

# Biyofilmler ve Yabancı Cisim İnfeksiyonları

Şerife Barçın Öztürk<sup>1</sup>, Serhan Sakarya<sup>2</sup>, Serkan Öncü<sup>2</sup>, M. Bülent Ertuğrul<sup>2</sup>

**Özet:** İnfeksiyon oluşması için öncelikle patojen mikroorganizmanın hedef yüzeyde kolonize olması gerekmektedir. Kolonizasyon mikroorganizmanın canlı ve cansız yüzeylere tutunması ile başlar ve cansız yüzeylerden yabancı cisimlere tutunan mikroorganizmalar biyofilm oluştururlar. Biyofilmler ekstraselüler polimerlerden oluşmaktadır ve bu yapı çevredeki besin ve iyonların değişimini kontrol etmektedir. Bu değişiklikler bakterinin antibiyotiğe karşı direnç, biyosid ve immün sistemden korunmasını sağlamaktadır. Tüm bu kazanılan özellikler biyofilm oluşturan mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonların eradikasyonunu çok güçleştirmektedir. Mikrobiyal biyofilmler idrar, endotrakeal, intravenöz sondalar ve tüm diğer yabancı cisimlerde gelişebilmektedir. Yabancı cisim infeksiyonlarının hastaların mortalite, morbidite oranlarını ve hastane giderlerini ciddi bir şekilde artırması nedeniyle biyofilm oluşumuna karşı araştırmacıların geliştireceği yeni tedavi stratejilerine gereksinim vardır. Bu derlemede biyofilm ve yabancı cisim infeksiyonları arasındaki ilişki ve geliştirilmiş stratejiler güncel literatürlerden faydalanılarak tartışıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Biyofilm, yabancı cisim infeksiyonları, antibiyotik direnci, quorum sensing.

**Summary: Biofilm and device-associated infections.** To initiate infection, pathogens must first be able to colonize an appropriate host target surface. Colonization begins with attachment of microorganism to living and nonliving surfaces including those of indwelling medical devices, and forms biofilms. Biofilms made up of extracellular polymers and this matrix regulates exchange of ions and nutrients with the surrounding environment. This regulation contributes resistance to antibiotics compared to planktonic forms, and protects the microorganism from biocides and immune recognition. Altogether these properties render exceedingly difficult to eradicate infections with biofilm forming microorganisms. Microbial biofilms readily develop on all types of devices, urinary, endotracheal, intravenous and other types of catheters and implants. Since device-related infections constitute a major cause of morbidity and mortality in patients and increasing medical costs, researchers should develop new therapeutic strategies against biofilm formation. In this review, biofilm-related device-associated infection and strategies developed against biofilm formation was discussed under the scope of literatures.

**Key Words:** Biofilm, device-associated infections, antibiotic resistance, quorum sensing.

## Giriş

Günümüze kadar biyofilm birçok bilimadamı tarafından farklı şekillerde tanımlanmıştır. İlk olarak 17. yüzyılda Leewenhoek'in dişinden almış olduğu örnekte plaklar içinde yaşayan mikroorganizmalardan bahsetmesinden sonra, 1978 yılına kadar biyofilmin varlığından bahsedilmemiştir. Burada bakterinin büyük bir kısmının biyofilm adı verilen besleyici bir oluşum içinde olduğu ve bakterinin yapılmış şekli ile serbest bulunan şekli arasında farklılık olduğu gösterilmiştir (1). Daha sonra yapılan mikroskopik gözlemlerde bakterilerin doğadaki sıvısal ekosistemlerde farklı yüzeylere yapışarak çoğalmasının %99.9 oranında biyofilm aracılığı ile olduğu gösterilmiştir. Artık günümüzde derin yeraltı suları ve okyanusların derinlikleri hariç biyofilmin tüm doğal ekosistemde oluşabildiği kabul edilmektedir (2). Biyofilm yıllardır endüstriyel bir sorun olarak bilinirken, artık tıptaki önemi sadece dişteki plaklardan ibaret olmayıp özellikle yabancı cisim infeksiyonları başta olmak üzere birçok kronik infeksiyonda rol oynadığı gösterilmiştir (3). Aderans, antibiyotik direnci ve fagositözda önemli rolü olduğunun bilinmesi son yıllarda tıbbi önemi-

ni artırırken (4); bakterilerin birbirleriyle konuşarak bir topluluk oluşturmaları ve gen alışverişi ile düzenlemeleri aracılığıyla ortama adapte olmaları ("quorum sensing"), tıbbi önemini daha da artırmıştır (5).

Genetik adaptasyon; hayatı devam ettirme ve uyumun köşe taşı olup, genlerde birbirini takip eden mutasyon ve rekombinasyonlar ile yeni genetik materyal kazanarak veya mevcut olan genetik materyalin sunumu ile oluşmaktadır. Bakterilerin gen sunumundaki esneklik, bakterinin dünyada veya biyolojik ortamda her an değişen koşullara hızla ayak uydurabilmesini sağlamaktadır. Bakterinin ortama genetik adaptasyon gösterecek, sistematize gen sunumu aracılığı ile büyüme ve çoğalmasını devam ettirebilmek için oluşturduğu polimerik bir yapı olan biyofilm, bakterinin adaptasyonu ile ilgili en önemli klinik örneği oluşturmaktadır. Biyofilm yapı ve dolayısı ile karşımızdaki tehdidin ortama göre adaptasyondaki başarısı, mikroorganizmalar ile savaşta halen kullanılan yöntemlerin yetersiz ve düşmanımızın aslında hiç küçümsenmeyecek özelliklerinin olduğunun açık bir göstergesidir. Bu nedenle son yıllarda bakteriyel biyofilmin oluşumu ile ilgili bilimsel çalışmalar hızla artmaktadır.

Halen günümüzde biyofilm oluşumunun doğal kapak endokarditi, osteomyelit, dental taşıyıcılık, kronik bakteriyel prostatit, orta kulak infeksiyonları, tıbbi implant infeksiyonla-

- (1) Ardahan Devlet Hastanesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ardahan
- (2) Adnan Menderes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın

rı ve özellikle kistik fibroz gibi kronik akciğer hastalıklarında önemli bir yer tuttuğu bilinmektedir (6). Oluşan biyofilmin antibiyotik tedavisine, aynı genetik materyale sahip serbest yaşayan bakterilere oranla 100-1000 kat tolerans veya direnç geliştirmesi, fagositoza karşı oluşan direnç ve tedavi sonrası relaps oranının yüksek olması, biyofilm oluşturan bakterilerin yaşayan organizmadan uzaklaştırılmasının ne kadar güç olduğunun en önemli göstergesidir (4).

Tüm bu bulgular biyofilmin doğada oluşan herhangi bir polisakkarid tabiatında madde olmadığı, bakterinin ortama adaptasyonunda etkili genetik düzenlemeler ile ortaya çıkan ve infeksiyonun patogenezi ve tedavisinde halen bilinen yöntemler dışında bilinmeyenlerin ortaya çıkarılmasında rol oynayan önemli bir faktör olabileceğini düşünmek yanlış olmayacaktır. Bu düşünceden yola çıkarak son yıllarda yapılan proteom ve genom çalışmaları bu tanımları desteklercesine çok önemli yeni kavramları ortaya koymaktadırlar.

### Biyofilm Nedir?

Biyofilm günümüze kadar değişik şekillerde tanımlanmıştır. İlk olarak 1976 yılında Marshall (7), biyofilmin çok ince bir ekstraselüler polimer fibril olduğunu ve bakterinin yüzeye tutunmasında önemli olduğunu bildirmiştir. Costerton ve arkadaşları (3), bakteri tarafından üretilen ve bakterinin cansız veya canlı yüzeylere yapışmasını sağlayan polisakkarid tabiatında “glikokaliks” olarak da adlandırılan polimerik matriks olarak tanımlarken; Elder ve arkadaşları (8), mikroorganizmaların ekzopolimer matriks aracılığı ile oluşturdukları yapısal birlik olarak, Carpentier ve Cerf (9) ise çok basitçe, bakterilerin gömülü olarak bulunduğu ve yüzeye yapışmış olan organik polimer matriks olarak tanımlamıştır. Biyofilmin en yeni tanımı ise mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, herhangi bir yüzeye, ara yüzeye veya birbirlerine yapışmalarını sağlayan ve büyüme oranları ile gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotip gösterebilen ve oluşturan mikroorganizmanın içinde gömülü olarak bulunduğu ekstraselüler polimerik maddeden oluşmuş matriks şeklindedir (6).

### Biyofilmin Yapısı

Biyofilm, bakterinin yüzeyinde düzensiz bir şekilde dağılmış polisakkarid bir matrikstir. Yapılan çalışmalarda; matriksin yoğunluğu ve genişliğinin sadece hücresel ve hücresel olmayan yapılar arasında değil, aynı zamanda mikroorganizmaların türleri arasında da değiştiği gösterilmiştir. Tüm biyofilmlerin büyük bölümü (%73-98) hidrate şeklindedir. Mikroskopik olarak incelendiğinde biyofilm; arasından kanalların geçtiği, ortamdaki organik ve inorganik moleküllerin ekstraselüler yapıda toplanmasıyla, mercan kayalıklar benzeri yapı oluşturan ve bunun üzerindeki piramid veya mantar şekilli uzantılardan oluşan bir oluşum görünümündedir.

Biyofilmin gelişme potansiyeli, yakın çevredeki besinlerin kullanımı, hücre içine alınımı ve atıklarının uzaklaştırılması ile yakın ilişkili olup, bunların dışında besin kısıtlanması sonucu sunulan “quorum sensing” moleküllerinin salınımı, ortam pH'sı, O<sub>2</sub> perfüzyonu, karbon kaynağı ve ozmolarite de biyofilm gelişimde çok etkilidir (9-15). Son yıllarda bazı ökaryot ve prokaryot hücreler tarafından salınma ve hücreler arası sinyal iletimini sağlayarak, bakterinin gen sunumunu

düzenleyen moleküller (acylated homoserine lactonase vs.) aracılığı ile biyofilm yapımının düzenlenebileceğinin gösterilmesi biyofilmin patojenite ve çevreye adaptasyonda “quorum sensing” in önemini çok artırmıştır (12-16).

### Mikroorganizmalar Neden Biyofilm Oluşturmaktadır?

Bakterilerin biyofilm oluşturan formları ile serbest yaşayan formu arasında ciddi farklılıklar görülmesine ve bakterinin biyofilm oluşturmamasını gerektiren durumlar ile ilgili farklı görüşler olmasına karşın, bu çalışmaları derlediğimizde biyofilm oluşumunun nedenlerini şu başlıklar altında açıklamak uygun olacaktır:

**Savunma:** Strese cevap olarak gelişir. Biyofilmin kan akımı ve tükürüğün yıkama gücü gibi birtakım fiziksel güçlere karşı dayanıklılığı vardır. Biyofilm içindeki mikroorganizmalar, besin yoksunluğu, pH değişiklikleri, oksijen radikalleri, dezenfektanlar, fagositoz ve antibiyotiklere karşı serbest yaşayan hücrelerden daha dirençlidir. Bu nedenle biyofilm, kronik seyirli infeksiyonlarda, bu özelliği kazandıran önemli bir faktör olarak bilinmektedir. Biyofilmin büyük bir bölümünü oluşturan ekzopolisakkaridler (EPS), savunmada önemli rol oynayan moleküllerdir. EPS, bulunduğu bakteriyi çekim alanlarından (elektrik çekimi) uzaklaştırarak inflamatuvar hücrelerin fagositozundan, antibiyotik etkisinden bakteriyi korur (4,6). Çevreden almış olduğu sinyaller sonucu tehlikede olduğunu algılayan bakteri, yapısal olarak bulunan veya transfer ettiği genler ile biyofilm oluşturarak kendini koruma altına almaktadır.

**Adezyon ve Kolonizasyon:** Mikroorganizmaların yaşam için ortamda kalabilmesinin en bilinen yolu biyofilm oluşturmaktır. Bakterilerin vücudun herhangi bir bölgesinde sabit kalabilmeyi sağlamak için birtakım stratejileri vardır. Bakteri yüzey proteinleri, konakçının fibrinojen, fibronektin, vitronektin, elastin gibi ekstraselüler matriks proteinlerine yapışırlar. Bu adezin ve matriks proteinleri, konakçıya bakterinin aderansında anahtar rol oynarlar (17). Aderans sonrası bu bölgeye yerleşen bakteriler bir yandan belli bir popülasyona ulaşmak için çoğalırken diğer yandan da biyofilm oluşturma özelliklerine göre biyofilm yapımına başlarlar. İlginçtir ki, biyofilm bakterinin aderansını artırırken, biyofilm oluşumunun başlaması ile birlikte bakteri adezyon ve motilite faktörlerinin sunumunda da bir baskılamaya olmaktadır (18-21).

**Yaşanabilir Çevre Geliştirmek:** Özellikle ortamdaki glikozun bakteri tarafından kullanılabilir olmasının *Pseudomonas*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* ve stafilkokların EPS ekspresyonu ve biyofilm oluşturmalarını belirgin bir şekilde artırdığı gösterilmiştir. Karbon katabolitlerinin, konakta yapışmış bakterinin gen düzenlenmesini uyararak biyofilm oluşumunda kritik rol oynaması, bakterinin konakta uygun bir ortam oluşturarak kalabilmesindeki mekanizmalar için biyofilmin gerekliliği hipotezini ciddi bir şekilde desteklemektedir (22-24).

**Topluluk Oluşturmak:** Kazançların ortak paylaşımıdır. Bakterilerin ortama adaptasyonundaki beraberlik biyofilm oluşturmada sıklıkla görülmektedir. Bakteriler biyofilm oluşturdıkları gibi ortamdaki aldıkları uyaranlar (besin, pH, ısı vs.) sonucu hızla da serbest hale geçebilmektedirler. Bu geçiş, ortama uygun olarak sundukları genler aracılığı ile olmaktadır. Tüm bakterilerin çevre faktörlerine aynı yanıtı ver-

miş olmaları ve fenotipik değişiklikler sergilemeleri toplu halde yaşamlarının en önemli göstergesidir.

Biyofilm üreten bakterilerin klinik önemi, mikroorganizmaların nasıl biyofilm oluşturduğu sorusunu sorgulamaya ve kemoterapötik ajanların özgül hedefi olabilecek mekanizmaları araştırmaya itmiştir. Yapılan genom ve proteom çalışmaları, biyofilm gelişimi ile ilgili birçok genin bulunmasına neden olmuştur. Bu genlerin hücre fizyolojisindeki rolleri araştırıldığında; adezyon, “quorum sensing”, hücre duvar yapımı, metabolizma, stres cevabı ve plazmide bağlanmada etkili oldukları görülmüştür. Biyofilm oluştuğunda mikroçevredeki değişiklikler, gen ekspresyonlarında da değişiklikler oluşturarak biyofilmin oluşumunu hızlandırmaktadır. Biyofilm oluşumuna etkili genlerin bir kısmı biyofilm oluşumunu artırırken, bir kısmı da azaltmaktadır. Biyofilm oluşturan genetik materyal, plazmidler aracılığı ile de kolaylıkla aktarılmaktadır.

### Tıbbi Önemi

Biyofilm tıbbi önemi açısından sorgulandığında bakteri virülansından, infeksiyonun tedaviye yanıtızlığına kadar geniş bir yelpazede rolü olduğu görülmektedir. Bunlar şu şekildedir.

**Bakteri Aderansı:** Bakteri aderansı iki aşamadan oluşmaktadır:

**1-Primer adezyon:** Birçok fizikokimyasal değişkenin rol oynadığı bu bağlanma, geri dönüşümlü ve gevşek bir bağlanma olup, bakteri ile uygun cansız yüzeyler arasında oluşmaktadır. Bu adezyonun oluşması için, öncelikle bakteri ile yüzey yeterli yakınlığa ulaşmalıdır (<1 nm). Bundan sonra adezyon, her iki yüzeyin çekim ve itme gücüne bağlı olarak gelişmektedir. Bu güç; elektrostatik ve hidrofobik ilişki, van der Waals gücü, ısı ve hidrodinamik güç şeklinde olmaktadır (9,25). Bakterilerin hemen tümü (*Stenotrophomonas maltophilia* dışında) ve cansız yüzeyler negatif elektrik yüküne sahip olup, birbirleri için itme gücü oluştururlar (9,26). Bakteri ve yüzeyler arası primer aderansa, en önemli etkinin hidrofobik ilişki olduğu bilinmektedir (9).

**2- Sekonder adezyon:** Aderansın, bakteri yüzeyindeki piluslar, fimbriyalar veya fibriller gibi ligandların, ökaryot hücrelerdeki spesifik ligandlara bağlanması ile oluşan spesifik ve geri dönüşümsüz aşamasıdır. Biyofilmin olgunlaşması, bakterinin yüzeye geri dönüşümsüz olarak yapışmasından sonra başlar. Biyofilm geliştikçe, bakterinin aderans ve motilite faktörlerinin salgılanmasında da baskılanma olmaktadır (18-21). Ancak birçok türde biyofilm anyonik yapıda olup, esansiyel mineraller ve besinlerin etraftan yakalanarak konsantrasyonun sağlanmasıyla bir sistem oluşturmaktadır (9,27). Esas olarak; biyofilm üç boyutlu çekim gücü oluşturup, bulunduğu bakteriyi çevreleyerek bakterinin aderansını ve korunmasını sağlar.

**Antibiyotik Direnci:** Bakterinin biyofilm oluşturarak yüzeye yapışmış formu (sesil) ile süspansiyon formu (planktonik) arasında, antibiyotik duyarlılık farkının olduğu gösterilmiştir (28,29). Bu da bakterinin, olgun biyofilm içindeki davranışı ile serbest yaşayan bölümü arasındaki en önemli farkı oluşturmaktadır. Biyofilmin antibiyotik direnci oluşturmada en az üç mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir:

**1- Moleküler filtre:** Bu mekanizmanın, özellikle vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptidlerin geçişinin engellenmesi ve vankomisinin, gentamisin ile olan sinerjistik etkisinin bozulmasında rol oynayan en önemli mekanizma olduğu gösterilmiştir (30). Seftazidim, piperasilin gibi beta-laktam antibiyotiklerin alginat jelden penetrasyonunun, gentamisin ve tobramisin gibi antibiyotiklerden daha hızlı olduğu gösterilmiştir (31). Bunun yanında; bakteri duvarında değil de duvarı geçtikten sonra etkili olan antibiyotiklerle yapılan çalışmalarda, sentetik olarak üriner sondada oluşturulan *Pseudomonas aeruginosa* biyofilmindeki bakteriler yüksek dozda tobramisin ile öldürülemezken, aynı bakterinin tobramisin MİK değerinde herhangi bir farklılığının olmaması (32); serbest bakterilerin, biyofilm oluşturmuş bakterilerle karşılaştırıldığında tobramisin duyarlılığının 15 kez daha fazla olması (33) ve siprofloksasinin *P. aeruginosa*'ya penetrasyonu normalde 40 saniye iken, aynı genetik yapıya sahip biyofilm oluşturmuş formda penetrasyonun 21 dakika olması (34) gibi çalışmalar biyofilmin bariyer fonksiyonunu destekleyen en önemli bulgularındandır.

**2- Çoğalma oranlarının değiştirilmesi:** Bakterilerin çoğalma oranlarındaki değişiklikler antibiyotik cevaplarını da değiştirmektedir. Biyofilm içindeki bakterilerin büyüme hızlarının, serbest yaşayan bakterilerden belirgin bir şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir. Eng ve arkadaşları (35)'nin yaptığı bir çalışmada durağan fazdaki Gram-negatif bakterilere sadece fluorkinolonların aktif olabirirken, beslenmesi zayıflatılarak çoğalma hızları düşürülen *Staphylococcus aureus*'lara hiçbir antibiyotiğin yeteri kadar etkili olamadığı gösterilmiştir. Bunun yanında Anwar ve arkadaşları (36), *S. aureus* biyofilminin oluşma süresi ile antibiyotik direncinde artış olduğunu göstermişlerdir. Tüm bu bulgular, biyofilmin bakteri beslenme ve büyümesini etkileyerek, antibiyotiklere direnç gelişimini sağladığının en önemli göstergesidir.

**3- Mikroçevrenin antibiyotik aktivitesine etkisi:** Biyofilm oluşumu için gerekli pH, pCO<sub>2</sub>, iki değerli katyonik konsantrasyonun hidrasyon seviyesi, pirimidin konsantrasyonu gibi mikroçevre değişkenleri, biyofilm oluşumu üzerine çok etkilidir. Biyofilm oluşumunu kolaylaştıran bu mikroçevre değişkenleri, özellikle aminoglikozid, tetrasiklin ve makrolidlerin antibakteriyel etkisini negatif yönden etkileyerek antibiyotik direncini oluşturmaktadır (37).

**İnflamasyona Etkisi:** İnfekte biyomedikal implantlarda, konak tarafından kompleman, fibrinojen, fibronektin, glikozaminoglikan gibi matriks proteinleri veya inflamatuvar cevap proteinlerinin indüklenmesinde, biyofilm önemli rol oynamaktadır. Biyofilm üreten Gram-negatif bakteriler, endotoksin üretimini artırarak hastada daha fazla immün yanıtta da neden olmaktadır (38-40). Oluşan inflamatuvar yanıtın büyüklüğü, infeksiyonun şiddetini de etkilemektedir. Bunun yanında, biyofilm oluşturan bakterilere karşı makrofaj fagositik aktivitesinin veya yapılan opsonik antikorların yetersizliği, mikroorganizmanın ortamdaki temizlenmesini engellemektedir (41-44). Biyofilm içinde bulunan bakteri popülasyonu, çevreden gelen streslerin artması ve biyofilmin düzenleyicisi olarak bilinen asil-homoserin laktan molekülünün etkisi ile, biyofilm içindeki bakteriyi kopartabilmekte ve septik emboliler ile infeksiyonun yayılmasına neden olabilmektedir (14).

Bu bağlamda biyofilm oluşturan bakteriler ile, doğal kapak endokarditi, otitis media, kronik bakteriyel prostatit, kistik fibroz, periodontit gibi doğal seyirli hastalıklar yanında protez kapak, santral venöz kateter, üriner sonda, ortopedik protez, kontakt lens ve intrauterin cihazlar gibi yabancı cisim infeksiyonları arasındaki epidemiyolojik bağ artık kanıtlanmıştır. Günümüzde giderek artan oranlarda kullanılan yabancı cisim uygulamaları ve sonucunda gelişen infeksiyonlar biyofilmin önemini giderek artırmaktadır.

### Biyofilmler ve Yabancı Cisim İnfeksiyonları

Yabancı cisimler, modern tıbbın vazgeçilmez olanaklarından biri oldukları kadar; getirdikleri yeni sorunlarla, mortalite ve morbiditeye olumsuz katkıları nedeniyle günümüzde en çok araştırılan alanlardan biri olmuşlardır. Son yıllarda bu araştırmaların büyük çoğunluğunu, mikroorganizmalar ve bunların oluşturduğu yabancı cisim infeksiyonları oluşturmaktadır. Yabancı cisim ve diğer kronik infeksiyonlarla, antibiyotiklere ve konak savunmasına karşı kazanılmış direnç ile ilgili çalışmalara dayanarak Amerika Birleşik Devletleri'nin Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) (45), tüm dünyada biyofilme bağlı infeksiyonların oranını %65 olarak açıklamıştır.

Yabancı cisim infeksiyonlarının oluşumunda gelişen olaylar sırası ile şunlardır: **a)** bakterinin materyale primer olarak yapışması, **b)** EPS yardımı ile hücrelerin yapışması sonucu, çok katlı bakteri kümelerinin oluşumu (46-48). Yerleştirilen yabancı cisim, mikroorganizma ile kontamine olduğunda, birçok değişken biyofilm gelişimini belirler. Mikroorganizmaların geri dönüşümsüz bağlanmaları için, öncelikle yabancı cismin mikroorganizmaya yeterince uzun bir süre maruz kalması gereklidir. Tutunan hücre oranı; yabancı cismin içinde bulunduğu sıvıdaki hücre sayısı ve tipine, yabancı cisim içinden geçen sıvının akışkanlık oranına ve yüzeyin fizikokimyasal karakteristiklerine bağlıdır. Sıvı içindeki bileşenler, yüzey özelliklerini değiştirebilir ve bağlanma oranını etkileyebilirler. Bu hücreler, öncelikle geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve biyofilmi geliştirmek için ekstraselüler polisakkaridler üretirler. Büyüme hızı akışkanlık oranından, ortamın besin içeriğinden, antimikrobiyal ilaç konsantrasyonundan ve ortam ısısından da etkilenir (46).

Yapışmadan hemen sonra, ekstraselüler polisakkaridlerin oluşturulmasıyla biyofilm gelişimi başlar. Ekstraselüler polimerler mikroorganizmaların adezyonunu artırır. Canlı ve cansız dokulardan oluşan bu yapıda bulunan mikroorganizmalar, biyofilm içinde veya serbest olarak bulunurlar (46-48).

Yabancı cisimlerdeki biyofilmler, Gram-pozitif veya Gram-negatif bakterilerden ya da mayalardan oluşabilir. İzole edilen bakteriler Gram-pozitiflerden *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Streptococcus viridans*; Gram-negatiflerden *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* ve *P. aeruginosa*'yı mantarlardan ise çoğunlukla *Candida* türlerini içerir. Biyofilmler kullanılan araca ve hastada kalma süresine bağlı olarak tek tür ya da çok türden oluşabilir (46).

Yabancı cisim infeksiyonlarından en sık izole edilen Gram-pozitif bakterilerden biri olan *S. epidermidis*'in, *S. aureus* gibi çok sayıda ekzotoksini yoktur. Bu nedenle; biyo-

film, bu bakteri için en önemli virülans faktörüdür. *S. epidermidis*'in yabancı cisim yüzeyine yapışması hemen olmaz. Süreç içinde gelişerek, spesifik veya nonspesifik faktörler ile yapışır. *S. aureus* ise; iyi bilinen adezinleri ile yapışır, ancak yapışması daha çok fibronektin, fibrinojen ve kolajen gibi konak-doku ligandlarına bağlıdır. *S. aureus* bu yapılarla, mikrobiyal yüzey proteinleri ile yapışır. Stafilokoklar; yabancı cisim yüzeyine yapıştıktan sonra, çoğu teikoik asid ve şekerden oluşan ekstraselüler matriksi üretirler. Bakteri kümeleri çok tabakalı biyofilm içinde bulunur. Koagülaz-negatif stafilokoklarda (KNS), polisakkarid interselüler adezin, biyofilm oluşumunda önemli rol oynar. Yine bu mikroorganizmalarda, çok katlı biyofilm oluşumunda önemli rolü olan ica geni, beta-laktam direncine katkıda bulunur. Bu gen, infekte eden suşlarda, kontaminasyona yol açanlara göre daha sık saptanır.

**1. Ortopedik Protez İnfeksiyonları:** Protez ile ilişkili infeksiyonlar, klinikte kullanılan biyomateryallerle ilgili en ciddi komplikasyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Total kalça protezi sonrası infeksiyon görülme oranı %1-2 iken, protez revizyonu sonrası bu oran %3-5'e yükselmektedir (49). Yine, total diz protezi sonrası %1-2.5 oranında infeksiyon görülürken, revizyon sonrası bu oran %5.6'ya yükselmektedir (50). *S. aureus* ve *S. epidermidis*, protez infeksiyonlarında en sık etyolojik ajanlardır. *S. epidermidis*'in protez kolonizasyonundaki majör mekanizma, polisakkarid yapıdaki biyofilm üretimidir. *S. aureus* için daha çok bildirilen, spesifik karakterde matriks proteinlerine bağlanma yeteneğidir. Konak matriks proteinlerine bağlanmada aracılık eden ve "MSCRAMM (mikrobiyal yüzey componentini tanıyan adeziv matriks molekülleri)" (17) olarak da adlandırılan adezinler; fibronektin, fibrinojen, elastin, osteopontin ve kolajene bağlanırlar (51-55). Ortopedik implantlar, kolajenle kolayca kaplanabilirler ve böylece "cna (kolajen adezin gen)" pozitif stafilokok suşlarıyla adezyona eğilimlidirler. Montanaro ve arkadaşları (56), ortopedik protez infeksiyonlarından elde ettikleri 35 *S. aureus* suşunda polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile "cna" varlığını ve "slime" pozitifliği ile ilişkisini çalışmışlar ve "slime"-pozitif suşların, ağırlıklı olarak, kolajene bağlı "cna-pozitif" suşlar olduğunu saptamışlardır.

**2. Santral Venöz Kateterlerde Biyofilm:** Biyofilm oluşmadan önce, santral venöz kateterlerin hemen hepsi, biyofilm yapan bakteri ile kolonizedir. Taramalı ve transmisyon elektron mikroskobu, hemen hemen tüm santral venöz kateterlerin biyofilm matriksi içine gömülü mikroorganizmalar ile sarılı olduğunu göstermiştir (57). Kateter biyofilminin sıklıkla izole edilen mikroorganizmalar; *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Candida albicans*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *E. faecalis*'dir (57,58).

Bu mikroorganizmalar; hastanın deri florasından, sağlık personelinin ekzojen mikroflorasından veya kontamine infüzyon sıvısından kaynaklanır. Bu mikroorganizmalar, kateter dışındaki deriden migrasyonla, eksternal olarak veya kateter ağzı ya da porttan, internal olarak katetere ulaşırlar. Bu cisimlere kolonizasyon 24 saat içinde, hızla ortaya çıkar. Rad ve arkadaşları (57), santral venöz kateterlerde biyofilm formasyonunun her yanı kapladığını, ancak biyofilm formasyonunun büyüklük ve yerleşiminin, kateterizasyon süresine bağlı olduğunu bulmuşlardır; kısa süreli kateterler (<10 gün)



dış yüzde biyofilm formasyonuna sahipken, uzun süreli kateterler (30 gün) kateter iç yüzünde daha çok biyofilm formasyonuna sahiptirler.

Santral venöz kateterden verilen sıvıların içeriği de mikrobiyal üremeyi etkileyebilir. Gram-pozitif organizmalar (*S. epidermidis*, *S. aureus*) intravenöz sıvılarda iyi büyüyemez; buna karşılık suda yaşayan Gram-negatif organizmalar (*P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. ve *Pantoea* spp.) güçlü bir şekilde çoğalırlar (59-61).

*Candida* türleri de intravasküler kateterlerde biyofilm oluşturur. Ancak bakteriyel biyofilmler gibi henüz çok araştırılmamıştır. *C. albicans* tarafından oluşturulan biyofilm, yabancı cisim yüzeyine yapışır yapışmaz oluşur. İlk oluşan bazal tabaka, biyofilmin gelişiminde önemli rol oynar. Bu biyofilm içinde sıklıkla bakteriler de bulunur. Bu biyofilmlerin, bakteriyel olanlar gibi, içinde barındırdıkları mikroorganizmalar antimikrobiallere dirençlidir ve konak savunma sisteminden korunurlar. *C. albicans*'ın yanı sıra, benzer özelliklerdeki biyofilm *Candida dubliniensis*'de de saptanmıştır.

Bu cisimlerdeki biyofilm formasyonunu kontrol eden ve çeşitli antimikrobiyal tedavi tiplerinin etkisini inceleyen birçok çalışma vardır. Freeman ve Gould (62), sol atriyal kateterlerde dekstroz-heparin yıkamasına, sodyum metabisülfite eklenmesinin mikrobiyal kolonizasyonu elimine ettiğini bulmuşlardır. Darouiche ve arkadaşları (63), minosiklin ve rifampisin emdirilmiş kateterlerde, klorheksidin ve gümüş sülfadiazin emdirilmiş kateterlerden daha az kolonizasyon olduğunu saptamışlardır. Maki (64), santral venöz kateterler üzerinde, biyofilm oluşumunun kontrol edilmesini önlemek için, birkaç yol önermektedir: takma sırasında aseptik tekniklerin kullanılması, topikal antibiyotiklerin kullanılması, kateterizasyon süresinin azaltılması, intravenöz sıvı için filtre kullanılması, katetere yapışan mikroorganizmaların geri dönüşünü önlemek için mekanik bariyer oluşturulması, antimikrobiyal bir ajanla kateterin iç lümeninin kaplanması ve kontamine kateterin çıkarılması.

**3. Mekanik Kalp Kapaklarında Biyofilm:** Mikroorganizmalar, mekanik kalp kapaklarının komponentlerine ve kalbi çevreleyen dokuya bağlanır ve biyofilm oluşturarak protez kapak endokarditi olarak bilinen duruma yol açarlar. Bu durumdan sorumlu primer organizmalar; *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp., Gram-negatif basiller, difteroidler, enterokoklar ve *Candida* spp.'dir. Bu mikroorganizmalar deriden, santral venöz kateterler gibi diğer yabancı cisimlerden veya dental işlemlerden kaynaklanabilir.

Mekanik kalp kapağı implantasyonu doku hasarına neden olur ve dolaşımdaki trombosit ve fibrinler, kapağın bağlandığı yere birikme eğilimindedir. Mikroorganizmalar da bu lokalizasyona kolonize olmaya artmış eğilim gösterirler. Bunun sonucunda, biyofilmler kapağın kendisinden çok, protezi çevreleyen dokuda veya protez sütürleri çevresindeki dokuda gelişir (65,66). Diğer yabancı cisimlerde olduğu gibi, çok az hastada tek başına antibiyotik tedavisi biyofilm infeksiyonlarında kür sağlayabilir.

**4. Üriner Sondalarda Biyofilm:** Üriner sondalar, yerleştirildikleri zaman iç ve dış yüzeylerinde biyofilm oluşumuna olanak sağlayan, tübüler lateks veya silikon araçlardır. Hem dış hem de iç yüzeylerinde biyofilm oluşabilir. Mikroorganizmalar sıklıkla cismi kontamine eder ve *S. epidermi-*

*dis*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve diğer Gram-negatif organizmalarla biyofilm gelişir. Üriner kateterizasyonun uzaması durumunda, bu mikroorganizmaların biyofilm geliştirme eğilimleri artar ve üriner sistem infeksiyonu ile sonuçlanır. Örneğin, kısa süreli (7 gün) üriner kateterizasyon uygulanan hastaların %10-50'si infekte olurken, uzun süreli (> 28 gün) üriner kateterizasyon uygulanan hastaların hemen hemen tamamı infekte olur. Üriner sonda biyofilmleri başlangıçta tek türden oluşurken, uzamış kateterizasyon kaçınılmaz olarak çok tür içeren biyofilmlere neden olur. Brisset ve arkadaşları (67), kateter materyaline adezyonun, hem mikroorganizmanın hem de yüzeyin hidrofobitesine bağlı olduğunu saptamışlardır. Sonda, organizmanın bağlanabileceği hidrofobik ve hidrofilik alanlar gösterir. İki değerli katyonlar (kalsiyum ve magnezyum) ve üriner pH bakteriyel yapışmanın artmasına yol açar. Bu kolonizasyon silikon, poliüretan, hidrojel kaplı materyaller gibi tek bir materyal ile engellenemez.

Bundan başka, belli bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen üreaz, hastanın idrarındaki üreyi amonyum hidrokside hidrolize eder. İdrar-biyofilm arasındaki yüzeyde artan pH, strüvit ve hidroksiapatit gibi minerallerin presipitasyonuna yol açar. Bu mineral içeren biyofilmler, kabuklanmaya yol açar ve sondanın iç kısmı tamamen tıkanır. Bakteriler, 1-3 gün içinde içten yukarı, mesaneye doğru tırmanırlar.

Gram-negatifler pozitiflere göre daha az yapışır. *Proteus stuartii*, genellikle uzun süreli kalan üriner sondalara sıkı bağlanır. Bu bağlanma tip 3 fimbriya ile olur. *E. coli*'nin üriner sondalara bağlanması daha az sıklıkta olur. Ürolojik yabancı cisimlere *E. coli*'nin bağlanması, sondanın konulduğu yere ve belli bakteri suşlarının lokal miktarına göre değişir. Tip 1 fimbriyası olan *E. coli* suşları, daha sık olarak mesaneyi infekte ederken; P fimbriyası olanlar böbreği infekte eder (68).

Üriner sondalarda biyofilm oluşumunun engellenmesi için, birkaç önlem öne sürülmüştür: antimikrobiyal kremler, yağlar, mesane irigasyonu; toplayıcı torbaya antimikrobiyallerin verilmesi, antimikrobiyal emdirilmiş sondalar ve sistemik antibiyotik kullanımı gibi (69). Ancak bunların çoğu etkisiz kalmıştır. Buna karşılık, gümüş kaplı sondalar, bakteriyüriyi 4 güne kadar geciktirmiştir. Bazı Gram-negatif bakterilerin kolonizasyonu mandelik asit + laktik asid ile azaltılmıştır (70). Yine, siprofloksasin içeren lipozomlar ile kaplanan, hidrojel içeren Foley sondalarında bakteriüri gelişmesi iki kat daha az bulunmuştur (71).

**5. Kontakt Lensler:** Kontakt lensler; materyalin yapısına, tasarımına, dokusuna ve kullanım süresine göre sınıflandırılırlar. Yumuşak kontakt lensler, hem hidrojel hem de silikon içerirler ve lens materyali boyunca oksijen difüzyonuna izin vererek, korneaya oksijen sağlarlar. Sert kontakt lensler, polimetilmetakrilattan oluşurlar ve titreşim hareketi ile, oksijen içeren gözyaşının lensin altından akışına izin verirler. Bakteriler, her iki tip lense de adere olabilirler (72,73).

Miller ve Ahearn (72), *P. aeruginosa*'nın hidrofilik kontakt lenslere (hidrojeller) başlangıçtaki bağlanmasını incelemişler, aderans oranının su içeriği ve polimer bileşimine bağlı olarak değişiklik gösterdiğini bulmuşlardır. Bağlanmanın derecesi, substratın yapısı, pH, elektrolit konsantrasyonu, polimerlerin iyon yükü ve bakterinin dayanıklılığı gibi çok sa-

yıda faktöre bağlı bulunmuştur. Çalışmanın sonuçları, hidrofobik yüzeylere ve noniyonik polimerlerden oluşan lenslere daha fazla aderans olduğunu göstermiştir.

Kontakt lenslere adere olduğu gösterilen mikroorganizmalar *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Serratia* spp., *E. coli*, *Proteus* spp. ve *Candida* spp.'dir. *P. aeruginosa*'ya bağlı keratit olgularından çıkarılan lenslerde, taramalı elektron mikroskobu ile biyofilm tabakası (geniş ekzopolimer matriks) gösterilmiştir (73).

**6. İntrauterin Araçlar:** Sıklıkla kullanılan intrauterin araçlar iki tiptir: Baryum sülfat emdirilmiş, polietilen gibi emici olmayan materyalden yapılanlar ve bakır ya da progesteron benzeri madde gibi kimyasal aktif bir madde serbestleşenler. İntrauterin araçlar genellikle çıkarılmalarını kolaylaştıran bir kuyruk içerirler. Bu yapı naylon kılıf ile çevrili plastik bir monofilamenttir.

İntrauterin araçların pelvik inflamatuvar hastalığa (PID) yol açtığı gösterilmiştir (74-76). Herhangi bir yakınıması olmayan kadınlardan çıkarılan intrauterin araçlarda da, yoğun *S. epidermidis*, *Enterococcus* spp. ve anaerob laktobasil kontaminasyonu gösterilmiştir (76). Marrie ve Costerton (77) ise, *Lactobacillus plantarum*, *S. epidermidis*, *Corynebacterium* spp., grup B streptokok, *Micrococcus* spp., *C. albicans*, *S. aureus* ve *Enterococcus* spp. izole etmişlerdir. Ek olarak; PID olgularından çıkarılan intrauterin araçlarda, beta-hemolitik streptokoklar, *S. aureus*, *E. coli* ve bazı anaerob bakteriler bulunabilir (76).

İntrauterin araçlardaki biyofilme ait kanıtlar, taramalı elektron mikroskobu ve transmisyon elektron mikroskobu ile (77-79) ve zenginleştirilmiş besiyeri kültürlerinde (76,77,80) gösterilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu kullanılarak Marrie ve Costerton (77), biyofilmde insan lökositleri ve hücre kalıntılarını göstermişlerdir.

İntrauterin araçların kuyruk kısımları, birincil kontaminasyon kaynağıdır. Bir çalışmada, servikste kuyruk uzantısı içermeyen intrauterin araç örneklerinin yaklaşık yarısı steril bulunmuştur. Başka bir çalışma, kuyruğun ağırlıklı olarak vaginal floraya maruz kalan distal parçasının kontamine olduğunu göstermiştir (78).

Yabancı cisim infeksiyonlarında biyofilm oluşumunun önemi, biyofilmin kontrol edilmesi için stratejiler geliştirilmesi gerekliliğini de gündeme getirmiştir. Bu konu ile uğraşan çalışma gruplarının geliştirmeye çalıştıkları stratejiler şu şekilde sıralanabilir:

**Başlangıçta oluşan aderansın engellenmesi:** Biyofilmin ilk aderanstan hemen sonra başlaması bilinen bir gerçektir. Yapılan çalışmalarda, gümüş iyon kaplanması, antibiyotik emdirilmesi ve heparin gibi aderansı engelleyen maddelerin kullanılmasının yabancı cisimler ile mikroorganizma arasındaki ilk yapışmayı geciktirdiği ve bu şekilde biyofilm oluşumunu engellendiği gösterilmiştir (6,81-83).

**Biyofilm oluşumunu azaltmak:** Mekanik güç uygulamanın biyofilm oluşumunu azaltacağı düşünülse de (84), günümüzde "quorum sensing"de sinyal iletiminde rol oynayan moleküllerin (asil homoserin laktin gibi) bloke edilmesinin daha etkin bir strateji gibi düşünülmektedir (6). Yaptığımız bir çalışmada (11), biyofilmin elektrik gücü ve polimerik yapısı göz önünde bulundurularak, karbonhidrat yapılarından siyalik asidin uzaklaştırılmasının, biyofilm oluşumunu azalt-

tığı; daha sonra yapılan bir çalışmada (85) ise biyofilm yapısında siyalik asidin varlığı gösterilmiştir. Bu da, biyofilm yapısındaki karbonhidrat içeriğinde bulunan siyalik asidin, biyofilme karşı geliştirilecek tedavi stratejilerinde önemli bir hedef molekül olabileceğini düşündürmektedir.

**EPS'ye karşı geliştirilecek stratejiler:** EPS, biyofilmin antibiyotik direnci oluşturmada rol oynayan bir molekül olması nedeniyle önemli bir hedeftir. Alginatlar ile yapılan çalışmalarda antibiyotiğin biyofilmi geçişinin EPS üzerinden çalışan mekanizmalar ile kolaylaştırıldığı gösterilmiştir (6).

Sonuç olarak, bakterinin çevreye uyumu ve çevresel faktörlerden kendini koruma refleksi sonucu oluşturduğu "biyofilm", bakteri-yabancı cisim ilişkisinde bakterinin önemli bir virülans faktörü olarak öne çıkmıştır. İlerlemiş tıp teknolojinin bir getirisi olarak, tıpta yoğun olarak uygulanan yabancı cisimlerin uzun süre kullanılabilirliğini sağlamak için, bakterinin biyofilm oluşturmamasını veya oluşmuş biyofilmi yok etme şeklindeki potansiyel tedavi yöntemleri, üzerinde yoğunlukla çalışılması gereken bir konudur.

#### Kaynaklar

1. Costerton JW, Geesey GG and Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am* 1978; 238(1): 86-95
2. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-45
3. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284(5418): 1318-22
4. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(4): 999-1007
5. Zhang LH. Quorum quenching and proactive host defense. *Trends Plant Sci* 2003; 8(5): 238-44
6. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(2):167-93
7. Marshall KC. *Interfaces in Microbial Ecology*. Boston: Harvard University Press, 1976
8. Elder MJ, Stapleton F, Evans E, Dart JK. Biofilm-related infections in ophthalmology. *Eye* 1995; 9(Pt 1): 102-9
9. Carpentier B, Cerf O. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *J Appl Bacteriol* 1993; 75(6): 499-511
10. O'Toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol* 1998; 28(3): 449-61
11. Sakarya S, Oncu S, Ozturk B, Tuncer G, Sari C. Neuraminidase produces dose-dependent decrease of slime production and adherence of slime-forming, coagulase-negative staphylococci. *Arch Med Res* 2004; 35(4): 275-8
12. Stickler DJ, Morris NS, McLean RJ, Fuqua C. Biofilms on indwelling urethral catheters produce quorum-sensing signal molecules in situ and in vitro. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64(9): 3486-90
13. McLean RJ, Whiteley M, Stickler DJ, Fuqua WC. Evidence of autoinducer activity in naturally occurring biofilms. *FEMS Microbiol Lett* 1997; 154(2): 259-63
14. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998; 280(5361): 295-8
15. Allison DG, Ruiz B, SanJose C, Jaspe A, Gilbert P. Extracellular products as mediators of the formation and detachment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms. *FEMS Microbiol Lett* 1998; 167(2): 179-84

16. Dong YH, Zhang LH. Quorum sensing and quorum-quenching enzymes. *J Microbiol* 2005; 43: 101-9
17. Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Hook M. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol* 1994; 48: 585-617
18. Whiteley M, Bangera MG, Bumgarner RE, et al. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature* 2001; 413(6858): 860-4
19. Gilmore KS, Srinivas P, Akins DR, Hatter KL, Gilmore MS. Growth, development, and gene expression in a persistent *Streptococcus gordonii* biofilm. *Infect Immun* 2003; 71(8): 4759-66
20. Svensater G, Welin J, Wilkins JC, Beighton D, Hamilton IR. Protein expression by planktonic and biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett* 2001; 205(1): 139-46
21. Wolz C, Goerke C, Landmann R, Zimmerli W, Fluckiger U. Transcription of clumping factor A in attached and unattached *Staphylococcus aureus* in vitro and during device-related infection. *Infect Immun* 2002; 70(6): 2758-62
22. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54: 49-79
23. Ammendolia MG, Di Rosa R, Montanaro L, Arciola CR, Baldassarri L. Slime production and expression of the slime-associated antigen by staphylococcal clinical isolates. *J Clin Microbiol* 1999; 37(10): 3235-8
24. Jefferson KK, Pier DB, Goldmann DA, Pier GB. The teicoplanin-associated locus regulator (TcaR) and the intercellular adhesin locus regulator (IcaR) are transcriptional inhibitors of the ica locus in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 2004; 186(8): 2449-56
25. An YH, Dickson RB, Doyle RJ. Mechanism of bacterial adhesion and pathogenesis of implant and tissue infection. In: An YH, Freidman RJ, ed. *Handbook of Bacterial Adhesion: Principles, Methods, and Applications*. Totowa, N.J.: Human Press, 2000: 1-27
26. Jucker BA, Harms H, Zehnder AJ. Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to glass and Teflon. *J Bacteriol* 1996; 178(18): 5472-9
27. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol* 1987; 41: 435-64
28. Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J Clin Microbiol* 1999; 37(6): 1771-6
29. Schierholz JM, Beuth J, König D, Nurnberger A, Pulverer G. Antimicrobial substances and effects on sessile bacteria. *Zentralbl Bakteriol* 1999; 289(2): 165-77
30. Farber BF, Kaplan MH, Clogston AG. *Staphylococcus epidermidis* extracted slime inhibits the antimicrobial action of glycopeptide antibiotics. *J Infect Dis* 1990; 161(1): 37-40
31. Gordon CA, Hodges NA, Marriott C. Antibiotic interaction and diffusion through alginate and exopolysaccharide of cystic fibrosis-derived *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 1988; 22(5): 667-74
32. Nickel JC, Ruseska I, Wright JB, Costerton JW. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27(4): 619-24
33. Hoyle BD, Wong CK, Costerton JW. Disparate efficacy of tobramycin on Ca(2+)-, Mg(2+)-, and HEPES-treated *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Can J Microbiol* 1992; 38(11): 1214-8
34. Suci PA, Mittelman MW, Yu FP, Geesey GG. Investigation of ciprofloxacin penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38(9): 2125-33
35. Eng RH, Padberg FT, Smith SM, Tan EN, Cherubin CE. Bactericidal effects of antibiotics on slowly growing and nongrowing bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35(9): 1824-8
36. Anwar H, Strap JL, Costerton JW. Eradication of biofilm cells of *Staphylococcus aureus* with tobramycin and cephalexin. *Can J Microbiol* 1992; 38(7): 618-25
37. Dunne WM, Jr. Buckmire FL. Effects of divalent cations on the synthesis of alginic acid-like exopolysaccharide from mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbios* 1985; 43(174-175): 193-216
38. Holland SP, Mathias RG, Morck DW, Chiu J, Slade SG. Diffuse lamellar keratitis related to endotoxins released from sterilizer reservoir biofilms. *Ophthalmology* 2000; 107(7): 1227-33; discussion 1233-4
39. Rioufol C, Devys C, Meunier G, Perraud M, Goulet D. Quantitative determination of endotoxins released by bacterial biofilms. *J Hosp Infect* 1999; 43(3): 203-9
40. Vincent FC, Tibi AR, Darbord JC. A bacterial biofilm in a hemodialysis system. Assessment of disinfection and crossing of endotoxin. *ASAIO Trans* 1989; 35(3): 310-3
41. Meluleni GJ, Grout M, Evans DJ, Pier GB. Mucoid *Pseudomonas aeruginosa* growing in a biofilm in vitro are killed by opsonic antibodies to the mucoid exopolysaccharide capsule but not by antibodies produced during chronic lung infection in cystic fibrosis patients. *J Immunol* 1995; 155(4): 2029-38
42. Shiau AL, Wu CL. The inhibitory effect of *Staphylococcus epidermidis* slime on the phagocytosis of murine peritoneal macrophages is interferon-independent. *Microbiol Immunol* 1998; 42(1): 33-40
43. Ward KH, Olson ME, Lam K, Costerton JW. Mechanism of persistent infection associated with peritoneal implants. *J Med Microbiol* 1992; 36(6): 406-13
44. Yasuda H, Ajiki Y, Aoyama J, Yokota T. Interaction between human polymorphonuclear leucocytes and bacteria released from in-vitro bacterial biofilm models. *J Med Microbiol* 1994; 41(5): 359-67
45. Costerton JW. Introduction to biofilm. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 11(3-4): 217-21; discussion 237-9
46. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(2): 277-81
47. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(9): 881-90
48. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Meiller TF. Fungal biofilms and drug resistance. *Emerg Infect Dis* 2004; 10(1): 14-9
49. Rajgopal V, NDR. Complications of total hip arthroplasty: prevention and management. In: Berry DJ, Steinmann SP, Tornetta P, Einhorn TA, eds. *Adult Reconstruction*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 95
50. Zarin JS, Noble AR, Fitz W. Complications after total knee arthroplasty. In: Berry DJ, Steinmann SP, Tornetta P, Einhorn TA, eds. *Adult Reconstruction*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 177
51. Gillaspay AF, Patti JM, Pratt FL Jr, Iandolo JJ, Smeltzer MS. The *Staphylococcus aureus* collagen adhesin-encoding gene (cna) is within a discrete genetic element. *Gene* 1997; 196(1-2): 239-48
52. Patti JM, Bremell T, Krajewska-Pietrasik D, et al. The *Staphylococcus aureus* collagen adhesin is a virulence determinant in experimental septic arthritis. *Infect Immun* 1994; 62(1): 152-61
53. Patti JM, Jonsson H, Guss B, et al. Molecular characterization and expression of a gene encoding a *Staphylococcus aureus* collagen adhesin. *J Biol Chem* 1992; 267(7): 4766-72
54. Switalski LM, Patti JM, Butcher W, Gristina AG, Speziale P, Hook M. A collagen receptor on *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients with septic arthritis mediates adhesion to cartilage. *Mol Microbiol* 1993; 7(1): 99-107
55. Switalski LM, Speziale P, Hook M. Isolation and characterization of a putative collagen receptor from *Staphylococcus aureus* strain Cowan 1. *J Biol Chem* 1989; 264(35): 21080-6
56. Montanaro L, Arciola CR, Baldassarri L, Borsetti E. Presence and expression of collagen adhesin gene (cna) and slime production in *Staphylococcus aureus* strains from orthopaedic prosthesis infections. *Biomaterials* 1999; 20(20): 1945-9
57. Raad II, Sabbagh MF, Rand KH, Sherertz RJ. Quantitative tip culture methods and the diagnosis of central venous catheter-

- related infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15(4): 13-20
58. Elliott TS, Moss HA, Tebbs SE, *et al.* Novel approach to investigate a source of microbial contamination of central venous catheters. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16(3): 210-3
  59. Anderson RL, Highsmith AK, Holland BW. Comparison of the standard pour plate procedure and the ATP and Limulus amoebocyte lysate procedures for the detection of microbial contamination in intravenous fluids. *J Clin Microbiol* 1986; 23(3): 465-8
  60. Failla ML, Benedict CD, Weinberg ED. Bacterial and fungal growth in total parenteral nutrition solutions. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1975; 41(3): 319-28
  61. Maki DG, Martin WT. Nationwide epidemic of septicemia caused by contaminated infusion products. IV. Growth of microbial pathogens in fluids for intravenous infusions. *J Infect Dis* 1975; 131(3): 267-72
  62. Freeman R, Gould FK. Infection and intravenous catheters. *J Antimicrob Chemother* 1985; 15(2): 258
  63. Darouiche RO, Raad II, Heard SO, *et al.* A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. Catheter Study Group. *N Engl J Med* 1999; 340(1): 1-8
  64. Maki DG. Infections caused by intravascular devices used for infusion therapy: pathogenesis, prevention and management. In: Bisno AL, Waldvogel FA, eds. *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*. 2nd ed. Washington: American Society for Microbiology, 1994: 155-212
  65. Carrel T, Nguyen T, Kipfer B, Althaus U. Definitive cure of recurrent prosthetic endocarditis using silver-coated St. Jude Medical heart valves: a preliminary case report. *J Heart Valve Dis* 1998; 7(5): 531-3
  66. Illingworth BL, Tweden K, Schroeder RF, Cameron JD. In vivo efficacy of silver-coated (Silzone) infection-resistant polyester fabric against a biofilm-producing bacteria, *Staphylococcus epidermidis*. *J Heart Valve Dis* 1998; 7(5): 524-30
  67. Brisset L, Vernet-Garnier V, Carquin J, Burde A, Flament JB, Choisy C. In vivo and in vitro analysis of the ability of urinary catheter to microbial colonization. *Pathol Biol (Paris)* 1996; 44(5): 397-404
  68. Aufwerber E, Ringertz S, Ransjo U. Routine semiquantitative cultures and central venous catheter-related bacteremia. *APMIS* 1991; 99(7): 627-30
  69. Kaye D. Infections associated with foreign bodies in the urinary tract. In: Bisno AL, Waldvogel FA, eds. *Infections Associated with Indwelling Medical Devices*. 2nd ed. Washington: American Society for Microbiology, 1994: 291-307
  70. Stickler D, Hewett P. Activity of antiseptics against biofilms of mixed bacterial species growing on silicone surfaces. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991; 10(5): 416-21
  71. Pugach JL, DiTizio V, Mittelman MW, Bruce AW, DiCosmo F, Khoury AE. Antibiotic hydrogel coated Foley catheters for prevention of urinary tract infection in a rabbit model. *J Urol* 1999; 162(3 Pt 1): 883-7
  72. Miller MJ, Ahearn DG. Adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to hydrophilic contact lenses and other substrata. *J Clin Microbiol* 1987; 25(8): 1392-7
  73. Stapleton F, Dart J. *Pseudomonas* keratitis associated with biofilm formation on a disposable soft contact lens. *Br J Ophthalmol* 1995; 79(9): 864-5
  74. Costerton JW, Ellis B, Lam K, Johnson F, Khoury AE. Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38(12): 2803-9
  75. Lewis R. A review of bacteriological culture of removed intrauterine contraceptive devices. *Br J Fam Plann* 1998; 24(3): 95-7
  76. Wolf AS, Krieger D. Bacterial colonization of intrauterine devices (IUDs). *Arch Gynecol* 1986; 239(1): 31-7
  77. Marrie TJ, Costerton JW. A scanning and transmission electron microscopic study of the surfaces of intrauterine contraceptive devices. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 146(4): 384-94
  78. Bank HL, Williamson HO. Scanning electron microscopy of Dalkon Shield tails. *Fertil Steril* 1983; 40(3): 334-9
  79. Jacques M, Olson ME, Costerton JW. Microbial colonization of tailed and tailless intrauterine contraceptive devices: influence of the mode of insertion in the rabbit. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154(3): 648-55
  80. Tatum HJ, Schmidt FH, Phillips D, McCarty M, O'Leary WM. The Dalkon Shield controversy. Structural and bacteriological studies of IUD tails. *JAMA* 1975; 231(7): 711-7
  81. Chilukuri DM, Shah JC. Local delivery of vancomycin for the prophylaxis of prosthetic device-related infections. *Pharm Res* 2005; 22(4): 563-72
  82. Morris NS, Stickler DJ. Encrustation of indwelling urethral catheters by *Proteus mirabilis* biofilms growing in human urine. *J Hosp Infect* 1998; 39(3): 227-34
  83. Tenke P, Kovacs B, Jackel M, Nagy E. The role of biofilm infection in urology. *World J Urol* 2006; 24(1): 13-20
  84. Brading MG, Jass J, Lappin-Scott HM. Dynamics of bacterial biofilm formation. In: Lappin-Scott HM, Costerton JW, eds. *Microbial Biofilms*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995: 46-63
  85. Jurcisek J, Greiner L, Watanabe H, Zaleski A, Apicella MA, Bakaletz LO. Role of sialic acid and complex carbohydrate biosynthesis in biofilm formation by nontypeable *Haemophilus influenzae* in the chinchilla middle ear. *Infect Immun* 2005; 73(6): 3210-8