

Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlara yaklaşım

TANI

Prof Dr Ayşe Kalkancı

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Biyofilm nedir & Önemi nedir



Anket

1223 sağlık çalışanı

Çoğu biyofilm konusunda bilgi sahibi

Bilinmeyenler

- Kronik yaralarda biyofilm oluşumunun önemi
- Biyofilm tanısı
- Biyofilm tedavisinde antimikrobiyaller
- Yara debridmanı ve yara örtüleri



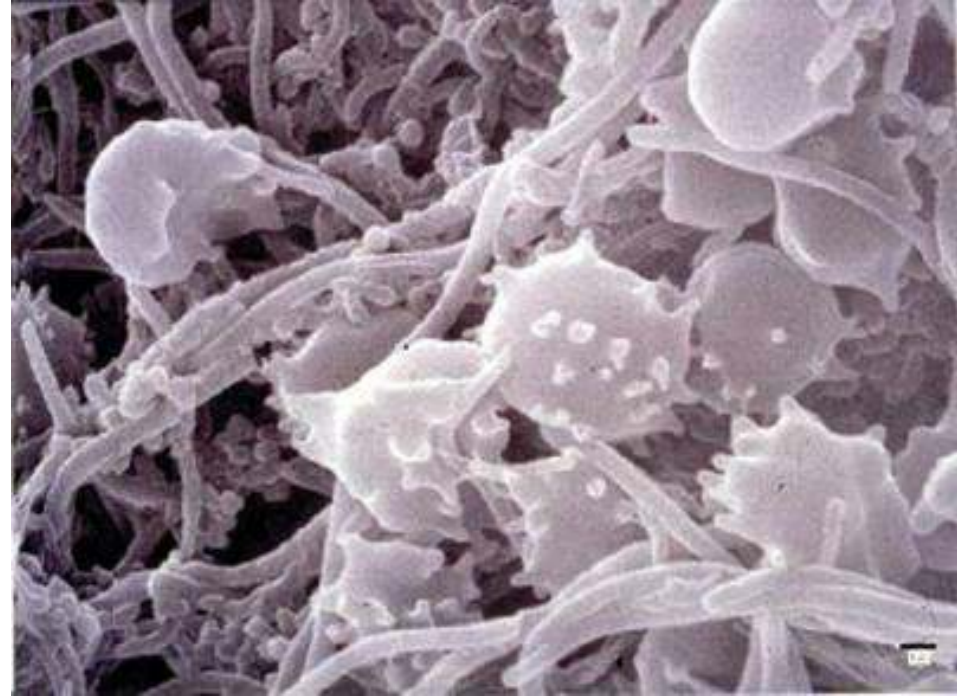
Sunum planı

- Biyofilm nedir, neden önemlidir ?
- Biyofilm nasıl oluşur ?
- Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların tanısı
 - Klasik tanı
 - Güncel yaklaşımlar
 - Gelecek

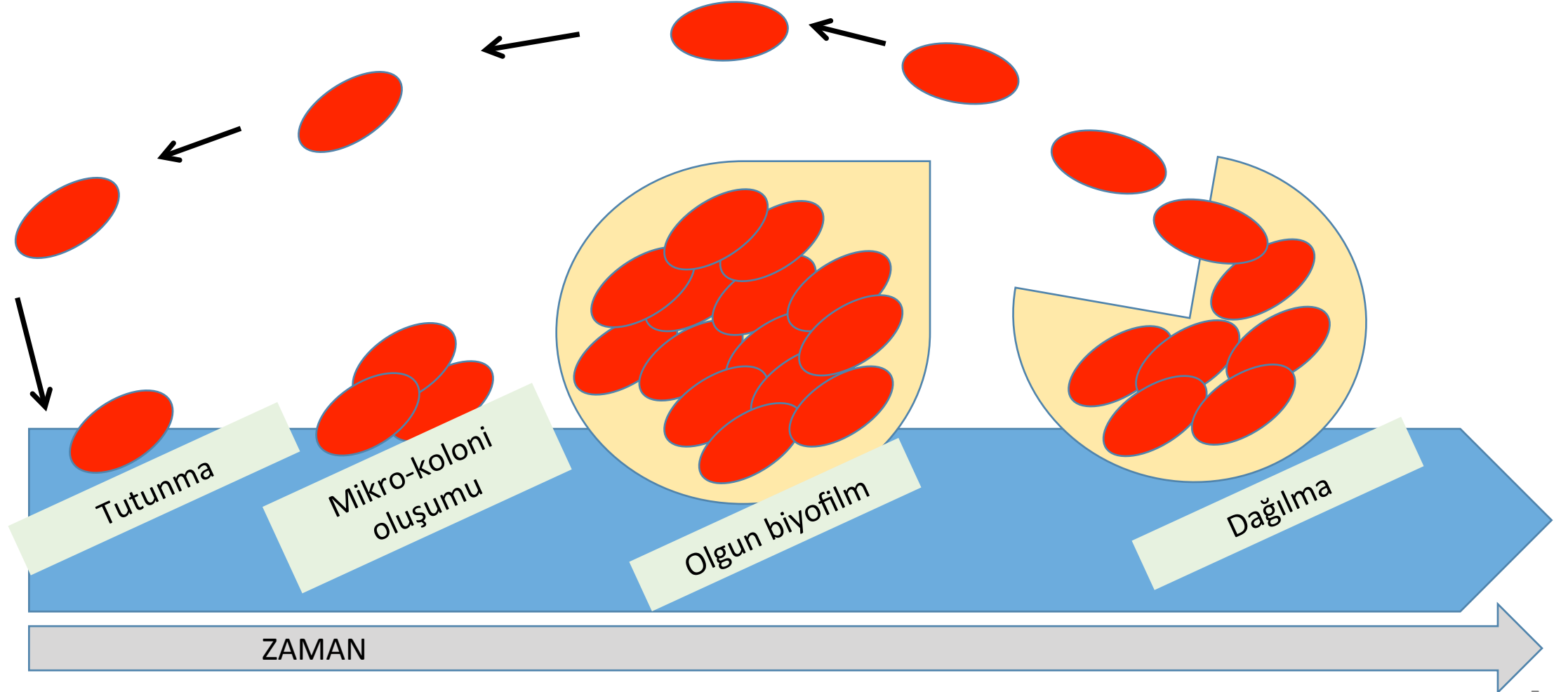
Biyofilm nedir, neden önemlidir ?

- Mikroorganizmaların tutundukları yüzeyde bir topluluk oluşturmaları ve hücre dışı polimerler tarafından kaplanan bir kütle haline gelmelerine biyofilm denir.

- Yüzeyde koloni oluşur
- Enfeksiyon gelişimi hızlanır
- İmmün sistemden kaçır
- Antimikrobiyallere dirençlidir



Biyofilm oluşumunun basamakları



Biyofilm içeriği

- Polisakkaritler
- Ekzopolisakkaritler
- Poli-gama glutamat
- Pili, fimbria gibi yüzey proteinleri
- Lektin bağlayan proteinler
- Hücre dışı DNA
- N-asetil glukozamin polimerleri
- Baps (Biofilm ile ilişkili proteinler)

İÇERİK	MİKTAR
Mikroorganizma	% 2-5
DNA ve RNA	% 1-2
Polisakkaritler	% 1-2
Proteinler	% 1-2
Su	% 95-97

Hücre dışı matriks içeriği

Pseudomonas aeruginosa

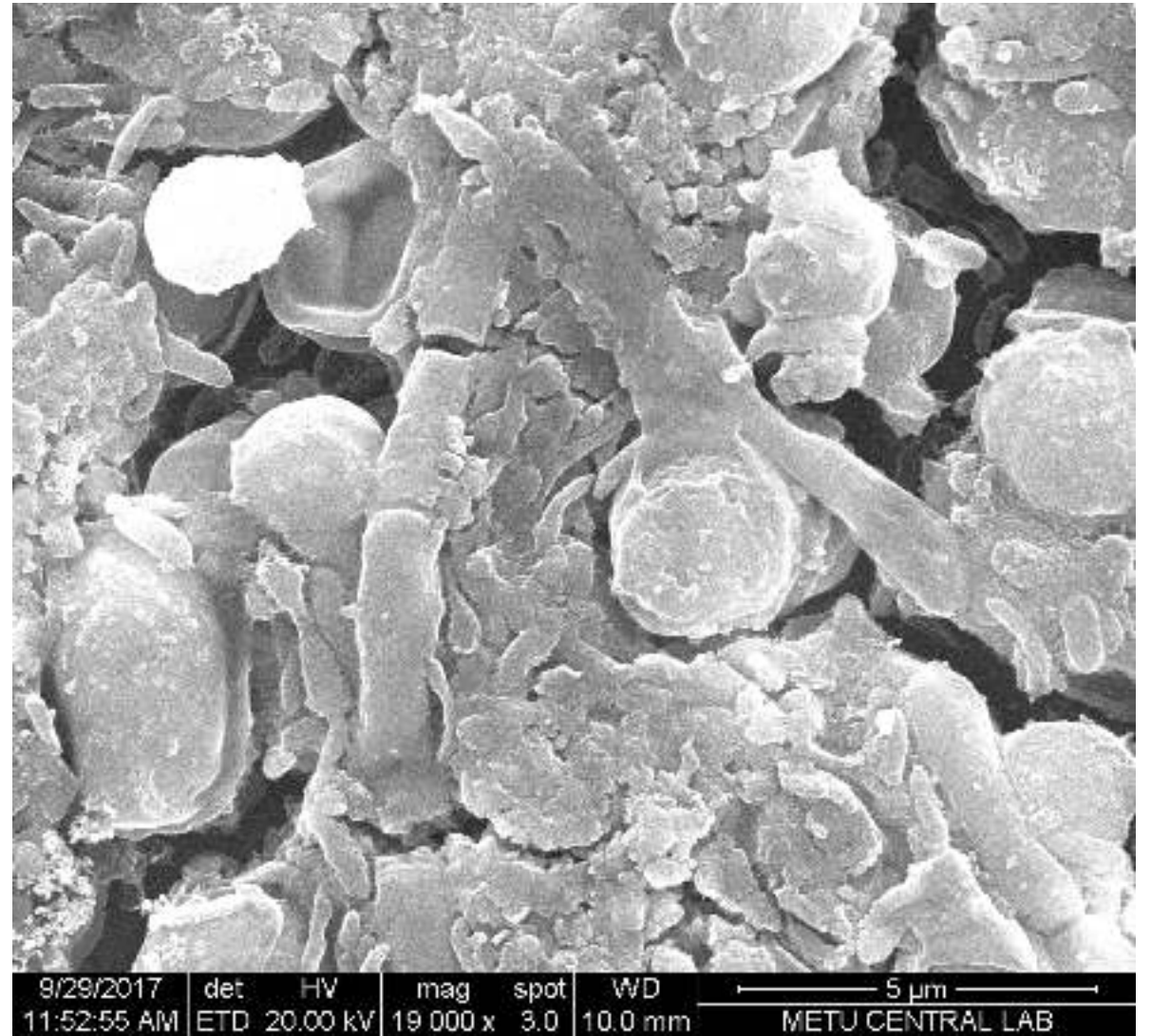
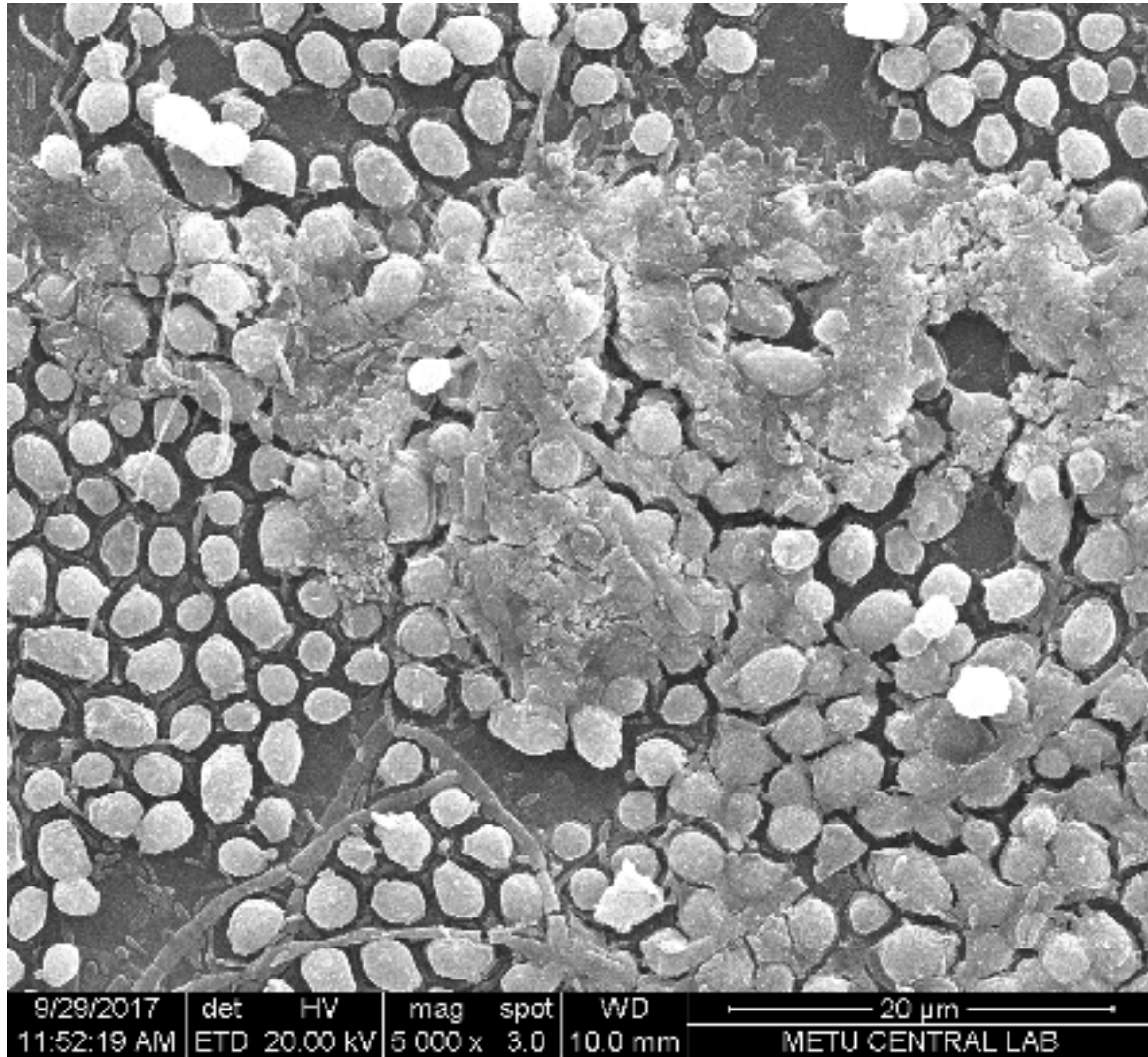
Ekzopolisakkarit
(Alginat, Pel, Psl)
Yüzey proteinleri
(Tip IV pili, CupA fimbria,
lektin bağlayan proteinler
gibi)
Hücre dışı DNA

Bacillus subtilis

Polisakkarit
(Ekzopolisakkarit ve poli-
gama-glutamat)
Hücre dışı proteinler
(TasA, pili, Fimbria)

Staphylococcus aureus

N-asetil-glukozamin
polimeri
Adeziv proteinler
(Baps=Biofilm associated
proteins)
Hücre dışı DNA



Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlar

- Araç ilişkili enfeksiyonlar
 - Kontak lens
 - Santral venöz kateter
 - Kalp kapakları
 - Periton diyaliz kateteri
 - Protez eklemler
 - Kalp pilleri
 - Üriner kateterler
 - Ses protezleri
 - Rahim içi araç

Journal of the Chinese Medical Association 81 (2018) 7–11

Review Article

Bacterial biofilm and associated infections

Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlar

- Araç ilişkisiz enfeksiyonlar
 - Periyodontit
 - Osteomyelit
 - Yara ve kronik deri enfeksiyonları
 - Vajen enfeksiyonları
 - Sinüzit
 - Orta kulak enfeksiyonları

Journal of the Chinese Medical Association 81 (2018) 7–11

Review Article

Bacterial biofilm and associated infections

YARA & BİYOFİLM

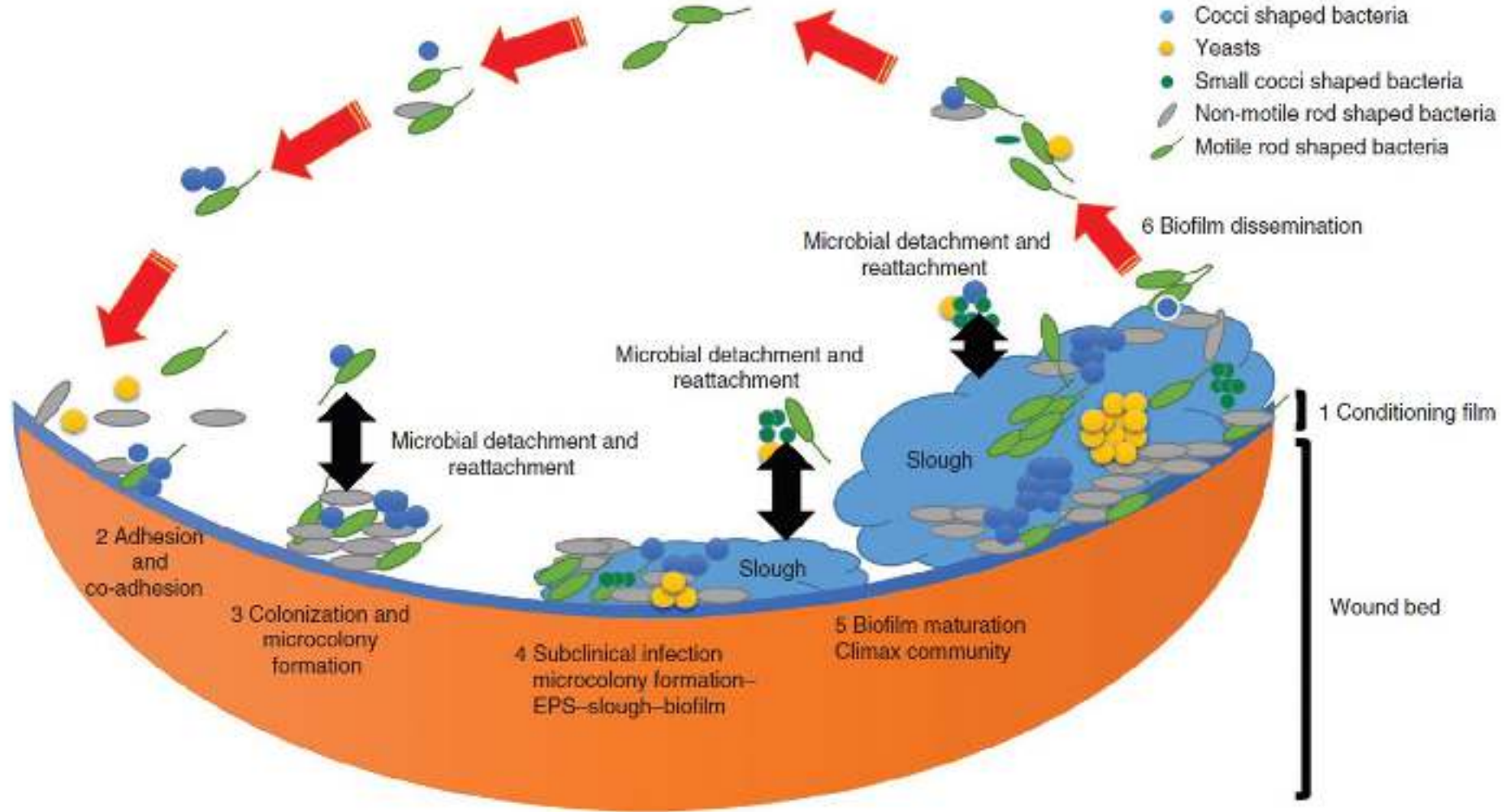


Fig. 1 Stages in the development of a mature biofilm in the wound bed. EPS, extracellular polymeric substance

Biyofilm ilişkili enfeksiyonlardan izole edilen mikroorganizmalar

- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Enterococcus faecium*
- *Klebsiella pneumonia*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Serratia marcescens*
- *Escherichia coli*
- *Proteus mirabilis*
- *Enterobacter cloacae*
- *Streptococcus mutans*
- *Streptococcus sanguinis*
- *Streptococcus mitis*
- *Actinomyces viscosus*
- *Prevotella intermedia*
- *Porphyromonas gingivalis*
- *Streptococcus pyogenes*
- *Candida albicans*
- *Candida parapsilosis*

Tanı

- Enfeksiyon etkeni mikroorganizmanın ayrılması ve biyofilm oluşturmada sorumlu yapıların araştırılması
 - Klasik tanı
 - Güncel yaklaşımlar
 - Gelecek
- Biyofilm ilişkili enfeksiyonun bulunduğu yerde tanımlanması
 - Klasik tanı
 - Güncel yaklaşımlar
 - Gelecek

Tanı

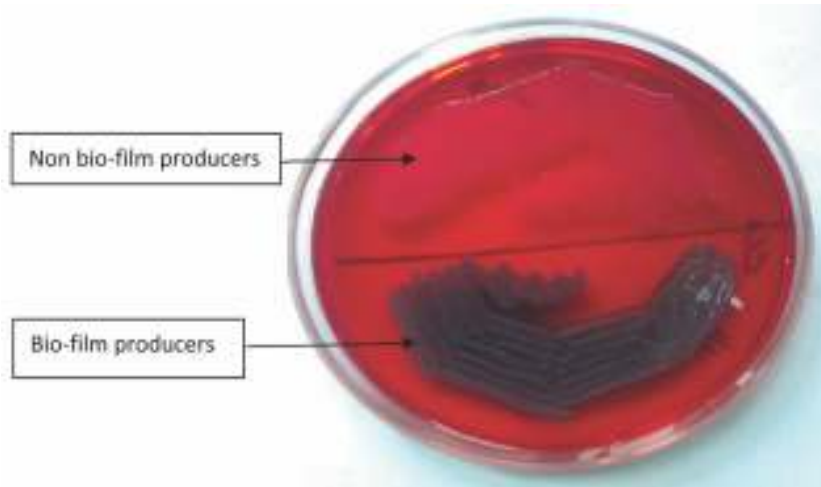
- Enfeksiyon etkeni mikroorganizmada biyofilm oluşturmada sorumlu «slime» faktör bakılması
 - Klasik tanı
 - Güncel yaklaşımlar
 - Gelecek

Biyofilm tanısı

- Kültür temelli yöntemler
 - Klasik tanımlama
 - MALDI-TOF tanımlama
- Biyofilmin görüntülenmesine dayalı yöntemler
- Moleküler yöntemler

New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci

D. J. FREEMAN, U. R. FALKNER, U. T. KEANE *Department of Clinical Microbiology, St Patrick's Day's Laboratory, St James's Hospital, Dublin, Eire*



Kongo kırmızısı agarda koloni rengine göre değerlendirme yöntemi

Phenotypic Variation of *Staphylococcus epidermidis* Slime Production In Vitro and In Vivo

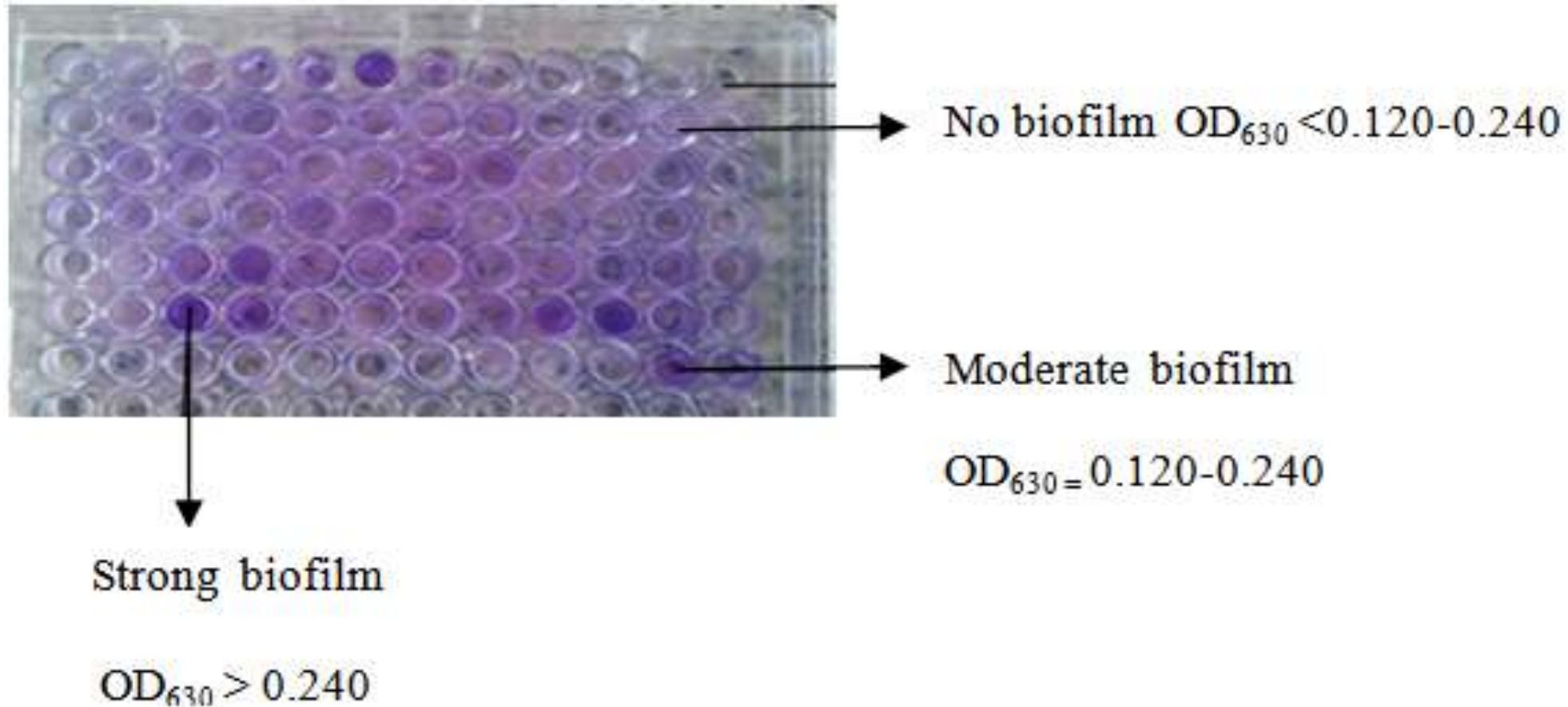
GORDON D. CHRISTENSEN,^{1,2,3*} LARRY M. BADDOUR,² AND W. ANDREW SIMPSON^{1,2,3}

Veterans Administration Medical Center, Memphis, Tennessee 38104,¹ and the Departments of Medicine² and Microbiology and Immunology,³ The University of Tennessee at Memphis, Memphis, Tennessee 38163

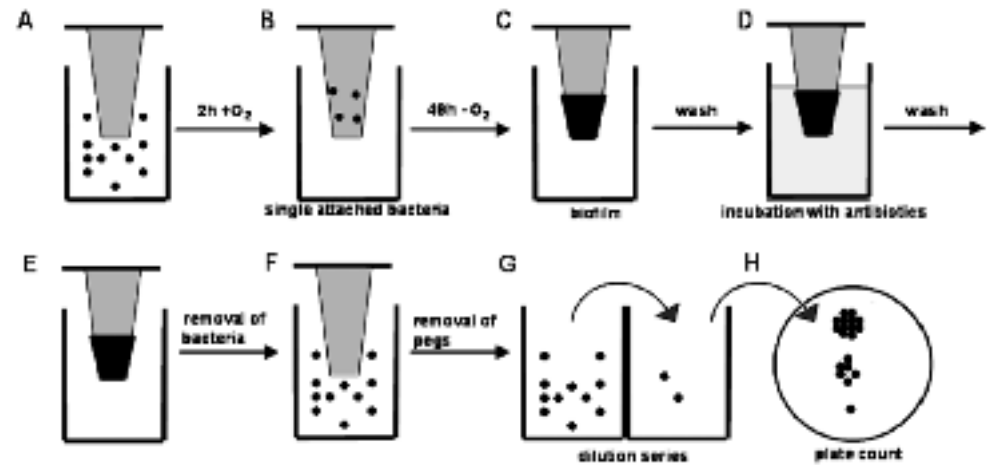
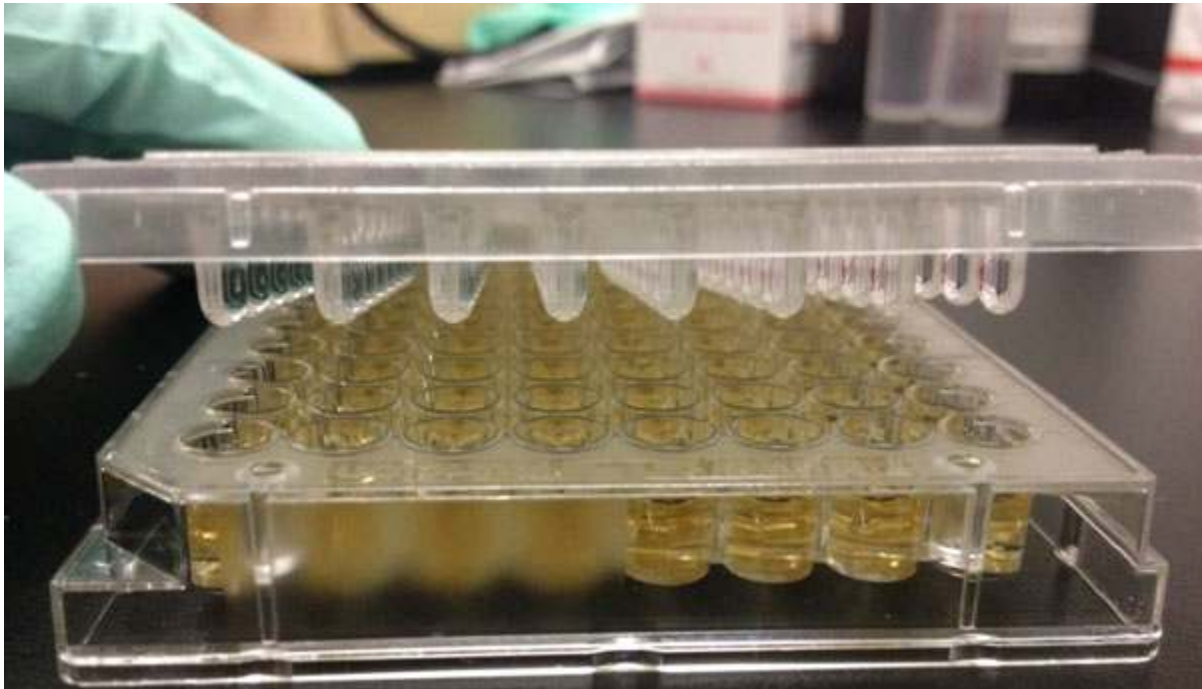
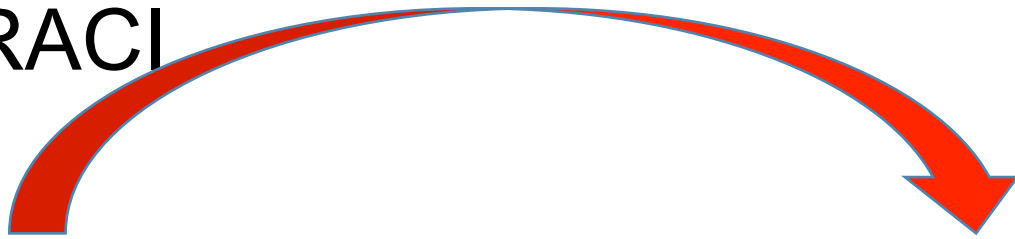


Christensen tüp adezyon yöntemi

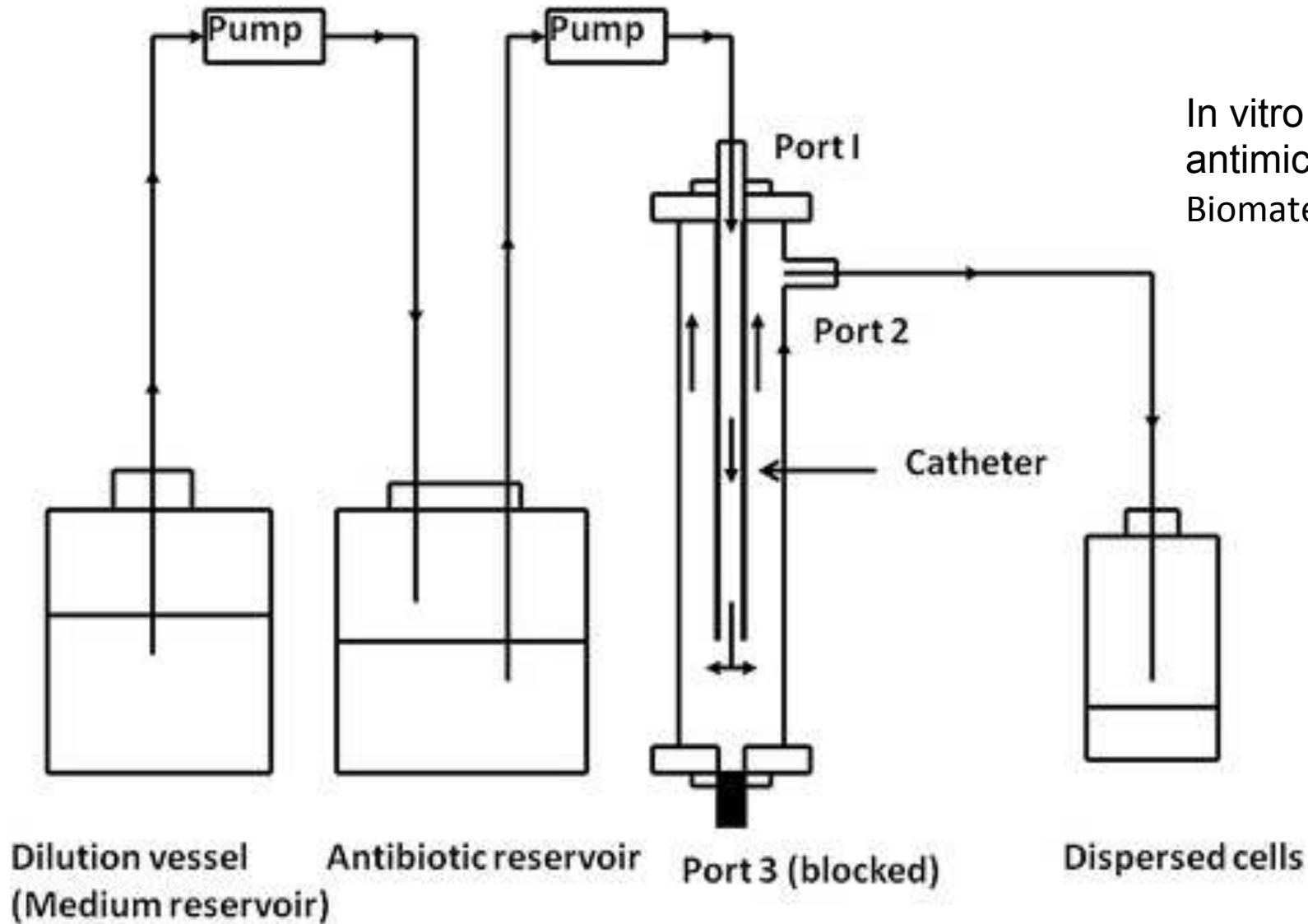
Biyofilm varlığının mikropalak üzerinde gösterilmesi



“CALGARY” ARACI



Biyofilm simülasyonu – Biyofilm perfüzyon modeli

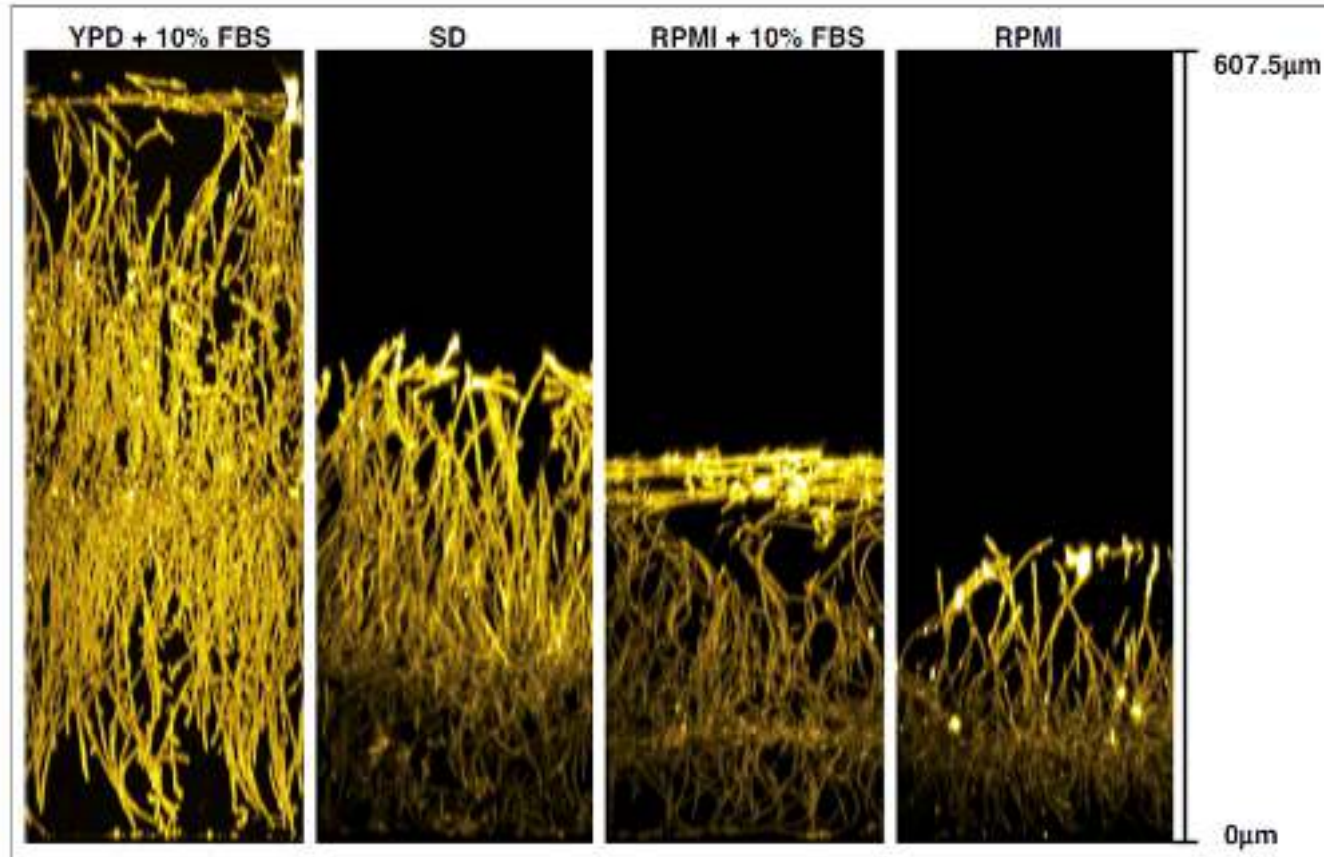


In vitro methods for the evaluation of antimicrobial surface designs. Acta Biomaterialia 2018

Microscopy of fungal biofilms

Katherine Lagree¹, Jigar V Desai², Jonathan S Finkel³ and Frederick Lanni¹

Current Opinion in Microbiology 2018, 43:100–107



Güncel yaklaşımlar



Original Article

Explorative gene analysis of antibiotic tolerance-related genes in adherent and biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa*

Keiji Murakami ^{a,*}, Tsuneko Ono ^b, Yasuki Noma ^b, Issei Minase ^b, Takashi Amoh ^a, Yasuhiko Irie ^c, Katsuhiko Hirota ^a, Yoichiro Miyake ^a

^a Department of Oral Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, Johriana University Graduate School, 3-28-15 Kuramoto-cho, Johriana 770-8504, Japan

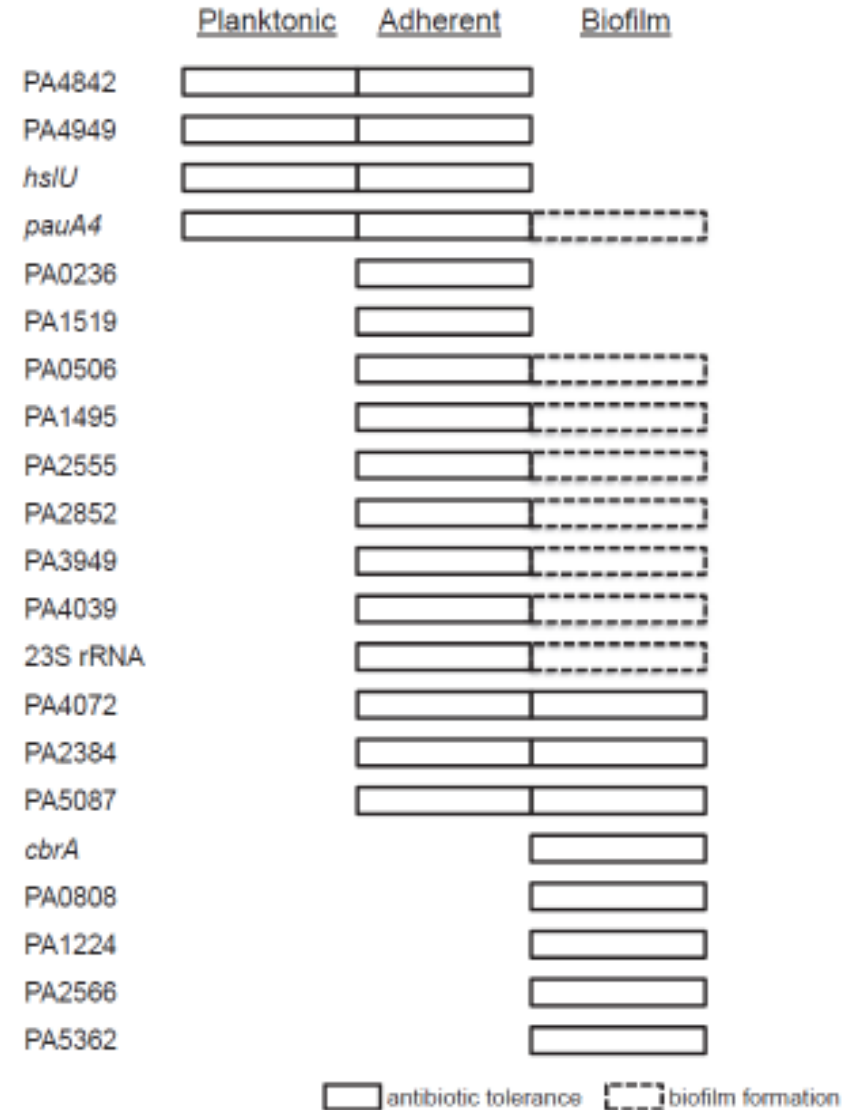
^b Department of Molecular Microbiology, Institute of Health Sciences, Johriana University Graduate School, 3-28-15 Kuramoto-cho, Johriana 770-8504, Japan

^c Department of Biology, University of Dayton, Dayton, OH, USA



Biyofilm ile ilişkili genlerin ifadelenmesinin kantitatif moleküler yöntemler ile RNA üzerinden gösterilmesi

K. Murakami et al. / J Infect Chemother 23 (2017) 271–277



Adezyon genlerinin moleküler yöntemler ile incelenmesi

- Koagülaz negatif *Staphylococcus* (KNS)
 - Intercellular adhesion (ica, ICA-ABCD)
- *Candida* cinsi
 - ALS, HWP
- “*Quorum sensing*” ile ilişkili genler (Bakteri ve mantarlar)

Microbiol 2018, Int J Med Microbiol 2014, Microbiol Res 2009, Microbiol Res 2018.



Güncel yaklaşımlar

Understanding the fundamental mechanisms of biofilms development and dispersal: BIAM (Biofilm Intensity and Architecture Measurement), a new tool for studying biofilms as a function of their architecture and fluorescence intensity



Marine Baudin^{a,b,c,*}, Bertrand Cinquin^a, Bianca Schavi^b, Dominique Parsau^b, Filipa Lopes^b

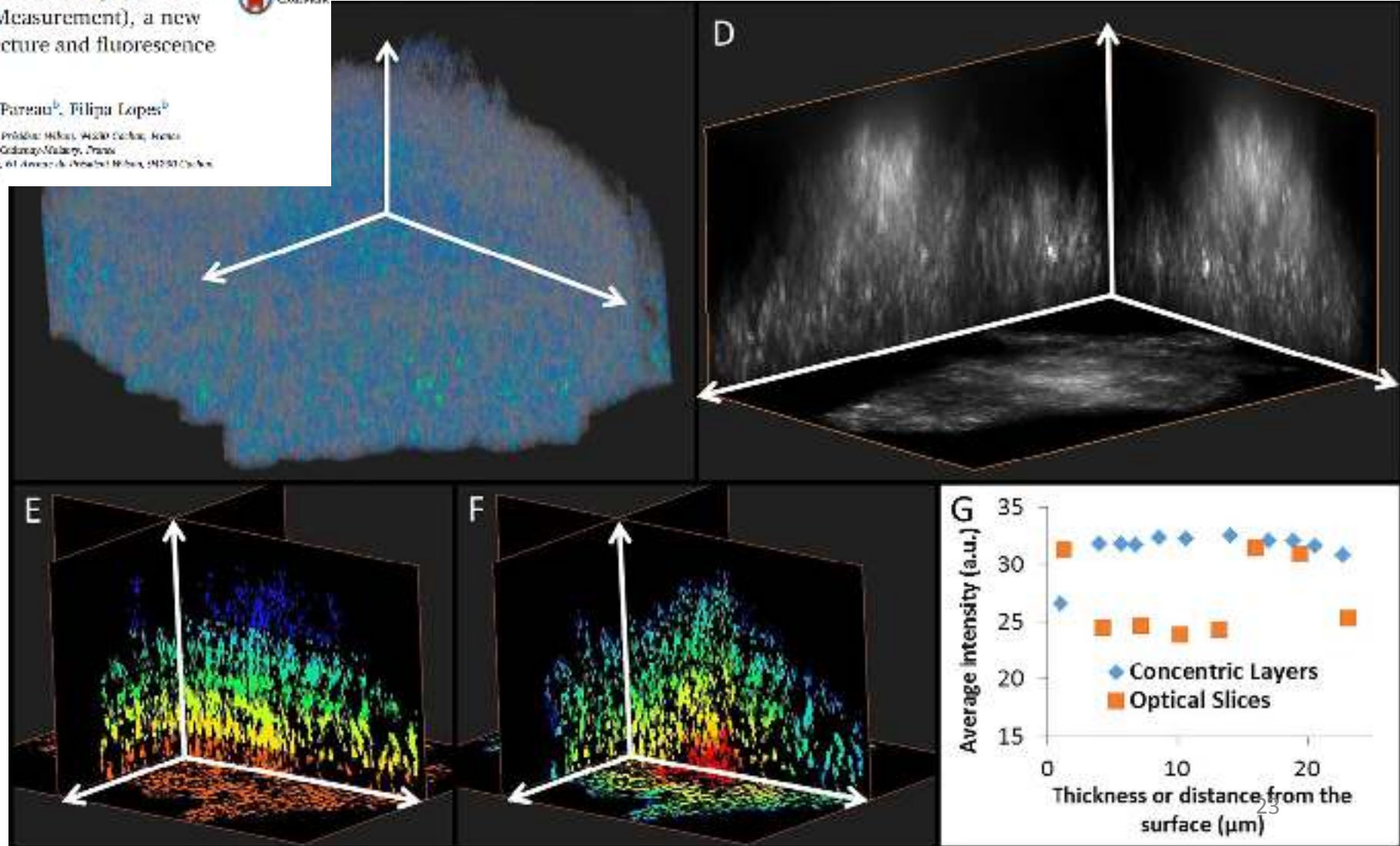
^a Laboratoire de Médecine et de Biotechnologie Appliquées, UMR, CNRS, 6300, 63122 Paris-Saint-Genès, 67 Avenue de Préville, 63000 Clermont, France

^b Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux, UTM, EA, 4520, Genésydarles, Grand Miroir 73100, 32290 Genéty-Malberg, France

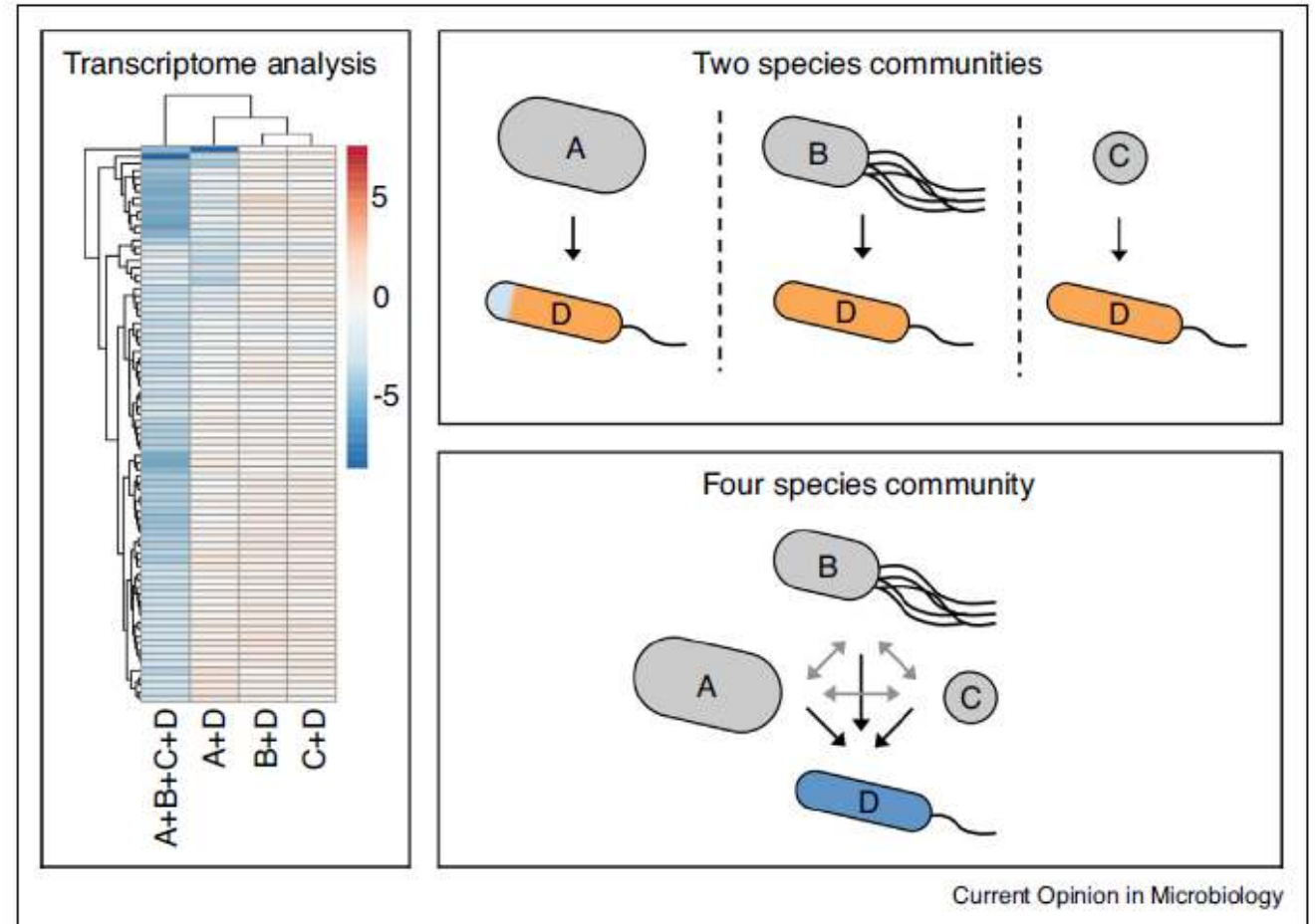
^c Biophysique et Physicochimie des Matériaux et des Matériaux, UMR, CNRS, 6300, 63122 Paris-Saint-Genès, 61 Avenue de Préville, 63000 Clermont, France

Konfokal laser tarama mikroskobu ile;

Biyofilmi üç boyutlu olarak göstermek, biyokütleyi ölçmek, kalınlık ve geçirgenlik miktarını kullanarak bir modelleme yapmak mümkündür



Güncel transkriptomik yaklaşım



Current Opinion in Microbiology 2018, 42:104–109

Bacterial social interactions and the emergence of community-intrinsic properties



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

International Journal of Medical Microbiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijmm

From the genome sequence via the proteome to cell physiology –
Pathoproteomics and pathophysiology of *Staphylococcus aureus*



Biyofilmde protein analizi

Tanı

- Enfeksiyon etkeni mikroorganizmada biyofilm oluşturmada sorumlu «slime» faktör bakılması
 - Klasik tanı
 - Güncel yaklaşımlar
 - Gelecek
- Biyofilm ilişkili enfeksiyonun enfeksiyon yerinde tanımlanması
 - Klasik tanı
 - Güncel yaklaşımlar
 - Gelecek

Protez enfeksiyonu tanısı

- Proteze ulaşan bir sinüs kanalı
- Pürülan akıntı varlığı
- Protez çevresi dokuda akut enflamasyon varlığı
- Kültürde mikroorganizma üremesi

Infect Dis Clin N Am 2017

Biyofilm ilişkili protez enfeksiyonların tanısı

- Protezin direk sıvı veya katı besiyerine ekilmesi
- Protezden sonikasyon veya durulama sonrası örnek alınarak ekim yapılması
- Floresan mikroskopi – FISH
- Konfokal laser tarama mikroskobisi
- “SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM)”
- PCR temelli moleküler yöntemler
- Protezden DNA eldesi, 16S rRNA PCR ve sekanslama
- Yöntemlerin kombinasyonu

APMIS 125: 418–428, 2017, Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research 2017.

ÇIKARILMIŞ PROTEZ



SIVI İÇİNDE BEKLET veya SONİKASYON YAP



SIVI

PROTEZ

PROTEZ

PROTEZ



RNA eldesi

Konfokal mikroskopi

SEM

AGARA EKİM



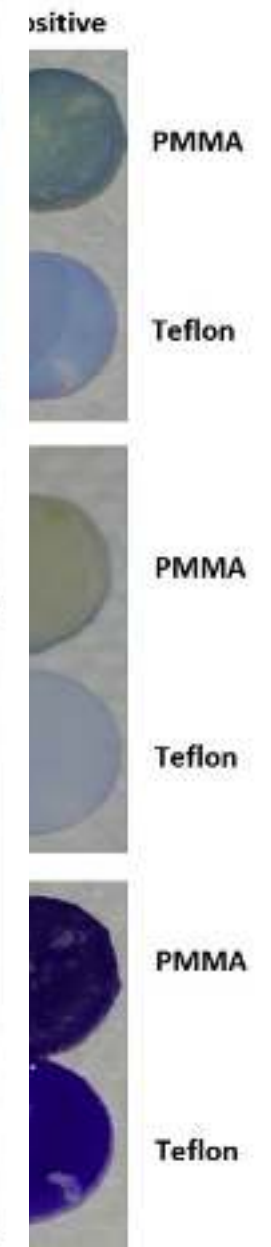
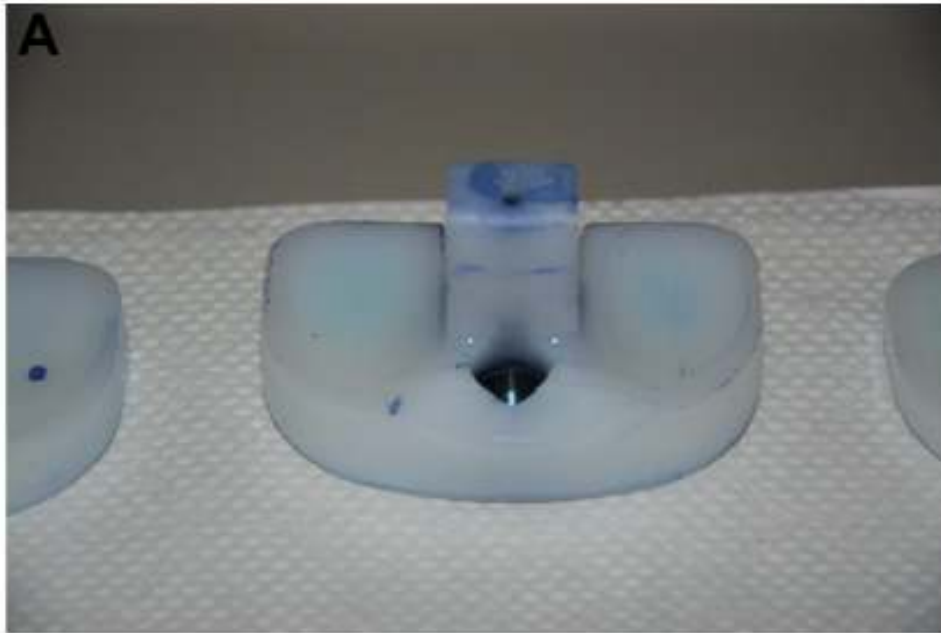
**RT-PCR
(16S rDNA veya adezyon
genleri)**

Hücre analizi veya FISH

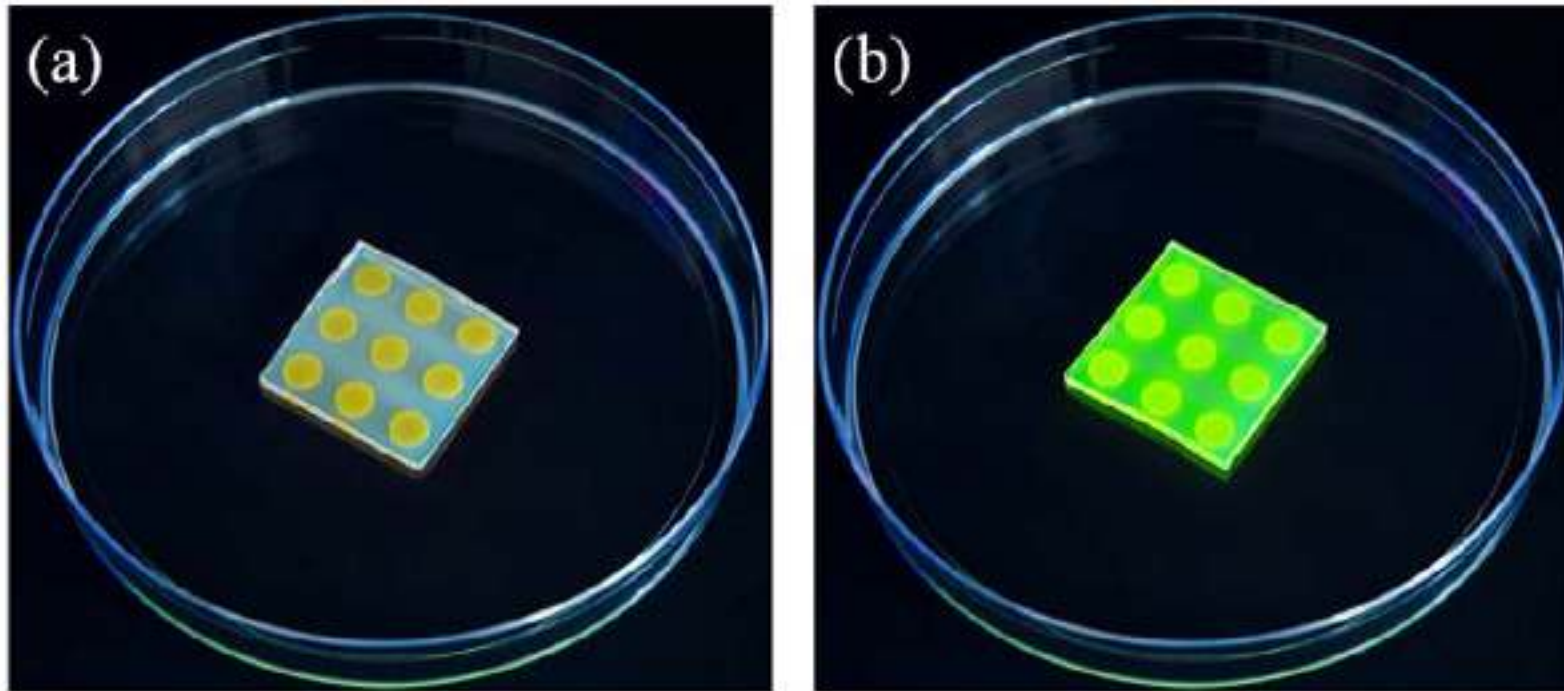
İZOLASYON / TANIMLAMA / AB

Injury, Int. J. Care Injured xxx (2018) xxx-xxx

Contents lists available at ScienceDirect



Gelecek



Development of a mixed-species biofilm model and its virulence implications in device related infections. J Biomed Mater Res Part B 2018

Sonuç

- Biyofilm tanısı oluştuğu yerinde veya izole edilen mikroorganizma özelinde yapılabilir.
- Mikrobiyolojik kùltür yöntemleri yanında görüntüleme yöntemleri ve molekùler yöntemler de kullanılabilir.
- Yeni teknolojilerde, biyofilm oluşmuş tıbbi malzemenin olduğu yerde tanısı ve temizlenmesi hedeflenmektedir.