gelerek belirli bir yüzeye tutunduktan sonra oraya yapışması ve o yüzeydeki diğer türlerle birlikte yaşamaya devam ettikleri şeklinde gerçekleşen rasgele bir olay değil
- Birçok organizma aktivitelerini koordine etmek için birbirlerine sinyal verirken küçük yayılabilir molekülleri kullanırlar



İnsandan izole edilen ETEC'nin
fimbriaları

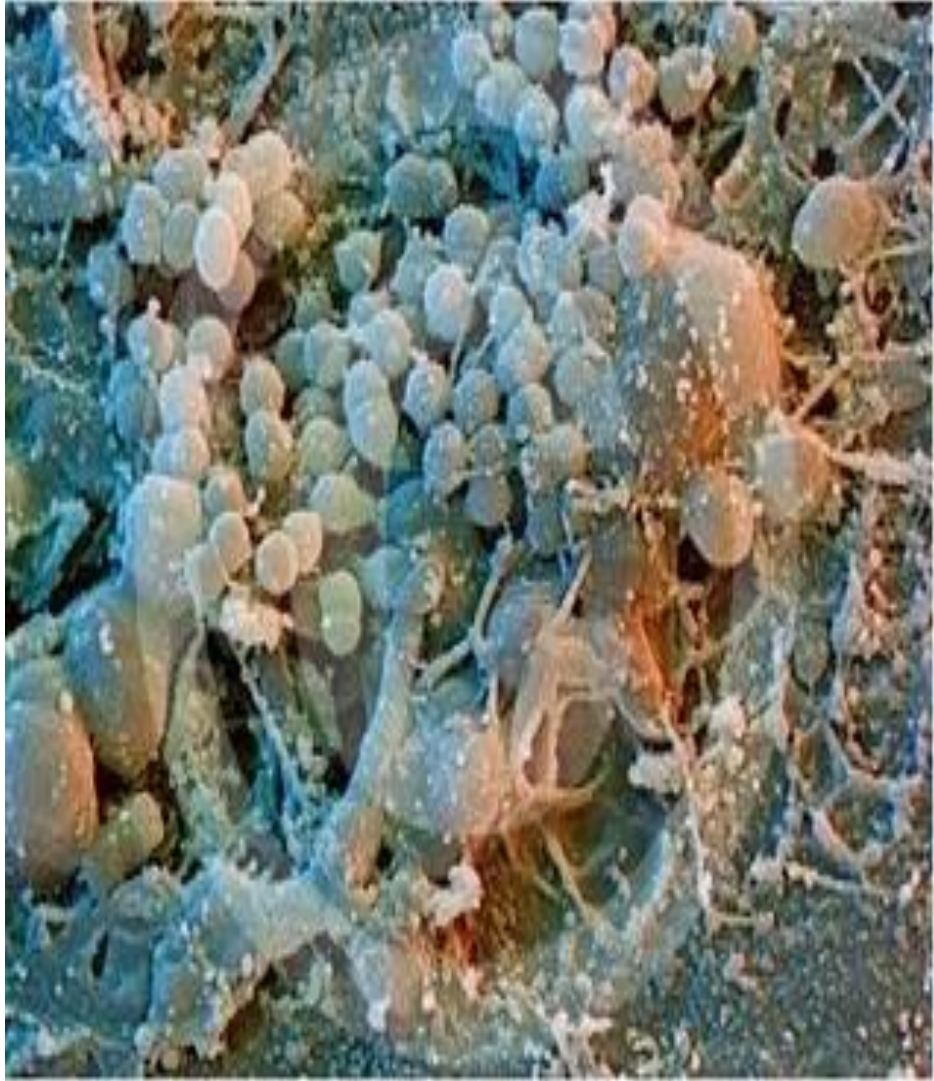
Hücreden hücreye Sinyal Molekülüyle İletişim (Quorum Sensing)

- “Quorum Sensing (QS)”
 - Biyofilm oluşumunda önemli bir mekanizma
 - bakteriler ürettikleri sinyal moleküllerinin yoğunluğunu ölçebilmekte
 - çevrelerindeki diğer mikroorganizmaların miktarını hissedebilmekte
 - bu verileri diğerlerine iletmesine imkân sağlamakta
- QS ile bakteriler çevrelerindeki bakteriyel popülasyonun yoğunluğunu belirler
- Bir yüzeye tutunan her bakteri, ortama ‘Ben buradayım’ mesajı veren bir molekül salgılar

Sinyal Molekülüyle İletişim (Quorum Sensing)

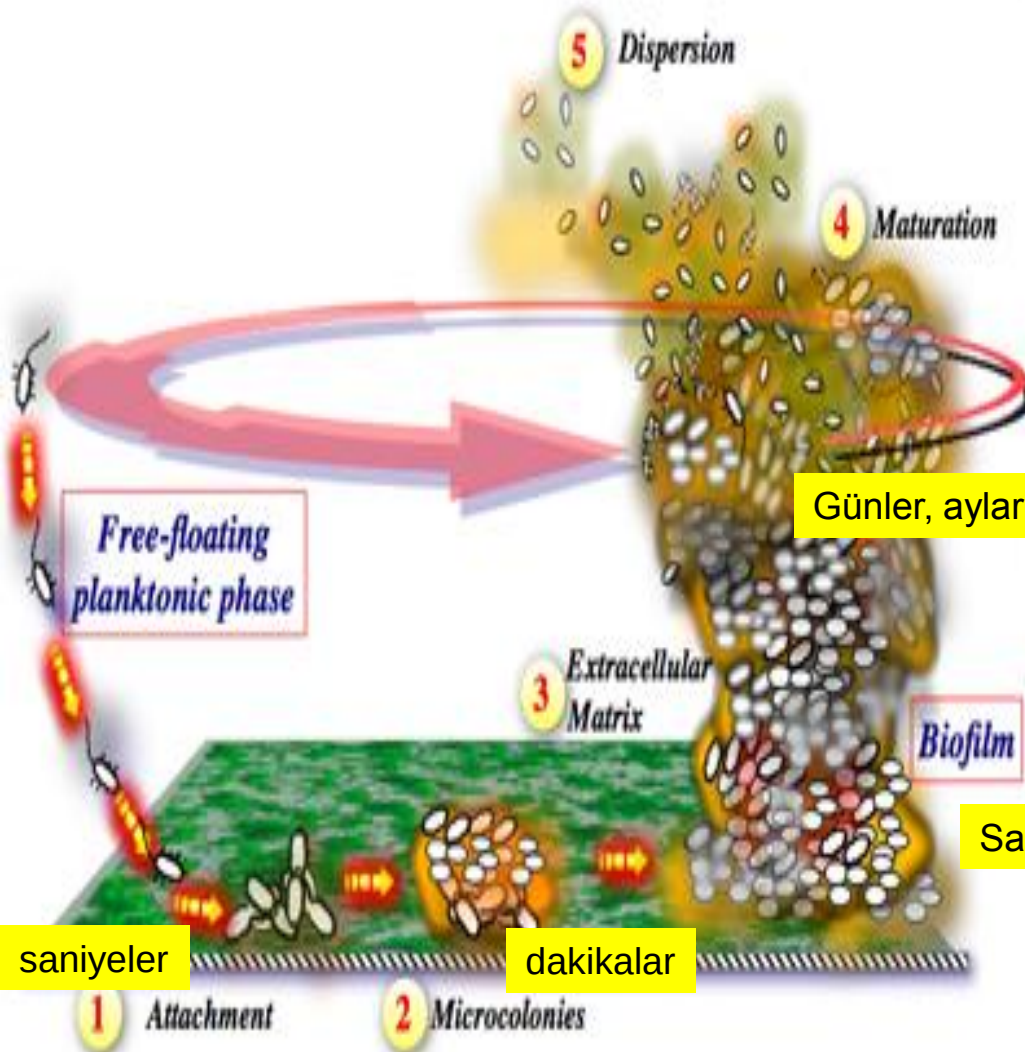
- Yüzeye tutunan bakterilerin sayısı arttıkça bu sinyalin lokal konsantrasyonları artar
 - Biyofilm oluşumuna yönelik bir dizi işlem başlar
 - Biyofilm içerisindeki bakteriler hücre içi düşük molekül ağırlıklarına sahip haberciler aracılığıyla haberleşmektedirler

Biyofilm formasyonunun mekanizması



- Serbest dolaşan mikroorganizmaların yüzeye tutunması ve kolonizasyon
- Başlangıçta zayıf bağlanma
- Kolonistler yüzeyden hemen ayrılmazsa pili gibi tutunma yapılarını kullanarak güçlü bir şekilde tutunur

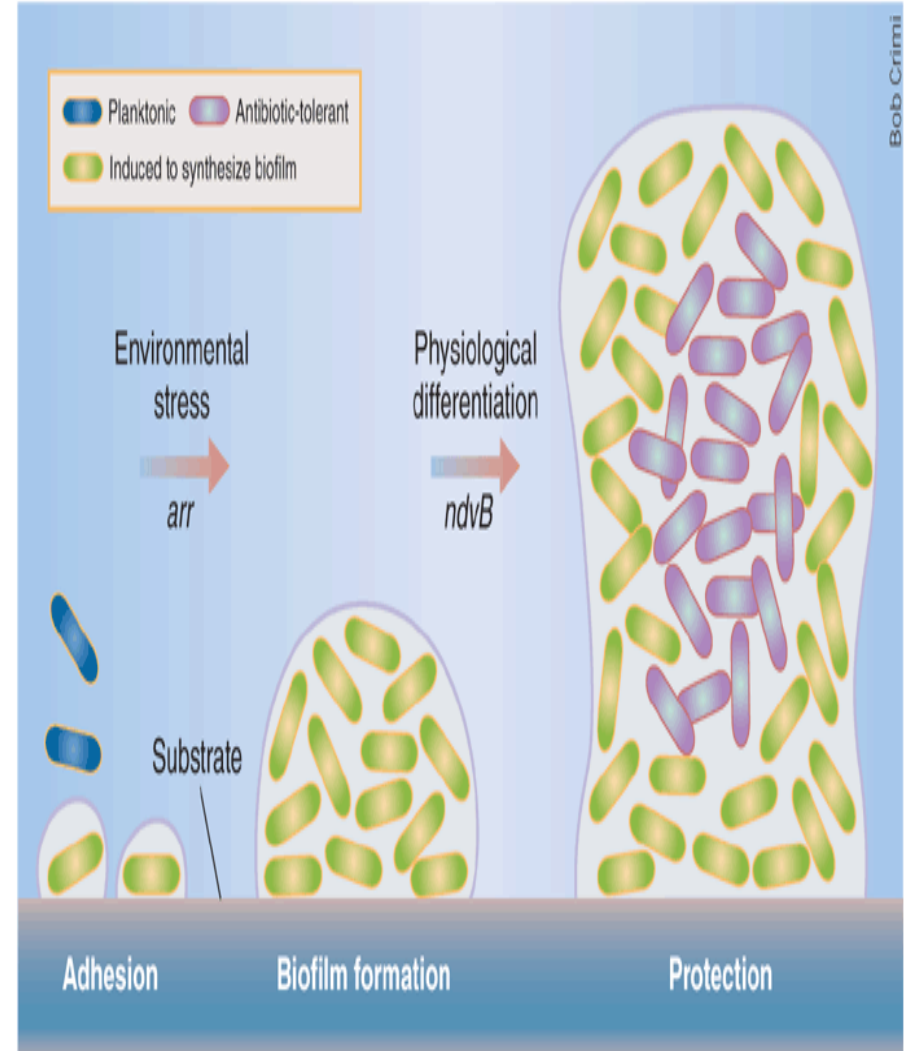
Biyofilm oluřmasındaki basamaklar



- Serbest dolaşan bakteriler
1. Atařman
 2. Mikro-koloni formasyonu
 3. Hücre dışı matriks
 4. Olgunlařma
 5. Tohumlama usulü dağılım

Biyofilmler ve bakteriler

- Bakterileri nem, ısı ve pH değişiklikleri gibi çevresel koşullardaki değişimlerin ve ultraviyole ışığa maruz kalmanın doğuracağı zararlardan korur
- Bakterilerin kümeler halinde ve ekzopolisakkarit matriks içerisinde bulunmaları sonucu fagosite edilmeleri güçleşir
- Bakterilerin metabolizmaları ve üremeleri yavaşlar
 - Antibiyotiklere direnç
- Hümmoral immün sistemden korunma sağlar



Biyofilm

- Tüm mikroorganizmalar biyofilm oluşturulabilir
- Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler
 - bakterilerin yüzeylere bağlanma düzeyi
 - ortamın pH'sı ve sıcaklığı
 - bakteri türü
 - bakteri hücre duvarının yapısı (Gram pozitif ya da Gram negatif oluşu)
 - bakteri sayısı
 - bağlandığı yüzeyin özellikleri
 - hücre hareketliliği
 - ortamdaki besin maddeleri içeriği ve miktarı
 - iyon konsantrasyonu

Biyofilm ve infeksiyonlar

- İnfeksiyon hastalıkları ile biyofilm oluşturan mikroorganizmalar arasında kuvvetli bir ilişki vardır
 - Perikardit
 - Periodontit
 - Kistik fibrozis
 - *P. aeruginosa*
 - Yabancı cisim infeksiyonları
- Endüstriyel/evsel su sistemlerinde
 - Su ileten borularda
 - Su arıtma, depolama, işleme ve dağıtım tesislerinde istenmeyen tortu ve tabakalaşmalar
 - Akışkanlıkta ve ısı naklinde azalma
 - Korozyon

Biyofilm oluşturma eğilimi yüksek olan bakteriler

- Gram pozitif patojenler
 - *S. epidermidis*
 - *S. aureus*
 - *Bacillus*
- *Candida* sp,
 - *C.albicans*
 - *Kateterler*
 - *C. parapsilosis*
 - *Yeni doğanların parenteral beslenme ve santral kateterleri!*
- Gram negatif patojenler
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - *E.coli*
 - *Klebsiella pneumoniae*
 - *Enterobacter*
 - *Flavobacterium*
 - *Alcaligenes*

Bu mikroorganizmalar besin maddelerinin çok olduğu birçok ekosistemde tüm yüzey tipleri üzerinde biyofilm oluşturabilir ve biyofilm içinde yaşayabilir

Candida ve biyofilm

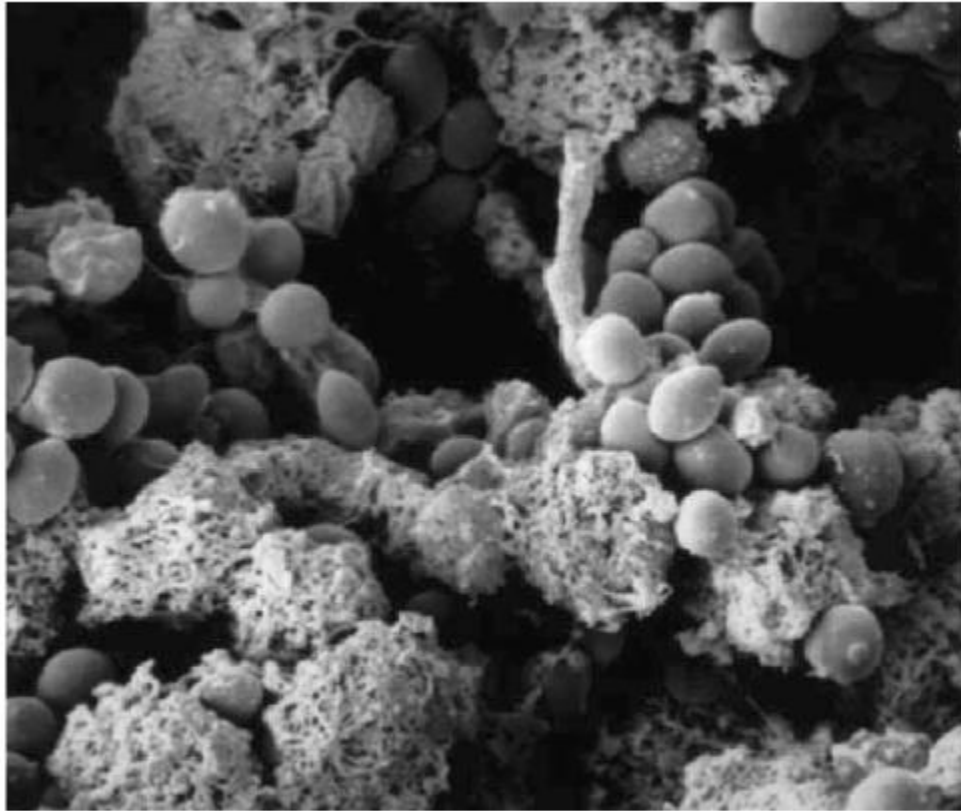
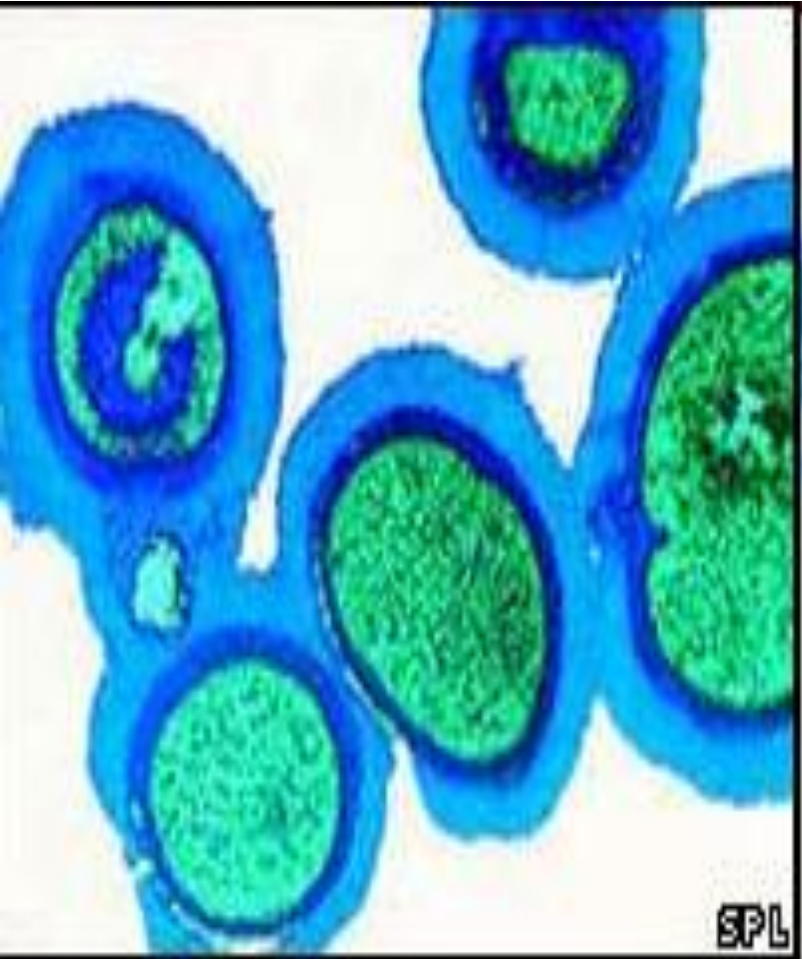


FIGURE 9.2 *C. albicans* biofilm on the surface of a catheter. The biofilm consists of a matrix of yeasts, hyphae and an extensive network of extracellular polymeric material.

Biyofilmler Nosokomiyal infeksiyonların en önemli sebebidir



- Antibiyotik direncinde önemli
- Tekrarlayan infeksiyonlar
- Uzamış kronik infeksiyonlar
- Gelişmiş ülkelerde infeksiyonların %65'inden sorumlu
- Mortalite düşük

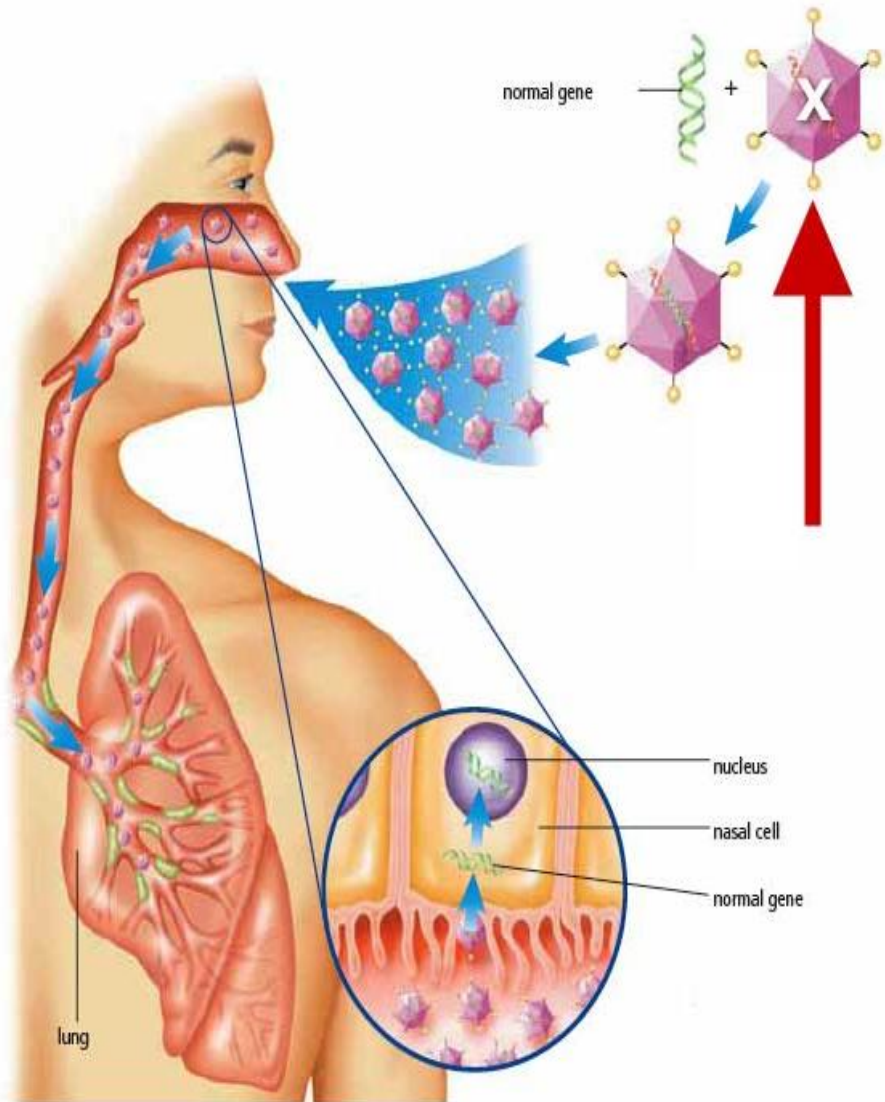
Biyofilm ilişkili infeksiyonlar

1. Konak dokusunda gelişen doğal biyofilm infeksiyonları

- Steril vücut lokasyonlarında gelişen fırsatçı, kronik infeksiyonlar
 - Kistik fibrozis
 - Kr.otitis media, kr. sinüzit, periodondit, dental inf.lar
 - Doğal kapak endokarditi
 - Kr. osteomyelit
 - Kr. prostatit, reküren ÜSİ

2. Medikal cihaz ilişkili infeksiyonlar

Biyofilm ve Kistik fibrosis



- Pseudomonas infeksiyonları
 - Zaman içinde antibiyotik direnci

Biyofilm implantlar için büyük tehdit

TABLE 3.1

Indwelling Medical Devices Associated with Biofilm Related Infection

Intravenous catheters	Contact lenses
Endotracheal tubes	Intrauterine devices
Mechanical heart valves	Pacemakers/automated intracardiac devices
Peritoneal dialysis catheters	Prosthetic joints
Urinary catheters	Tympanostomy tubes
Voice prosthesis	Breast implants
Penile implants	Vascular grafts
Biliary stents	Orthopedic devices (fixators, nails, screws)

Yapay cihazların kullanımı arttıkça biyofilm riski artıyor

Biyofilm implantlar için büyük tehdit

TABLE 3.2

Estimated Number of IMDs Inserted in the U.S. Per Year with Estimated Infection Rates and Attributable Mortality

Device	Estimated No. of Devices Placed/Year	Infection Rate (%)	Attributable Mortality
Urinary catheters	>30,000,000	10–30	Low
Central venous catheters	5,000,000	3–8	Moderate
Fracture fixation devices	2,000,000	5–10	Low
Dental implants	1,000,000	5–10	Low
Joint prostheses	600,000	1–3	Low
Vascular grafts	450,000	1–5	Moderate
Cardiac pacemakers	300,000	1–7	Moderate
Breast implants (pairs)	130,000	1–2	Low
Mechanical heart valves	85,000	1–3	High
Penile implants	15,000	1–3	Low
Heart assist devices	700	25–50	High

Scale for attributable mortality: low, <5%; moderate, 5–25%; high, >25%.

Source: Donlan, R.M., Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin. Infect. Dis.* 33(8), 1837–1892, 2001. With permission.

Kalıcı medikal cihazlar ve biyofilm

- *Enterococcus faecalis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Streptococcus viridians*
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Proteus mirabilis*
- *Pseudomonas aeruginosa*

Biyofilm ve Antibiyotik Direnci

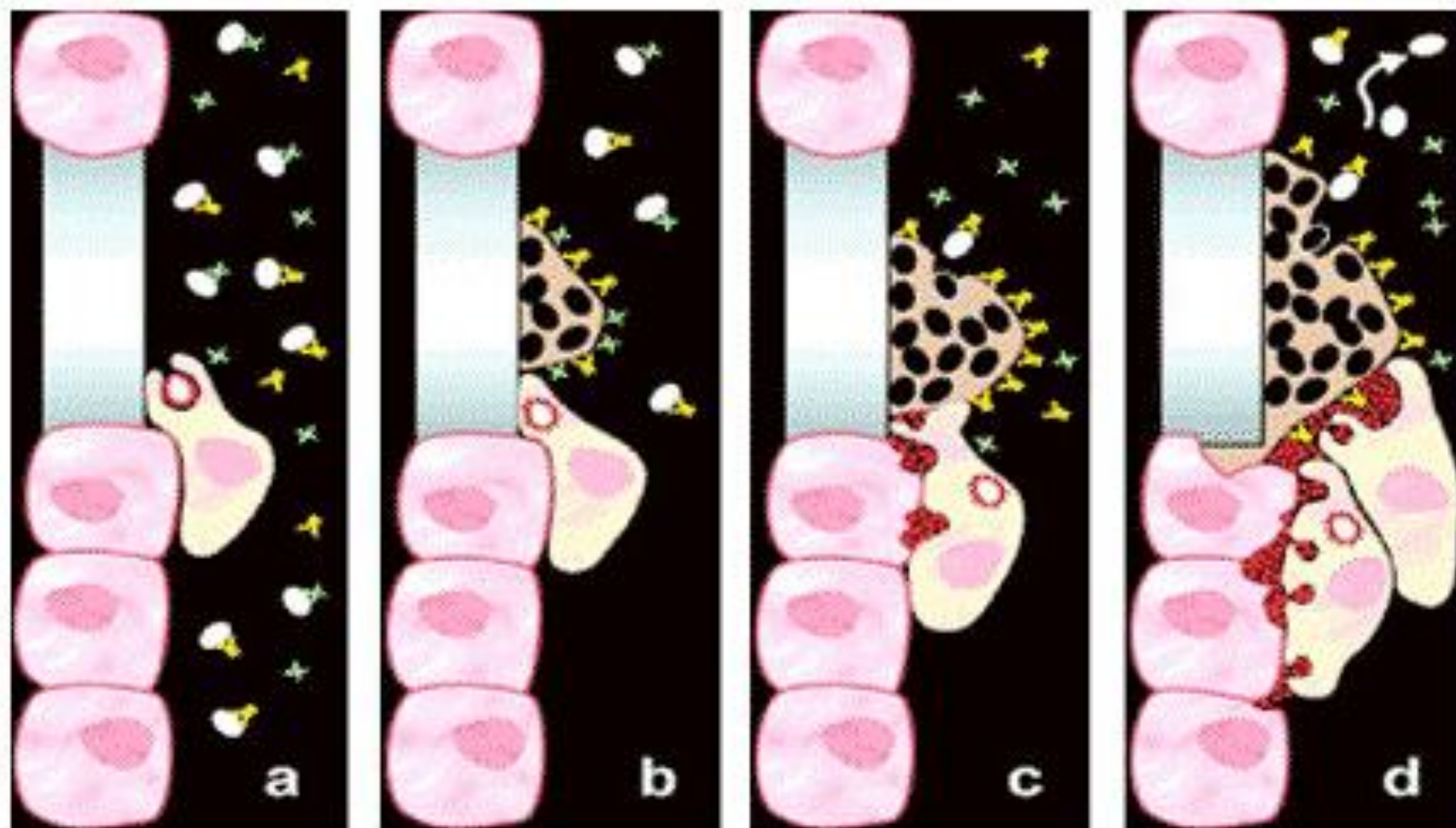
- Biyofilm içindeki bakteri birçok antibiyotik tarafından öldürülmeye ve fagositoza direnç göstererek varlığını sürdürür
- Biyofilm infeksiyonları ilk dönemde asemptomatik
 - Konakçı direnci düştüğünde biyofilmden periyodik olarak kopup ayrılan planktonik (serbest formda) mikroorganizmalar akut infeksiyona yol açabilir
- Antibiyotiğin koruyucu dozları mikroorganizmaları kontrol altına alabilirken biyofilmi etkilemez
- Metabolizmaları ve gelişmeleri yavaşlamıştır
 - Yetersiz besin ve koşullar

Biyofilmler Antibiyotik direncini artırır

- Biyofilm yapan bakterilerde dirençli bakteriler aynı bakterinin biyofilm oluşturmeyan formundan 1000 kat daha dirençlidir
- Biyofilm içersine antibiyotik geçişi yetersizdir veya inaktive olur
- Standart antibiyotik tedavisi genellikle başarısız olup tek yol kontamine implantın çıkarılmasıdır

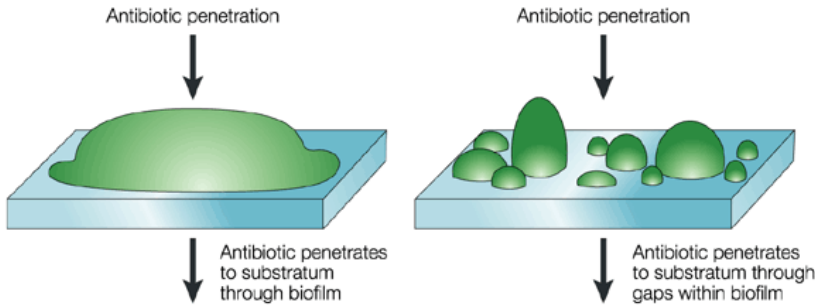


Mechanism of Biofilm Formation



Antibiotic Antibody Planktonic cell Biofilm cell Phagocyte enzymes

Biyofilmlerdeki antibiyotik direnç mekanizmaları



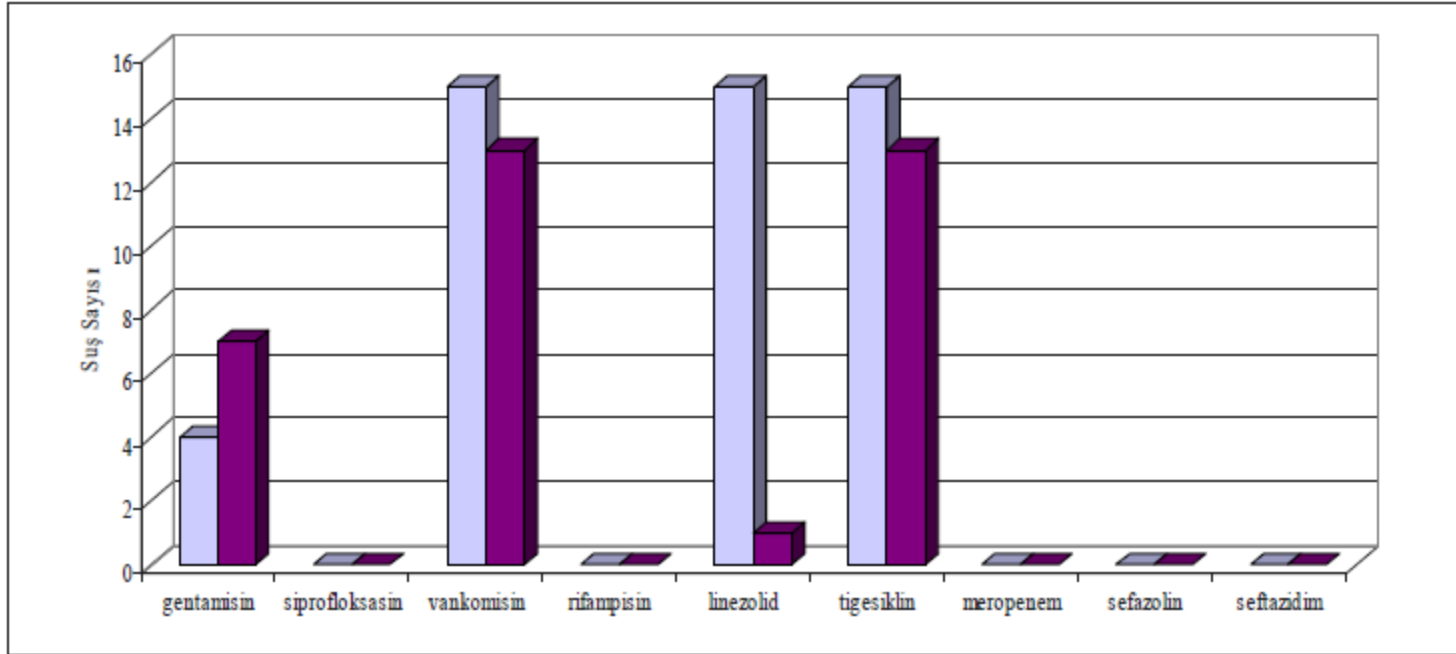
Nature Reviews | Drug Discovery

- Biyofilmler içine gecikmiş antibiyotik diffüzyonu
- Kalıcı hücrelerin subpopülasyonu
 - yavaş üreyen mikroorganizmalar
- Açlık-kaynaklı stres tepkileri
- Glukan
- Etanol oksidasyonu
- Ekstrasellüler DNA
- Effluks pompası
- Tip VI sekresyon sistemi

H.E.

- Tedavinin 4. gününde ateş kontrolü sağlandı
- Vankomisin'in 8. gününde alınan kateter kültüründe üremenin devam etmesi nedeni ile
- **Daptomisin**
 - Biyofilmler içine gecikmiş antibiyotik diffüzyonu
 - Stafilokoklarda vankomisin penetrasyon azalması
- Daptomisin tedavisinin 5. gününde 38,1⁰C ateş
- AFR değerleri tekrar yükselme
- TTE ve batin görüntüleme tekrarlandı
 - Patoloji saptanmadı

Biyofilm Etkili Antibiyotikler

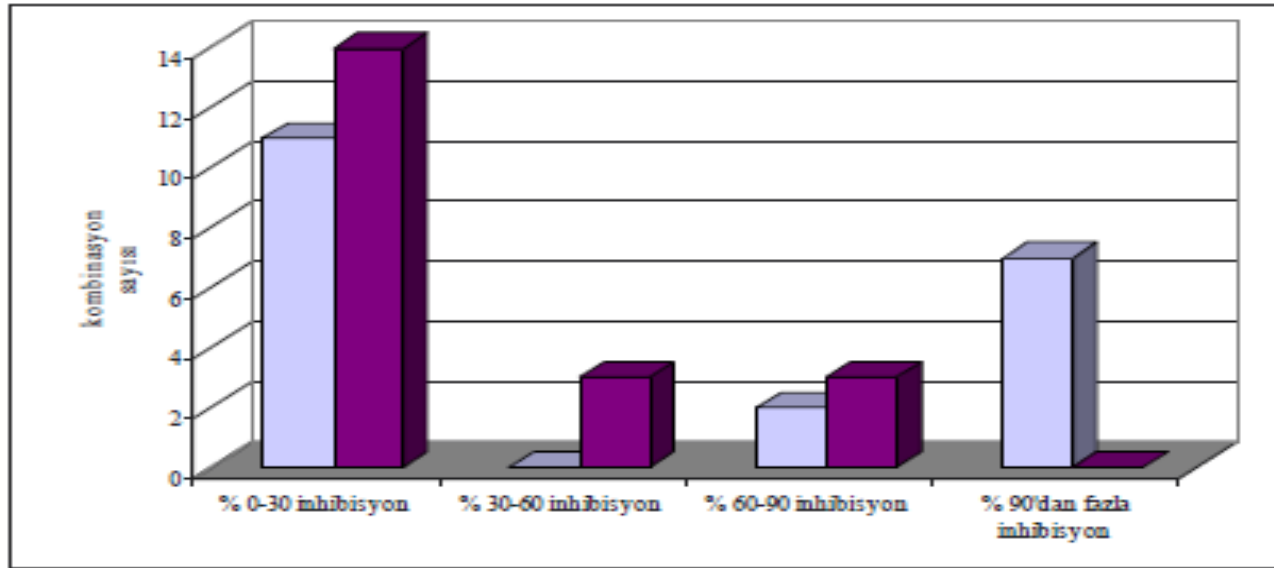


Grafik 4.1. MRSA İzolatlarının Planktonik ve Biyofilm Formlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Planktonik: 

Biyofilm: 

Biyofilm Etkili Antibiyotikler

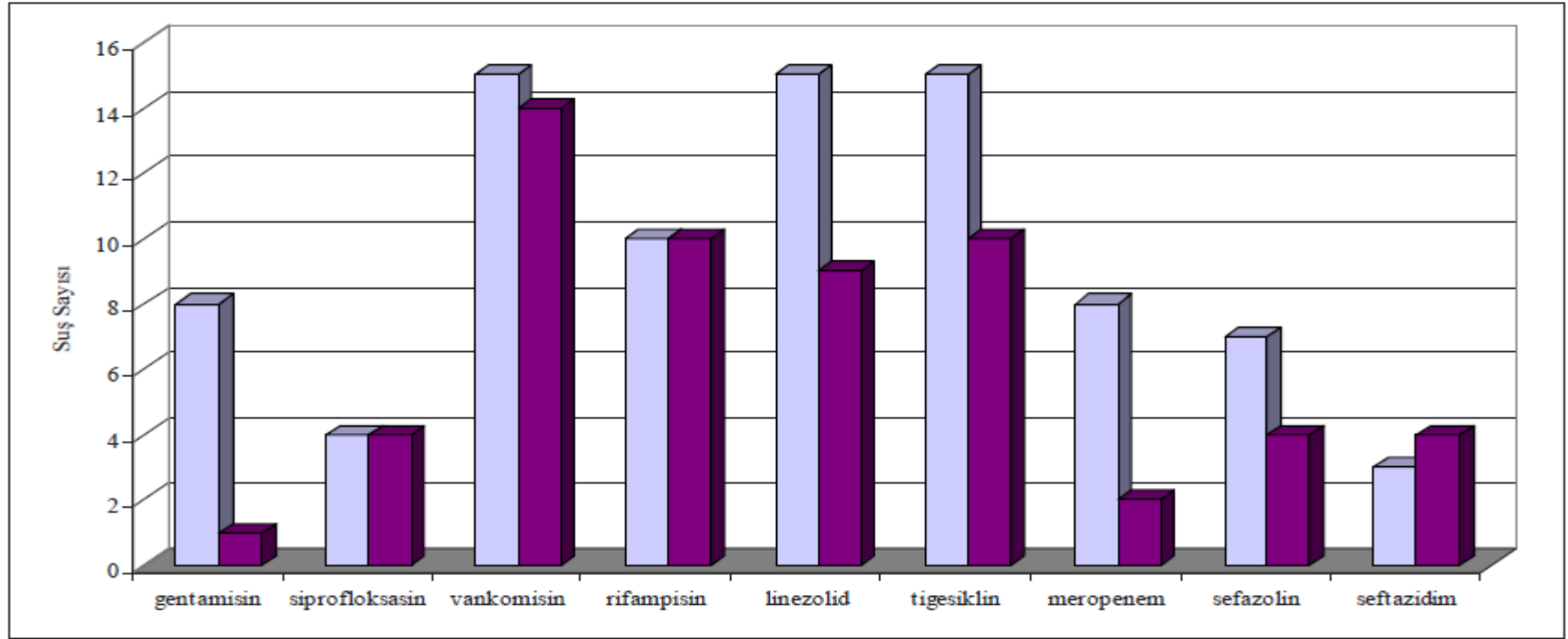


Grafik 4.5. MRSA İzolatlarında Meropenem, Sefazolin ve Seftazidim İçeren İkili Kombinasyonların Etkinliği

Planktonik: 

Biyofilm: 

Biyofilm Etkili Antibiyotikler

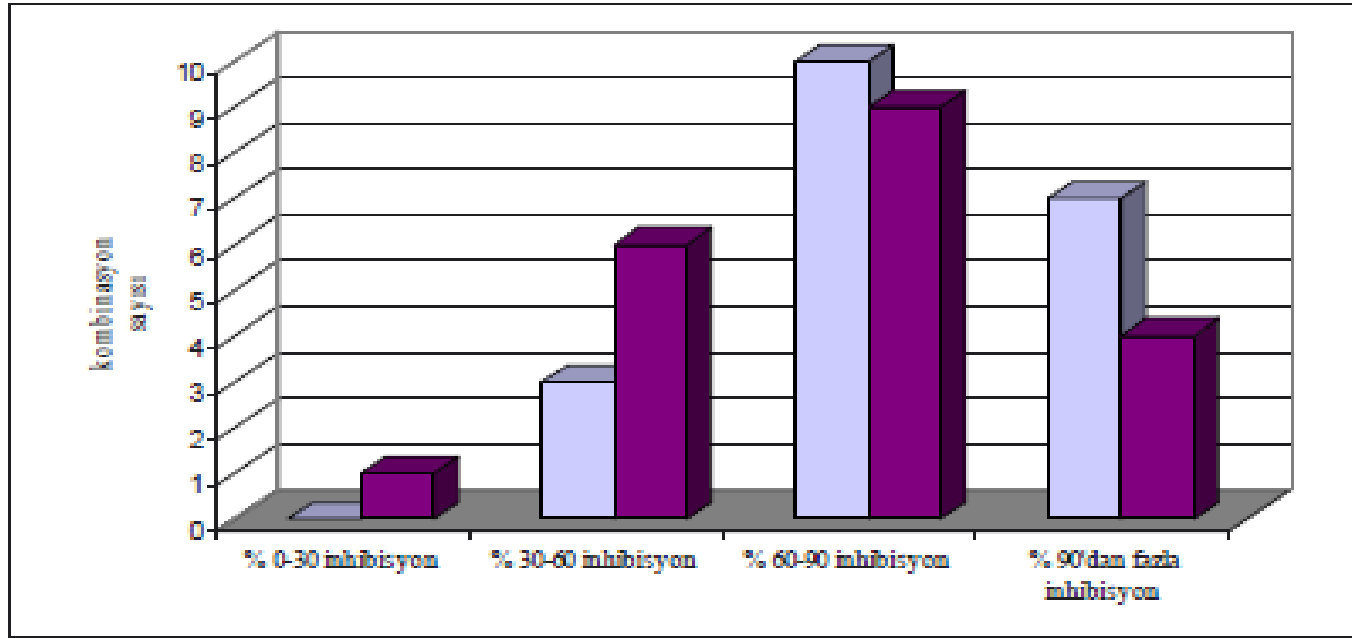


Grafik 4.2. MRKNS İzolatlarının Planktonik ve Biyofilm Formlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Planktonik: 

Biyofilm: 

Biyofilm Etkili Antibiyotikler



Grafik 4.6. MRKNS İzolatlarında Meropenem, Sefazolin ve Seftazidim İçeren İkili Kombinasyonların Etkinliği

Planktonik:



Biyofilm:



Biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik duyarlılığı azalmıştır

- Slime-pozitif KNS suşlarında 22 antimikrobiyal ajanın etkinliğinin araştırıldığı çalışmanın sonuçları
 - Rifampisin dışında tüm ajanların biyofilm ortamında etkinliğinde istatistiksel olarak anlamlı azalma
 - Vankomisin (%63), teikoplanin (%52) ve pefloksasin (%30)

Biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik duyarlılığı azalmıştır

- Metisilin dirençli stafilokok infeksiyonlarının tedavisinde
 - Vankomisin önerilen ilaç olsa da, kateter ilişkili infeksiyonlarda iyi bir tercih değildir
- Tercih edilecek antibiyotikler
 - Daptomisin
 - Fuzidik asit
 - Linezolid*
 - Tigesiklin*
 - Rifampisinli kombinasyonlar

*kateter ilişkili inf.larda dikkat

S.Y.

- Tigesiklin + meropenem tedavisinin 5. gününde

- Ateş yanıtı olmaması

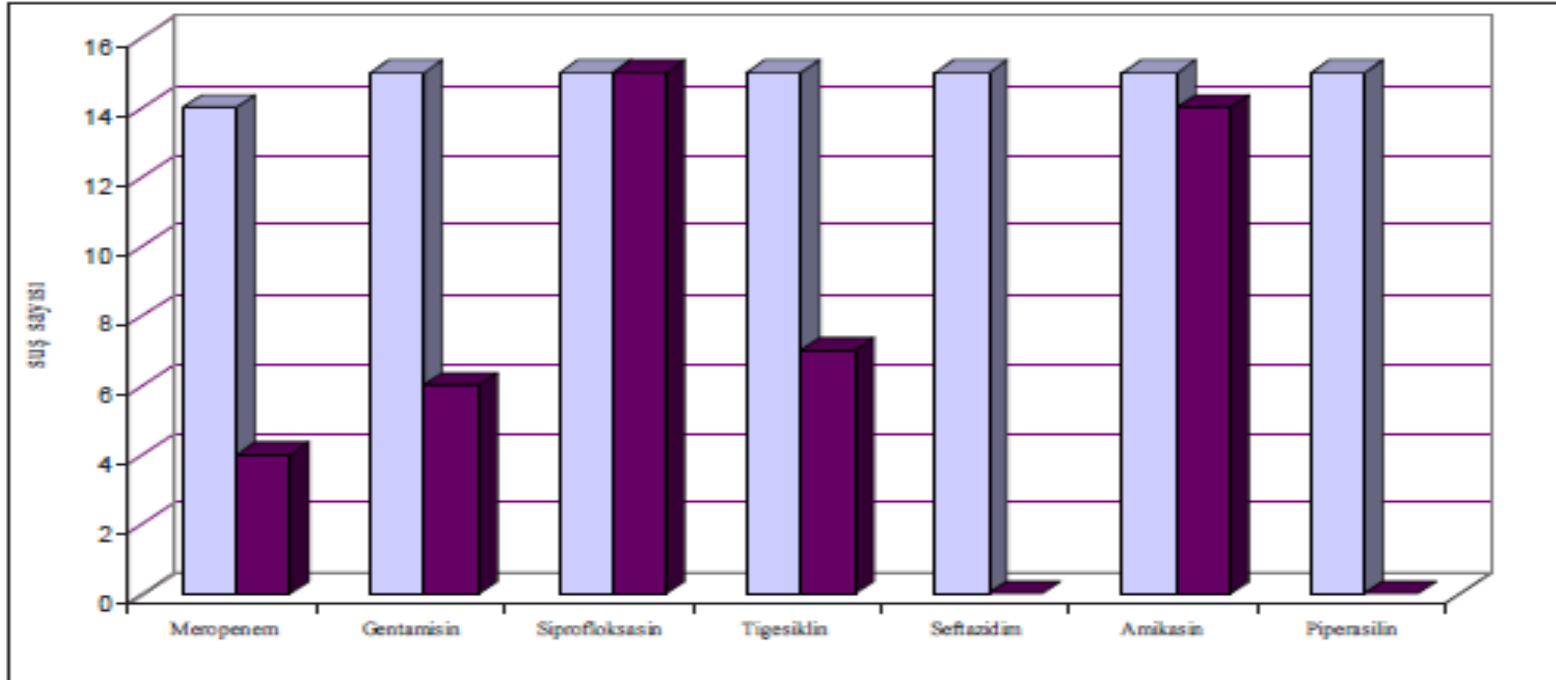
Kateterde üremenin devere atması nedeniyle

- Biyofilmler içine gecikmiş antibiyotik diffüzyonu
- Kalıcı hücrelerin subpopülasyonu (yavaş üreyen mikroorganizmalar)

- Kateter çekildikten sonra 30. saatte tıbbi ateş yanıtı alındı

ateş yanıtı alındı

Biyofilm Etkili Antibiyotikler

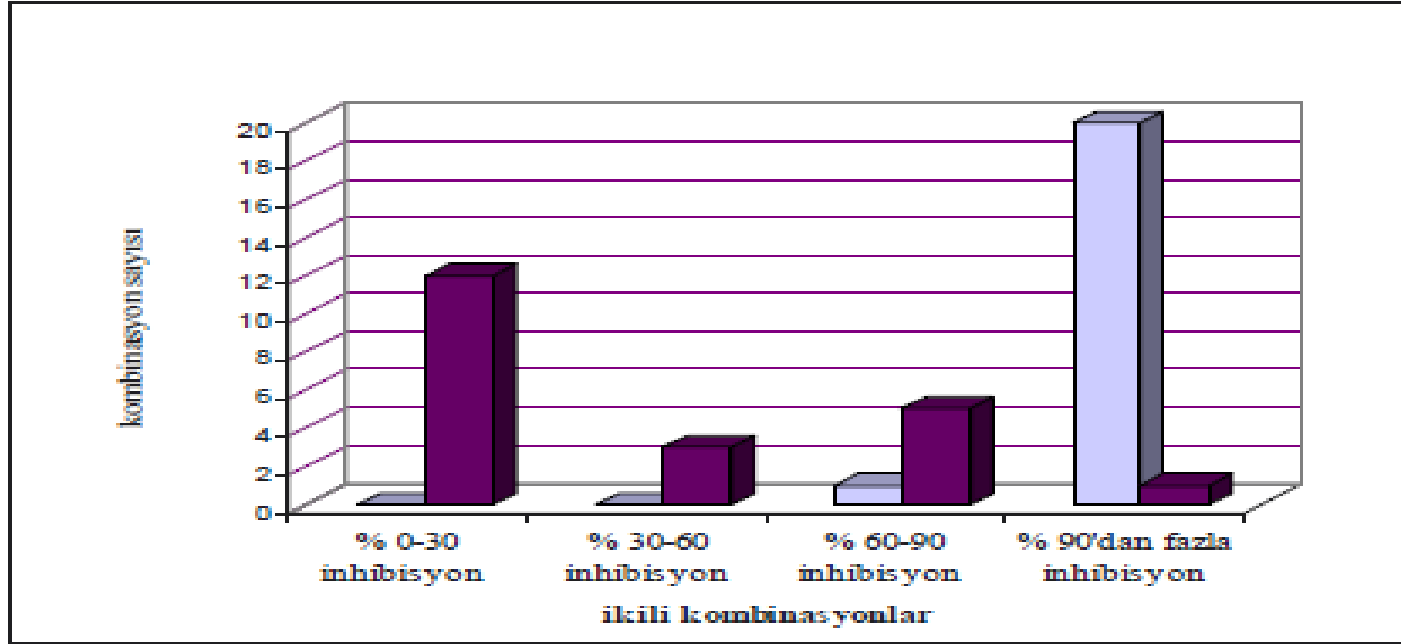


Grafik 4.11. *P. aeruginosa* İzolatlarının Planktonik ve Biyofilm Formlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları

Planktonik: 

Biyofilm: 

Biyofilm Etkili Antibiyotikler



Grafik 4.12. *P. aeruginosa* İzolatlarında İkili Kombinasyonların Etkinliği

Planktonik: 

Biyofilm: 

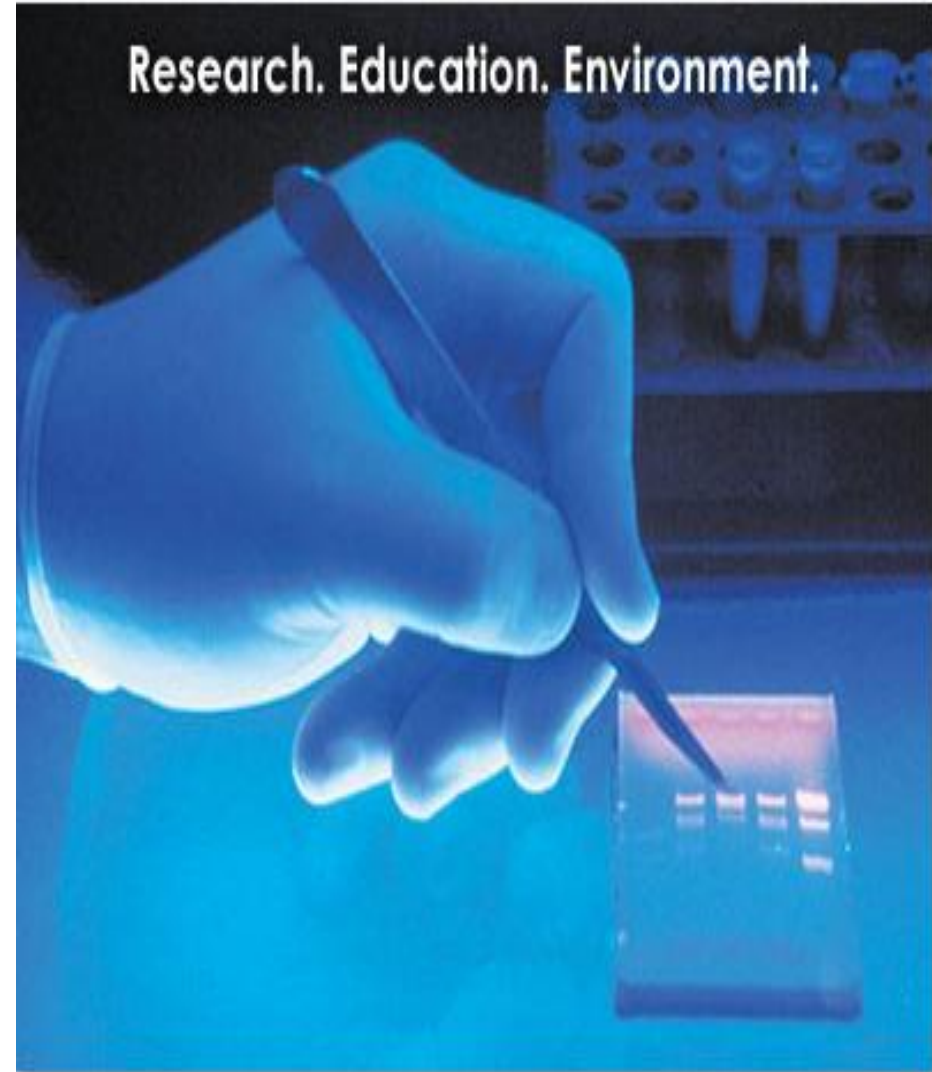
Biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik duyarlılığı azalmıştır

- *P.aeruginosa*'da deneyimler
- Tüm antipseudomonal antibiyotiklerde duyarlılık azalması
- En etkili antibiyotikler
 - Siprofloksasin
 - Amikasin
 - Meropenem

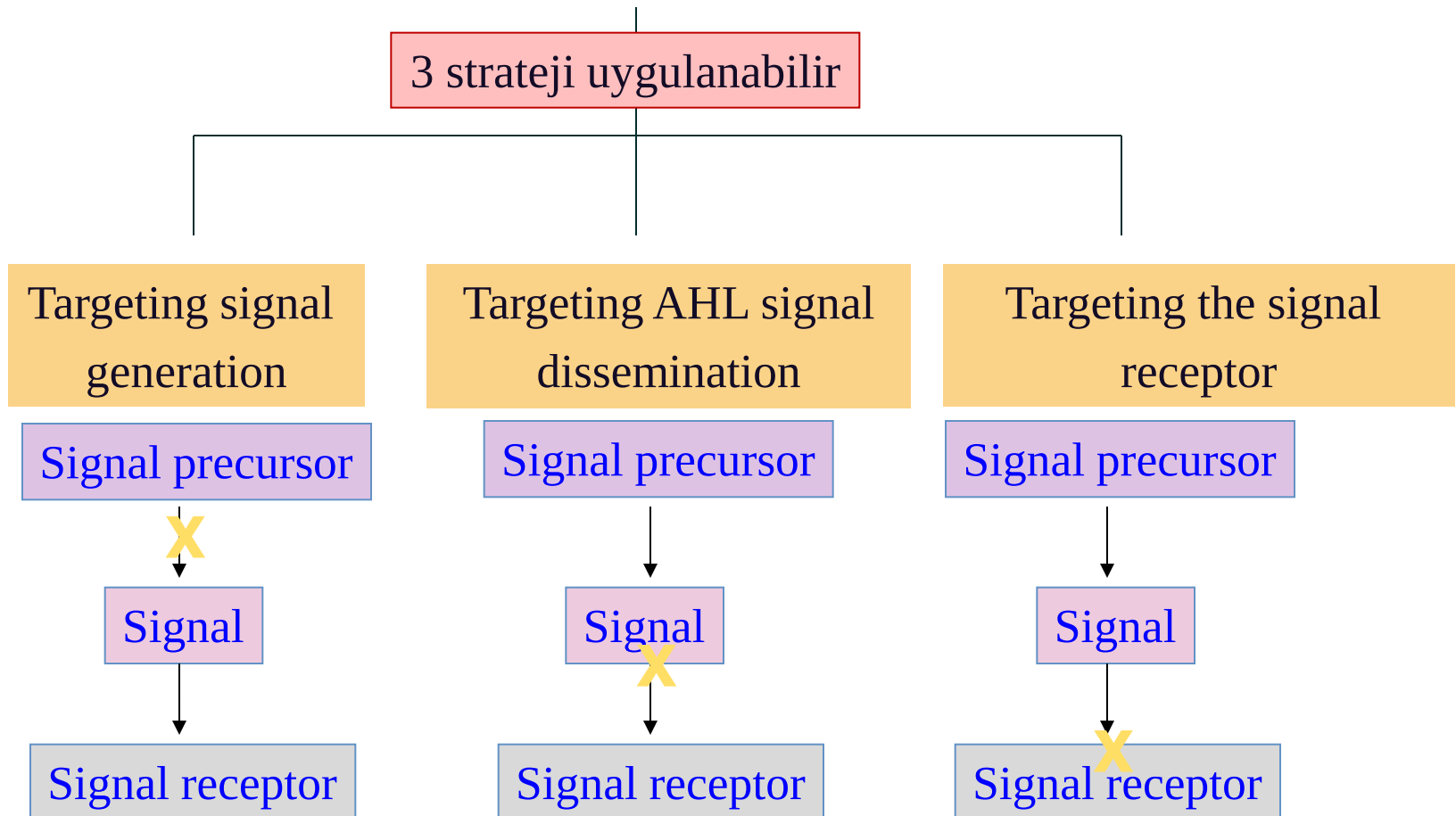
*kateter ilişkili inf.larda dikkat

Biyofilm oluřumunun kontrolü ve engellenmesi

- Doku mühendislięi
- Moleküler biyoloji
- Biyofilmlere etkili solüsyonlar
- Biyofilmlere etkili antibiyotikler



Quorum Sensing İnhibisyonu için Stratejiler



Sonuç ve gelecekteki bakış

- Biyofilim ilişkili antimikrobiyal direnç hala tam olarak anlaşılmış değil
 - Birden fazla biyofilm özgü mekanizmanın eşzamanlı etkisi
- Bu mekanizmaların anlaşılması, yeni tedavi seçenekleri ve biyofilim ilişkili infeksiyonları ortadan kaldırmak için önemli
 - Antibiofilm ajanların geliştirilmesi
- Yakın gelecekte, patojen-spesifik ve klasik küçük molekülle antibiyotiklerle yeni antibiofilm maddelerden oluşan ilaç kokteyllerinin geliştirilmesi

Teşekkürler...