T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KATETER KAYNAKLI KAN DOLAŞIMI ENFEKSİYONU ETKENLERİNİN BELİRLENMESİ VE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sibel GÜMÜŞ

Antalya, 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KATETER KAYNAKLI KAN DOLAŞIMI ENFEKSİYONU ETKENLERİNİN BELİRLENMESİ VE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN FENOTİPİK VE GENOTİPİK YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Sibel GÜMÜŞ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mete EYİGÖR

"Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 3519)"

"Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir"

Antalya, 2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin hazırlanmasında rehberliğini, bilgi ve tecrübesini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mete Eyigör'e,

Yetişmemde emeği geçen, iş ortamını bir aile ortamı gibi hissetmemizi sağlayan, sadece akademik değil, kişilik özellikleriyle de örnek aldığım saygıdeğer tüm hocalarıma,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum uzman ve asistan arkadaşlarıma,

Yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyen, güler yüzlü değerli Merkez Laboratuvarı çalışanlarına,

Tez çalışmalarımda zorlarımı kolaylaştıran, yardımsever Sağlık Bilimleri ve Uygulama Merkezi çalışanlarına,

Ayrıca varlıklarıyla, sevgi ve ilgileriyle güç bulduğum aileme, bana her zaman destek veren, hep yanımda olduğunu hissettiğim sevgili eşime, neşe kaynağım çocuklarıma, en içten dileklerimle

Teşekkürlerimi, sevgilerimi ve saygılarımı sunarım…

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Simgeler ve Kısaltmalar ……iv
Şekiller Dizini……...vii
Çizelgeler Dizini……viii

1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. KİKDE 4
2.2. KİKDE Önemi, Görülme Oranı, Maliyeti 4
2.3. KİKDE Risk Faktörleri 7
2.4. Kateter Tipleri, Özellikleri 8
2.5. KİKDE Patogenezi 12
2.6. Biyofilm 13

2.6.1. Biyofilmin Tarihçesi 13
2.6.2. Biyofilm Oluşumu-Yapısı 15
2.6.3. QS (Quorum Sensing) 18
2.6.4. Biyofilm Genleri 21
2.6.5. Biyofilm Enfeksiyon İlişkisi 22
2.6.6. Biyofilm- Direnç İlişkisi 24
2.6.7. Biyofilm Oluşumunu Saptama Yöntemleri 25
2.6.8. Biyofilm Önleme Çalışmaları 30

2.7. KİKDE Etkenleri 31
2.8. KİKDE Tanısı 34

2.8.1. Kateterin Çıkarıldığı Durumda Tanı 36
2.8.2. Kateterin Korunduğu Durumda Tanı 37

2.9. KİKDE Tedavi 39
2.10. KİKDE'den Korunma 42

3. GEREÇ- YÖNTEM 45

3.1. KİKDE Olan Hastaların Belirlenmesi:..... 45
3.2. KİKDE Etkeni Mikroorganizmaların Elde Edilmesi: 46

3.2.1.Kateter Ucu Örneklerinden Mikroorganizma İzolasyonu:..... 46
3.2.2.Kan Kültürü Örneklerinden Mikroorganizma İzolasyonu: 46

3.3. Mikroorganizmaların Tanımlaması:..... 47
3.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Çalışılması: 48
3.5. Biyofilm Yapısının Mikrotitre Plak Yöntemi İle Fenotipik Olarak İncelenmesi: 48
3.6. Biyofilm Oluşumunun Genotipik Olarak İncelenmesi 49

3.6.1. DNA Ekstraksiyonu: 50
3.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu 52

3.7. Hasta Verilerinin Elde Edilmesi..... 53
3.8. Verilerin Analizi ve İstatistiksel Değerlendirme..... 53

4. BULGULAR 55

4.1. Risk Faktörleri..... 55
4.2. KİKDE- Bölüm İlişkisi 57
4.3. KİKDE Etkenleri..... 58
4.4. KİKDE – Klinik Sonuç İlişkisi 61
4.5. Biyofilm Testleri 64

4.5.1. Biyofilm Üretiminin Fenotipik Olarak İncelenmesi 64
4.5.2. Biyofilm Üretiminin Genotipik Olarak İncelenmesi..... 66

4.5. Direnç Bulguları..... 67
4.6. Biyofilm-Direnç İlişkisi 68
4.7. Biyofilm Oluşumunun Klinik Sonuca Etkisi 70

5. TARTIŞMA 72

5.1. Çalışmaya Alınan Suşların Belirlenmesi 72
5.2. KİKDE Risk Faktörleri 74
5.3. KİKDE- Bölüm İlişkisi 76
5.4. KİKDE Etkenleri..... 77
5.5. Mikroorganizma- Bölüm İlişkisi..... 79
5.6. KİKDE - Klinik Sonuç..... 81
5.7. Biyofilm Testleri 82

5.7.1. Fenotipik Biyofilm Oluşumunun Mikrotitre Plak Yöntemiyle İncelenmesi82
5.7.2. Biyofilm İlişkili Genlerin İncelenmesi ve Bulguların Fenotipik Biyofilm Oluşturma Özelliğiyle Karşılaştırılması..... 85

5.8. Antimikrobiyal Direnç Oranları..... 88
5.9. Biyofilm- Direnç İlişkisi 89
5.10. Biyofilm –Mortalite İlişkisi 93

6. SONUÇLAR 94
7. ÖZET..... 97
8. ABSTRACT..... 99
9. KAYNAKLAR 101
10. EKLER..... 124

SİMGELER ve KISALTMALAR

Aap	Accumulation-associated protein
AHL	N-açil homoserin lakton
Atl	Autolysin
bap	Biyofilm ilişkili protein
bç	Baz çifti
CDC	Centers for Disease Control (Hastalık Kontrol Merkezi)
c-di-GMP	Bis-(3′-5′)-cyclic dimeric guanosine monophosphate
CLABSI	Central line associated bloodstream infection (Santral yolla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu)
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute (Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
CLSM	Confocal laser scanning microscopy (Konfokal Lazer Taramalı Mikroskop)
CRM	Confocal-raman microscopy
dk	Dakika
DMMB	1,9-dimetil metilen mavisi
eDNA	Ekstraselüler DNA
EPS	Extracellular polymeric substance (Ekstraselüler polimerik madde)
ESCMID	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği)
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi)
FnBPA, FnBPB	Fibronektin bağlayıcı proteinler (Fibronectin binding proteinA, Fibronectin binding proteinB)

FDA	Floresein diasetat
FISH	Floresans in situ hibridizasyon
gr	Gram
GAG	Glikozaminoglikan
IDSA	Infectious Diseases Society of America (Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği)
INICC	International Nosocomial Infection Control Consortium (Uluslararası Nazokomiyal Enfeksiyon Kontrol Konsorsiyumu)
ica	Intercellular adhesin
KİKDE	Kateter İlişkili Kan Dolaşım Enfeksiyonu
KLİMUD	Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği
KNS	Koagülaz Negatif Stafilokok
kob	Koloni Oluşturan Birim
MDR	Multi Drug Resistant (Çoklu İlaç Direnci)
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MRKNS	Metisilin Dirençli Koagülaz Negatif Stafilokok
MRSA	Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*
MSKNS	Metisilin Duyarlı Koagülaz Negatif Stafilokok
MSSA	Metisilin Duyarlı *Staphylococcus aureus*
NHSN	National Healthcare Safety Network- (Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı)
NNIS	National Nosocomial Infection Surveillance System

	(Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Sistemi)
PBS	Phosphate Buffered Saline (Fosfatla Tamponlanmış Salin)
PCR	Polymerase chain reaction
PIA	polysaccharide intercellular adhesin- polisakarit interselüler adezin
PNAG	poli-N-asetilglukosamin
PVK	Periferik Venöz Kateterler
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
qRT-PCR	Gerçek Zamanlı Kantitatif-Revers Transkripsiyon PZR
QS	Quorum Sensing
rpm	Rotation Per Minute (dakikadaki devir sayısı)
SEM	Scanning electron microscopy
SKİ-KDE	Santral kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu
sn	Saniye
sRNA	Small RNA
SVK	Santral Venöz Kateter
TBE	Tris-borik asit-EDTA
TEM	Transmisyon elektron mikroskobu
TPN	Total Parenteral Nütrisyon
TSB	Triptik Soy Buyyon
UHESA	Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı
UV	Ultraviyole
V	Volt
XTT	2H-tetrazolyum hidroksit tuzu
YBÜ	Yoğun Bakım Ünitesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.	NHSN 2006-2016 verilerine göre, ABD hastanelerinde zaman içinde Santral Yol İlişkili KDE oranlarındaki değişim.	5
2.2.	Santral venöz kateter çeşitleri	11
2.3.	Mikroorganizmalaın damar içi kateterlere giriş yolları	13
2.4.	Biyofilm yapısının scanning-elektron mikroskobu ile görüntüsü	15
2.5.	Biyofilm oluşumunun evreleri	16
2.6.	Gram negatif bakterilerde LuxI/LuxR tipi QS mekanizması	20
2.7.	Gram pozitif bakterilerde QS sistemi	20
2.8.	KİKDE ile ilişkili klinik özellikler	35
4.1.	Mikrotitre plak yöntemiyle fenotipik biyofilm oluşumunun incelenmesi	64
4.2.	Real-time PCR grafik görüntüsü	66
4.3.	İzolatların biyofilm düzeylerine göre MDR olma oranları	70
4.4.	Bakterilerin biyofilm oluşturma özelliği- KİKDE klinik sonucu ilişkisi	71

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge		Sayfa
2.1.	İntravenöz kateterlerin kullanımına bağlı gelişebilen enfeksiyöz ve mekanik komplikasyonlar	3
2.2.	Türkiye'de YBÜ üniteleri tiplerine göre SKİ-KDE hızı	6
2.3.	KİKDE görülme oranına etki eden faktörler	7
2.4.	Venöz ve arteriyel erişim için kullanılan kateterler ve özellikleri	9
2.5.	Biyofilm enfeksiyonları ve ilişkili aletler	23
2.6.	KİKDE etiyolojisinde rol alan mikroorganizmaların sıklıklarını bildiren bazı çalışmalar	32
2.7.	ABD'de 2011-2014 yılları arasında KİKDE etkenlerinin dağılımı	33
2.8	UHESA etken dağılımı ve antibiyotik direnç raporuna (2017) göre KİKDE'ye neden olan patojenler ve sıklıkları	34
3.1.	Araştırılan biyofilm ilişkili genler ve primer bölgeleri	49
4.1.	KİKDE hastalarının yaş gruplarına göre dağılımı	56
4.2.	KİKDE hastalarında bulunan altta yatan hastalıklar.	56
4.3.	KİKDE olduğu belirlenen hastaların tanısında kullanılan örneklerin özellikleri.	57
4.4.	KİKDE ataklarının bölümlere göre dağılımı	57
4.5.	KİKDE ataklarının kliniklere göre dağılımı	58
4.6.	KİKDE olgularında izole edilen etken mikroorganizmaların dağılımı	59
4.7.	KİKDE etkenlerinin bölümlere göre dağılımı	60
4.8.	Cinsiyete göre mikroorganizmaların dağılımı	60
4.9.	Bölüm-KİKDE klinik sonucu ilişkisi	61
4.10.	Mikroorganizma grubu-klinik sonuç ilişkisi	62
4.11.	Mikroorganizma-klinik sonuç ilişkisi	63
4.12.	KİKDE etkeni bakterilerin fenotipik biyofilm oluşturma özelliği	65
4.13.	Stafilokoklarda icaABCD genleri ve biyofilm varlığı	66
4.14.	*Acinetobacter baumannii* izolatlarında biyofilm genleri ve	67

	fenotipik biyofilm oluşumu varlığı	
4.15.	Stafilokoklarda metisilin direnci	67
4.16.	Gram negatif bakterilerde karbapenem direnci	68
4.17.	MRSA ve MSSA izolatlarında biyofilm oluşumu	68
4.18.	MRKNS ve MSKNS izolatlarında biyofilm oluşumu	69
4.19.	Gram negatif bakterilerde karbapenem direnci ile biyofilm oluşumu ilişkisi	69
4.20.	Biyofilm oluşum düzeyinin MDR fenotipine etkisi	70
4.21.	Biyofilm düzeyi ile klinik sonuç ilişkisinin araştırılması	71

1. GİRİŞ

Damar içi kateterler, özellikle ciddi hastalığı olan birçok hastanın bakım ve tedavisinde, pek çok amaçla yaygın olarak kullanılan tıbbi aletlerdir. Ancak sağlık uygulamalarının zorunlu bir parçası olan bu aletlere bağlı enfeksiyöz komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bu komplikasyonlardan olan kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE), hastane masrafları, hastanede kalış süresi, morbidite ve mortalitede artışa neden olarak ciddi bir sorun teşkil etmektedir (1, 2). National Nosocomial Infection Surveillance System (NNIS) raporlarında, primer bakteriyemilerin en az %80'inden intravenöz kateterlerin sorumlu olduğu bildirilmiştir (3, 4).

KİKDE'ye bir veya birden fazla türde mikroorganizma sebep olabilir. Etken olan mikroorganizmaların sıklığı; ülkelere, hastanelere, bölümlere, hastaların özelliklerine göre değişebilmektedir. Hastanelerin kendi KİKDE etkenlerini inceleyip zaman içindeki değişimleri takip etmesi, ampirik tedavinin uygun şekilde uygulanması ve enfeksiyon kontrol çalışmaları açısından değerlidir.

KİKDE oluşumunda, mikroorganizmaların kateter lümeninde kolonize olmaları önemli bir basamaktır. Biyofilm oluşumu, biyofilm oluşturma özelliğine sahip olan mikroorganizmaların yüzeylere geri dönüşümsüz tutunup kolonize olmasını kolaylaştırarak, KİKDE patogenezinde yer alır. Biyofilm yapısı, nasıl oluştuğu, oluşumunun engellenmesi ve ortadan kaldırılmasıyla ilgili çeşitli araştırılmalar yapılmıştır. Ancak mikroorganizmaların geliştirdiği bu yapıyla mücadelede daha çok çalışmanın yapılmasına ihtiyaç vardır.

KİKDE'nin meydana gelişinde mikroorganizmaların biyofilm oluşturmaları gibi özelliklerinin yanında, hastaya (uç yaşlarda olması, nötropeni, immünsupresif tedavi vb.), katetere (yapısı, yerleşim yeri, kalış süresi vb.) ve hastaneye (sağlık çalışanlarının hijyeni, kateterin sık manipülasyonu, pansumanı vb.) ait pek çok faktörün etkisi vardır (5-7). Hasta yaşı, altta yatan hastalığı gibi faktörler değiştirilemese de, değiştirilebilecek faktörler üzerinde dikkatle ve akılcı uygulamalarla durulması, hastalığı önleyici tedbirlerin alınıp uygulanması, enfeksiyon hızının takip edilmesi ve mümkün olduğunca aza indirilmesi, etkin tedavinin uygulanması önemlidir (8).

Araştırmamızda, Akdeniz Üniversitesi Hastanesi'nde kateter kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonlarının insidansının belirlenmesi, etken olan mikroorganizmaların saptanması, bu mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılıklarının incelenmesi, biyofilm oluşturma özelliklerinin, fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması, ayrıca KİKDE olan hastaların yaş, cinsiyet, altta yatan hastalık, yattığı klinik, aldığı tedavi vb. özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, laboratuvarımıza kültür istemiyle gönderilmiş olan hasta örneklerinden, rutin mikrobiyolojik uygulamalar sonucu elde edilmiş olan suşlar kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Damar içi kateterler hastaya intravenöz ilaç, kan, kan ürünleri, intravenöz sıvı verilmesi, parenteral beslenme, hemodinamik izlem, hemodiyaliz uygulaması ve hastadan tetkik amaçlı kan alınması gibi çeşitli amaçlarla, hastanelerde özellikle yoğun bakım ünitelerinde, hatta evde bakım alan hastaların tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (9). Hastanede yatan hastaların %50-60'ına intravenöz kateter uygulandığı bildirilmektedir (1). Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), üç milyonu Santral Venöz Kateter (SVK) olmak üzere yılda yaklaşık 300 milyon kateter uygulanmaktadır (1). Ülkemizde yılda 20 milyon periferal kateter takılmaktadır ve bu, sağlık sisteminde en fazla yapılan invaziv uygulamadır (5). Sağlık uygulamalarının önemli bir parçası olan kateterlerin kullanımına bağlı komplikasyonlar gelişebilmektedir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. İntravenöz kateterlerin kullanımına bağlı gelişebilen enfeksiyöz ve mekanik komplikasyonlar

Enfeksiyöz komplikasyonlar (1, 10)	**Mekanik komplikasyonlar (11)**
Kateter kolonizasyonu	Pnömotoraks
Çıkış yeri enfeksiyonu	Hemotoraks
Tünel enfeksiyonu	Hava embolisi
Cep enfeksiyonu	Subklavyen arter ponksiyonu
KİKDE	Subklavyen ven laserasyonu
Septik tromboflebit	Tromboz
Metastatik enfeksiyonlar (endokardit, endoftalmit, artrit, akciğer absesi, beyin absesi, osteomiyelit)	

Enfeksiyöz komplikasyonlar arasında KİKDE'nin önemli bir yeri vardır.

2.1. KİKDE

KİKDE, intravenöz kateterde kolonize olan mikroorganizmanın etken olduğu kan dolaşımı enfeksiyonudur (6).

2.2. KİKDE Önemi, Görülme Oranı, Maliyeti

KİKDE, mortaliteyi, morbiditeyi, hastanede yatış süresini ve sağlık harcamalarını arttırması nedeniyle ciddi bir hastalık, enfeksiyon kontrolü açısından önemli bir sorundur (1, 2).

Ülkemizde, saniyede 4 adet periferik venöz kateter kaynaklı komplikasyon görülmekte ve bu komplikasyonlar 300 yataklı bir hastane için yıllık yaklaşık 43 milyon liraya mal olmaktadır (5). İki yüz çalışmanın incelendiği, 2006 yılında yayınlanan bir makalede (12), KİKDE'nin hastanede kalma süresini 10- 20 gün uzattığı ve epizot başına ek maliyetin 4000$-56,000$ olduğu belirtilmektedir.

Hastanelerin KİKDE insidansı, ülkelere, hastanenin kapasitesine, bölümlere, hastaların altta yatan hastalığının ciddiyetine ve daha pek çok faktöre göre ve hatta zaman içinde değişkenlik gösterir (13, 14)

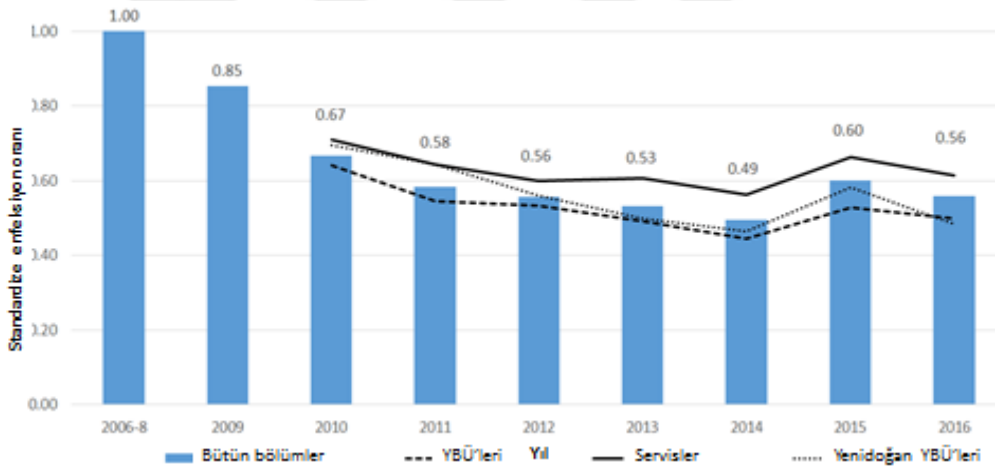
Kan dolaşımı enfeksiyonu ile en sık ilişkili olan kateter türü SVK olduğundan, sürveyans çalışmalarında genellikle SVK kullanım oranları SVK ilişkili KDİ hızları belirlenmektedir (15).

Hastanelerin enfeksiyon oranlarıyla ilgili veriler raporlanırken bazı formüller kullanılır (16):

- Hastane enfeksiyon hızı: (Hastane enfeksiyonu sayısı/Yatan hasta sayısı) x 100
- Hastane enfeksiyonu insidans dansitesi: (Hastane enfeksiyonu sayısı/Hasta günü) x 1000
- Alet kullanımı ile ilişkili hastane enfeksiyon hızı: (Alet kullanımı ile ilişkili hastane enfeksiyonu sayısı/Alet günü) x 1000
- Alet kullanım oranı: Alet günü sayısı/hasta günü

Hastanelerin kateter ilişkili enfeksiyon hızlarını, diğer hastanelerinkiyle karşılaştırırken, 100 hastada gelişen enfeksiyon sayısı yerine kateter kullanım gününe göre gelişen enfeksiyon sayısının baz alınması ile daha sağlıklı sonuçlara ulaşılır (15, 17).

Yapılan çalışmalarda rapor edilen KİKDE oranları arasında belirgin farklılıklar görülebilmektedir (18-21). NNIS'a göre, Ekim 1986'dan Aralık 1990'a kadar Kuzey Amerika'da KİKDE insidansı, solunum yoğun bakım üniteleri için 1000 kateter günü başına 2,1, cerrahi yoğun bakım üniteleri için 5,1, travma yoğun bakım üniteleri için 5,8, yanık üniteleri için ise 30,2'dir (22). Ocak 1992'den Haziran 2004'e kadar olan süredeki verilere göre ise KİKDE oranı, her tipteki yoğun bakım ünitelerinde ortalama olarak 1000 kateter başına 1,8-5,2'dir (23). National Healthcare Safety Network (NHSN- Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı) verilerine göre, 2008 yılı ile 2016 yılları arasındaki KİKDE insidansı karşılaştırıldığında, %50 düşüş olduğu görülmektedir (Şekil 2.1) (24).



Şekil 2.1. NHSN 2006-2016 verilerine göre, ABD hastanelerinde zaman içinde santral yol ilişkili KDE oranlarındaki değişim. (24. kaynaktan uyarlanmıştır.)

Diğer taraftan, gelişmekte olan ülkelerde oranlar daha farklıdır. Uluslararası Nazokomiyal Enfeksiyon Kontrol Konsorsiyumu (INICC), 2010-2015 yılları arasında, Latin Amerika, Avrupa, Doğu Akdeniz, Güneydoğu Asya ve Batı Pasifikteki 50 ülkede, 703 YBÜ'de alet ilişkili nazokomiyal enfeksiyon sürveyans çalışması yapmış ve bulgularını Amerika'daki Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri Ulusal Sağlık Güvenliği Ağı (CDC-NHSN)'nın verileriyle kıyaslamıştır (13). INICC YBÜ'lerinde ve CDC-NHSN YBÜ'lerinde cihaz

kullanım oranlarının benzer olduğu görülmüştür. Buna karşın INICC YBÜ'lerindeki SVK ilişkili KDE, daha önceki yıllara göre daha az sıklıkta görülmesine rağmen, benzer ABD YBÜ'lerinden bildirilen SVK ilişkili KDE oranlarına göre yaklaşık 5 kat daha fazla (4.1/1000 SVK gününe kıyasla 0.8/1000 SVK günü) bulunmuştur. Bu çalışmanın kapsamındaki ülkelerin birçoğu ekonomik olarak kısıtlı imkanlara sahip ülkelerdir ve yüksek insidansın kateter bakımı ile ilgili resmi düzenlemelerin eksikliğiyle ilgili olduğu düşünülmektedir (13).

Ülkemizde ise, Ulusal Hastane enfeksiyonları sürveyans ağı (UHESA) 2010 yılı verilerine göre, Türkiye'de yoğun bakım ünitelerinde, SVK ilişkili KDİ hızı 5,9/1000 kateter-günü olarak bildirilmiştir (25). UHESA'nın 2008 ve 2015 yıllarına ait, yoğun bakım ünitelerinde görülen SVK ilişkili KDİ oranları kıyaslandığında yaklaşık %40 azalma olmuştur. UHESA 2017 özet raporunda bildirilen, Türkiye'de yoğun bakım tiplerine göre SVK ilişkili KDİ hızları Tablo 2.2'de görülmektedir (26).

Tablo 2.2. Türkiye'de YBÜ üniteleri tiplerine göre SKİ-KDE hızı (* SKİ-KDE Hızı = (SKİ-KDE sayısı / SK günü) x 1000, † Parantez içindeki sayı persentil hesaplamasına dahil edilen birim sayısıdır. Persentil hesabına, SK günü 50 ve üzerinde olan birimler dahil edilmiştir.)

	SKİ-KDE Hızı *			
YBÜ Tipi	**Birim Sayısı †**	**Santral Kateter Günü**	**SKİ-KDE Sayısı**	**Ağırlıklı Genel Ortalama**
Acil Yoğun Bakım	17 (14)	10758	47	4.4
Anestezi ve Reanimasyon YBÜ	226 (223)	605939	2127	3.5
Beyin Cerrahi YBÜ	42 (41)	42051	159	3.8
Çocuk Cerrahi YBÜ	12 (10)	4026	18	4.5
Çocuk Hastalıkları YBÜ	87 (81)	101497	489	4.8
Çocuk Kalp Damar Cerrahi YBÜ	8 (8)	18031	48	2.7
Genel Cerrahi YBÜ	102 (96)	102673	197	1.9
Göğüs Cerrahi YBÜ	11 (10)	8760	7	0.8
Göğüs Hastalıkları YBÜ	42 (37)	33590	138	4.1
İç Hastalıkları YBÜ	129 (125)	170894	570	3.3
Kalp Damar Cerrahi YBÜ	236 (228)	197673	324	1.6
Karma YBÜ	415 (385)	712275	1409	2.0
Koroner YBÜ	216 (149)	52901	78	1.5
Nöroloji YBÜ	79 (76)	57670	300	5.2
Yanık Ünitesi YB	20 (20)	14483	91	6.3

2.3. KİKDE Risk Faktörleri

KİKDE oluşumunda pek çok faktörün rolü vardır. KİKDE insidansı; çok sayıda faktöre göre değişkenlik gösterir (5-7) (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. KİKDE görülme oranına etki eden faktörler

Katetere ait faktörler	Kateterin çeşidi, yapıldığı materyal, uzunluğu, lümen sayısı, vücuda giriş yeri ve bu bölgedeki mikroorganizma kolonizasyonun yoğunluğu, kateterin vücutta kalış süresi, kullanım amacı (parenteral nutrisyon, kan ürünlerinin transfüzyonu), manipülasyon sıklığı, kateter takılması sırasında ve sonraki bakımında enfeksiyon kontrol kurallarına uyum, acil ya da elektif şartlarda takılmış olması
Hastaya ait faktörler	Hastanın kateter takılmadan önce hastanede yattığı süre, prematürite, yaş (<1 veya >60), altta yatan hastalık, granülositopeni, immunsupresif tedavi, kemoterapi
Hastaneye ait faktörler	Büyüklüğü, mevcut hemşire sayısı, personelin enfeksiyon kontrol kurallarına uyum konusunda eğitilmesi ve takibi

Kateterin yapıldığı materyalin tromboz oluşturma olasılığı ve mikroorganizmaların aderensine uygun yapıda olması, kolonizasyon ve enfeksiyon riskini artırır. Polivinil ve polietilen kateterlerde, politetrafloroetilen veya poliüretan kateterlere oranla enfeksiyöz komplikasyonlar daha az görülmektedir (15). Kateterin acil şartlarda takılı kalması, takılma ve kullanım aşamalarında aseptik tekniğe uyulmaması ve takılı kalma süresinin uzun olması da enfeksiyon riskini artırır. Yapılan birçok araştırmaya göre, femoral vene takılan kateterlerde enfeksiyon riski, juguler ven ve subklavyen vene takılan kateterlerden daha yüksekken, subklavyen vene takılan kateterlerde enfeksiyon riski, diğer ikisine göre daha düşüktür. Kateterin lümen sayısının fazla olması da enfeksiyon riskini arttırabilir (27). İntravasküler kateterlerin parenteral nutrisyon amacıyla kullanımı, KİKDE riskini artırmaktadır (6). Santral venöz kateterler, sağlık uygulamalarında kullanılan aletler arasında, alet ilişkili enfeksiyonlar açısından en

riskli ve KİKDE'ye en sık neden olandır. KİKDE rölatif riski, santral venöz kateterlerde, periferik venöz kateterlere göre 64 kat daha fazladır (6). Arteriyel kateterlerin enfeksiyon riski, santral venöz kateterlerinkiyle benzerdir (9).

Hastanın klinik durumunun ciddiyeti de KİKDE görülme oranını etkiler. Kronik hastalığı, malnütrisyonu olan, kemik iliği transplantasyonu olan, daha önceden KDE öyküsü olan hastalarda risk fazladır (28). Yanık nedeniyle hastanede yatan hastalarda, dirençlerinin düşük olması ve yanan bölgelerdeki nekrotik dokuların enfeksiyona yatkınlığı arttırması nedeniyle KİKDE riski artmıştır. Hematolojik malignitesi olan hastalar, solid tümörü olanlara göre KİKDE ile daha çok ilişkili bulunmuşlardır (29). Nötropenik hastalar, diğer enfeksiyonlara olduğu gibi KİKDE açısından da yüksek risk altındadırlar (30). Pediatrik yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar arasında, gastrointestinal ve onkolojik malignitesi olanlarda, KİKDE riski daha fazla bulunmuştur (31).

KİKDE hızını etkileyen hastaneye ait faktörlere, hastanenin büyüklüğü, YBÜ kapasitesi, enfeksiyon kontrol kurallarına uyum konusunda gerekli düzenlemelerin yapılması, eğitimlerin verilmesi, personelin buna uyumunun sağlanması ve kontrolü, yeterli sayıda personelin bulundurulması örnek verilebilir (15).

2.4. Kateter Tipleri, Özellikleri

Kateter türleri tanımlanırken, farklı özellikleri göz önüne alınabilir ve bu durum kafa karıştırıcı olabilir. Kateterler yerleştirildikleri damarın tipine (örn: periferik venöz, santral venöz veya arteriyel); kullanım süresine (örn: kalıcı veya uzun süreli ile geçici veya kısa süreli); takıldığı yere (örn: subklavyen, femoral, internal juguler, periferik veya periferik olarak yerleştirilmiş santral kateter); deriden damarlara giden yola (örn: tünelli, tünelsiz); uzunluğa (örn: kısa, uzun); veya diğer bazı özelliklerine (örn: manşetin olup olmaması, heparin, antibiyotik veya antiseptiklerle kaplı olması, lümen sayısı) göre isimlendirilebilir (17).

İntravenöz kateterleri, başlıca dört gruba ayırmak mümkündür: SVK, periferik venöz kateter, pulmoner arter kateteri ve periferik arteriyel kateter (15). Tablo 2.4'te bazı kateter tipleri ve özellikleri yer almaktadır.

Tablo 2.4. Venöz ve arteryel erişim için kullanılan kateterler ve özellikleri (8, 15, 32-34).

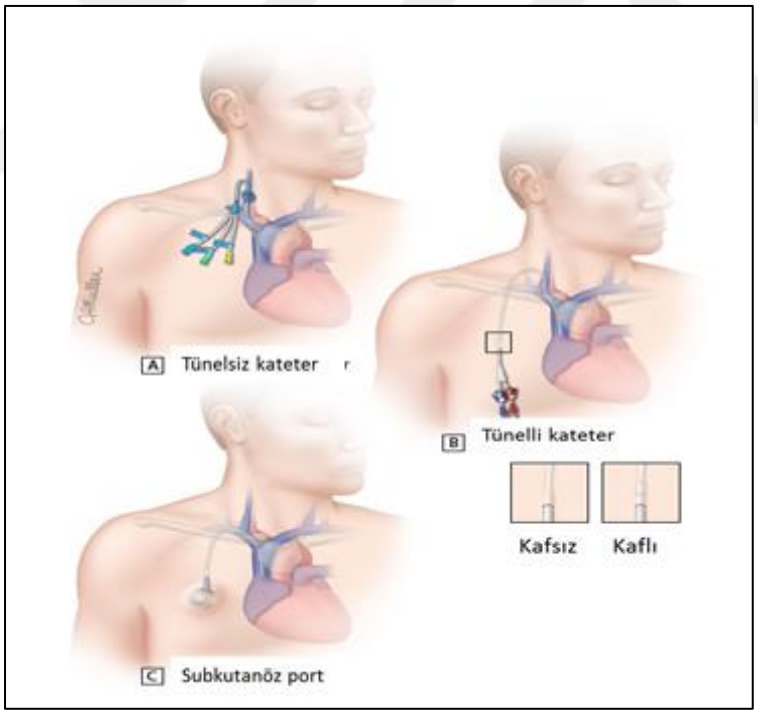
Kateter tipi	**Giriş yeri**	**Genel bilgiler**
Periferik venöz kateterler (örn: branül)	Genellikle önkol veya el sırtındaki venlere takılır.	Nadiren KİKDE'ye neden olur.
Periferik arteryel kateterler	Genellikle radyal artere takılır. Hemodinamik takip ve kan gazı izlemi amacıyla kullanılır.	Nadiren KİKDE'ye neden olur. Enfeksiyon riski azdır.
Orta-hat kateterleri	Antekübital fossadan proksimal bazilik veya sefalik vene takılır (periferik kateterler).	Filebit oranı kısa periferik kateterlerden daha azdır.
Pulmoner arter kateterleri	Bir introducer ile santral vene (subklavyen, internal juguler, femoral) takılır.	KİKDE gelişme sıklığı SVK'lerinkine benzerdir.
Tünelsiz SVK	Perkütan yoldan santral venlere (subklavyen, internal juguler, femoral) takılır.	KİKDE'lerin çoğunluğundan sorumludur. 1 aydan daha kısa süreli kullanım için uygundur.

Tablo 2.4. (Devam) Venöz ve arteryel erişim için kullanılan kateterler ve özellikleri (8, 15, 32-34).

Periferden yerleştirilen santral kateterler	Bazilik, sefalik veya antekübital venden takılıp vena kava süperiora yerleştirilir.	Tünelsiz SVK'lara kıyasla daha az sıklıkta enfeksiyona neden olur. 6 aya kadar takılı kalabilir.
Tünelli SVK (örn: Hickman, Groshong, Broviac tip kateterler)	Subklavyen, internal juguler veya femoral ven yoluyla, cerrahi olarak implante edilir.	Aylarca kullanılabilir. Vene giriş yeri ile cilde giriş yeri arasında, deri altında bir tünel vardır. Kateter çıkış yeri göğüs üst dış bölgesindedir. Çıkışa yakın yerde manşet (cuff) bulunur. Enfeksiyon riski, tünelsiz SVK'dan azdır.
Total implante kateterler (portlar)	Bir SVK türüdür. Subklavyen veya internal jugüler vene takılır. Göğüs üst kısmı ya da kolda subkutan dokuda, cerrahi olarak bir cep oluşturulup port yerleştirilir. Kateter, subkutan bir tünelle porta bağlanır. Portun üstündeki membrana özel bir iğne ile girilerek tedavi uygulanır.	Aylar, yıllarca takılı kalabilir. KİKDE riski en düşük olan kateter çeşitidir.
Umblikal kateterler	Umblikal vene veya umblikal artere takılır.	Umblikal ven ve umblikal arter kateterlerinin KİKDE riskleri benzerdir.

Santral kateter; ucu kalpte veya büyük damarlardan birinde yer alan kateterlere verilen ortak isimdir. KİKDE bildiriminde esas alınan büyük damarlar şunlardır: aorta, pulmoner arter, vena cava superior, vena cava inferior, brakiyosefalik venler, internal jugüler venler, subklavyen venler, eksternal iliyak venler, ana iliyak venler, femoral venler, umblikal arter ve venler (35, 36).

SVK'ler, nazokomiyal bakteriyemi ve sepsisin ana sebebidir (6). Periferik vene ulaşılamadığında, vazookluziv ilaç veya parenteral beslenme uygulanacağında, hemodiyaliz, hemofiltrasyon veya hemodinamik takip (örn: santral venöz basınç ölçümü) yapılacağında kullanılırlar (9). SVK'ler kendi içinde takılı kalma süresine göre (geçici, yarı kalıcı-tünelli, kalıcı-port sistemli), lümen sayısına göre (tek lümenli, çift lümenli, çok lümenli), takıldığı yere göre (juguler, subklavyen, brakial, femoral) ve kullanım amacına göre (basit damar yolu, TPN, hemodiyaliz) çeşitli sınıflara ayrılır (15). Şekil 2.2'de bazı santral venöz kateter çeşitleri görülmektedir.



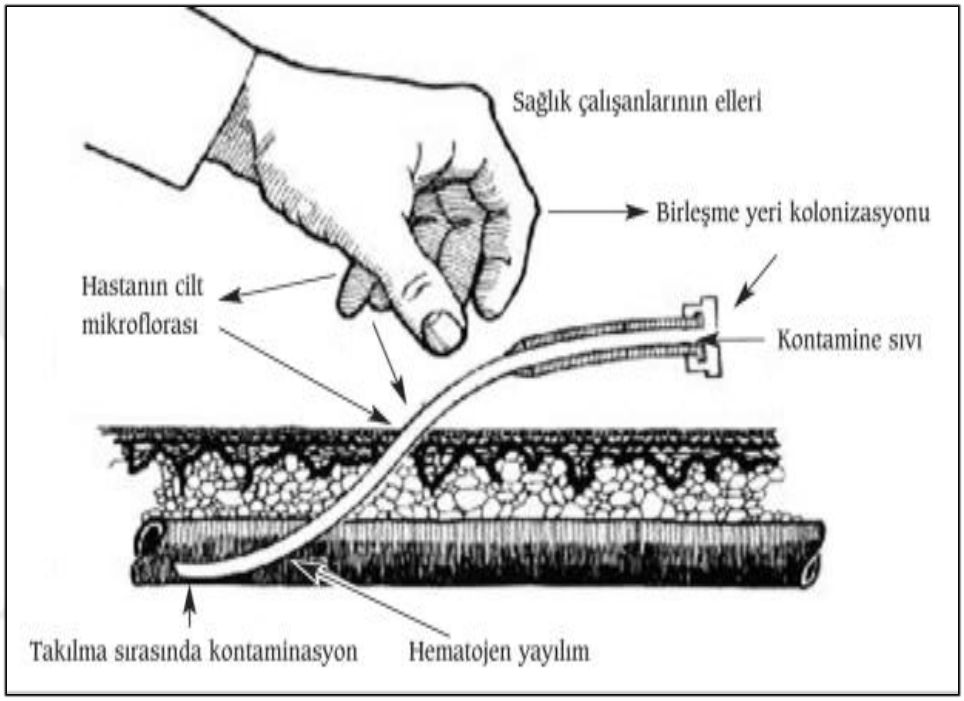
Şekil 2.2. Santral venöz kateter çeşitleri, (37). kaynaktan uyarlanmıştır.

Hastaya takılacak olan kateterin seçiminde, kateterin özellikleri, hastaya ait özellikler, uygulanacak tedavi, oluşabilecek enfeksiyöz ve mekanik komplikasyonlar birlikte dikkate alınır.

2.5. KİKDE Patogenezi

İntravenöz kateterler, mikroorganizmaların steril olmayan dış ortamdan steril olan kana geçişi için potansiyel bir yoldur.

Şekil 2.3'te görüldüğü gibi, KİKDE temel olarak dört olası yolla meydana gelir (38).



Şekil 2.3. Mikroorganizmaların damar içi kateterlere giriş yolları. 15. kaynaktan alınmıştır.

1. Mikroorganizmalar kateter kanalından aşağı, yani kateteri yerleştirmek için oluşturulan 'yara' boyunca göç eder. Bu yolla hastanın derisindeki, kontamine olmuş dezenfektandaki veya sağlık çalışanlarının ellerindeki mikroorganizmalar enfeksiyona neden olabilir. Enfeksiyon, kontamine olmuş kateterin hastaya takılmasıyla veya kateter takıldıktan sonra herhangi bir zamanda mikroorganizmaların göçüyle ortaya çıkabilir. Bu yol, kısa süreli kateterlerdeki en sık enfeksiyon yoludur.

2. Hastaya iv. tedavi verilmesi ya da kateterden kan alımı gibi manipülasyonlar sırasında kateter hubunun sağlık çalışanları veya hastanın cilt florası ile kontamine olmasıyla enfeksiyon meydana gelir.

3. Başka bir enfeksiyon odağından köken alan kan dolaşımı enfeksiyonu olan hastada, kanda dolaşan bakterilerin intravenöz katetere tutunması, kolonize olup enfeksiyon oluşturmasıdır. Daha az sıklıkla görülür.

4. Kontamine infüzyon sıvısından bakteri bulaşıdır. Kontaminasyon, infüzyon sıvısının üretimi aşamasında olabileceği gibi sağlık çalışanlarının manipülasyonları sırasında da olabilir. Nadiren görülür.

Kateter lümeninde trombüs oluşumu da mikroorganizmaların kolonizasyonu için uygun bir ortam oluşturur (8).

Mikroorganizmaların enfeksiyon oluştururken, kateterler gibi tıbbi aletlerin yüzeyine tutunup çoğalmalarında, biyofilm oluşturabilme özelliklerinin önemli rolü vardır. Kan dolaşımı ve üriner sistemde olduğu gibi, mikroorganizmanın içinde bulunduğu sıvıda hafif akış olması, durgun sıvılara nisbeten biyofilm oluşumuna daha uygundur (39).

2.6. Biyofilm

Biyofilm; mikroorganizmaların yüzeylere geri dönüşümsüz tutunarak, kendi ürettikleri polisakkarit, ekstraselüler DNA ve proteinlerden oluşan matriks içinde gömülü olarak yaşayıp çoğaldıkları bir mikro-ekosistemdir (40). Tutunulan yüzeyler, toprak, su boruları, kalıcı tıbbi cihazlar gibi cansız yüzeyler, ya da diş minesi, kalp kapakları, akciğer gibi canlı yüzeyler olabilir (41).

2.6.1. Biyofilmin Tarihçesi

Van Leeuwenhoek 17. yüzyılda, kendi oluşturduğu basit mikroskoplarıyla diş plağını inceleyerek mikroorganizmaları gözlemlediği ve fark etmeden biyofilm yapısı hakkında da ilk bilgileri saptadığı bildirilmektedir (42).

Bakterilerin yüzeylere yapışması, topluluk oluşturması ve çoğalmasını ifade eden ‘film’ terimi deniz mikrobiyolojisinde, yapışan (sessile) bakterileri, serbest haldeki 'planktonik' bakterilerden ayırt etmek için 1933-1935 yıllarında kullanılmıştır (43, 44).

Bilim adamları deniz, göl ya da diğer kaynaklardan alınan sulardaki bakterilerin çoğalmalarını inceleyerek biyofilm oluşumuyla ilgili önemli bilgilere

ulaşmışlardır. Henrici (1933), tatlı sulardaki biyokirliliği incelemek için, göl suyuna cam slaytları batırarak, slaytlardaki bakteri üremesini direkt mikroskopi yöntemini kullanarak incelemiş, su altında bekletilen slaytlarda kısa sürede bakteri depozitinin ortaya çıktığını ve giderek arttığını keşfetmiştir. Çalışmasında su bakterilerinin çoğunlukla serbest yüzen organizmalar olmadığını, su altındaki yüzeylere bağlı olarak çoğaldığını bildirmiş ve bunu çizimleriyle açıklamıştır (43).

ZoBell ve Allen (1935) (44), Henrici (1936) (45), Hotchkiss ve Waksman (1936) (46), ZoBell (1937) (47), Waksman ve Vartiovaara (1938) (48) çalışmalarında, sularda yaşayan birçok bakterinin katı yüzeylere tutunarak ürediğini belirtmişlerdir. ZoBell (1937) bunun sebebi olarak besin maddelerinin katı yüzeylerde konsantre olabileceğini öne sürmüştür (47).

ZoBell ve Allen (1935) deniz suyuna daldırdıkları cam slaytların üzerinde üreyen organizmaları incelemişlerdir. Bakterilerin cam slayta ilk olarak geçici olarak bağlandığını, birkaç dakika sonra yüzeye yapıştığını, eğer bakteri yüzeye tutunma özelliğine sahipse ve büyümesinin logaritmik fazındaysa sıkı bağlanmanın 1-2 saat sonra oluştuğunu ve bu aşamada mikro-koloniler oluşturan bakterilerin akan su ile yıkanarak cam slayttan ayrılmadığını belirtmişlerdir (44). Heukelekian ve Heller (1940), denizdeki mikroorganizmaların eğer biyolojik olarak aktif slime oluşturabilirlerse biyolojik reaksiyonlarının büyük ölçüde hızlandığını gözlemlemiştir (49).

Biyofilm konusu çevre mikrobiyolojisi alanında geniş çaplı araştırılırken, tıp alanındaki önemine dair yapılan çalışmalar çok daha ileri tarihlerde olmuştur.

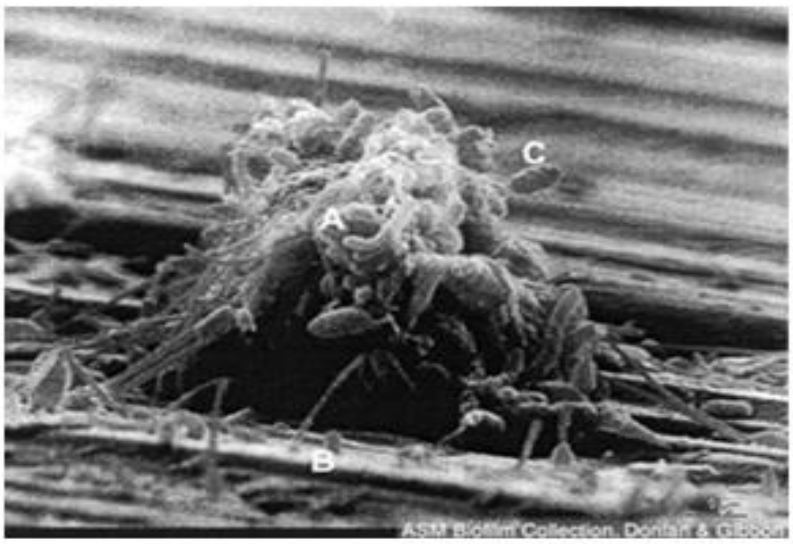
'Biyofilm' kelimesi tıbbi raporlarda ilk defa 1981 yılında İsveç'te dişçiler tarafından kullanılmıştır (50, 51). Aynı yılda, Costerton'un da içinde bulunduğu bir grup araştırmacı, bir teknik mikrobiyoloji raporunda 'biyofilm' terimini kullanmıştır (52). Costerton sonraki yıllarda biyofilm çalışmalarına tıbbi mikrobiyoloji alanında da devam etmiş, biyofilm bakterilerinin planktonik fazdaki bakterilere kıyasla antibiyotiğe daha dirençli olduğunu göstermiştir (1985) (53). Costerton, doktor olmamasına rağmen araştırmalarıyla, tıp alanında biyofilm ve biyofilm enfeksiyonlarıyla ilgili yapılan çalışmalara öncülük etmiştir (54).

1980'den önceki yıllarda biyofilm çalışmaları temel olarak ışık mikroskopu, elektron mikroskopu ve kültür yöntemi kullanılarak yapılmaktaydı. İleriki yıllarda mikrotitre plak yöntemi (55), Live/Dead boyasının kullanımı (56), konfokal lazer taramalı mikroskop (KLTM) kullanımı (57) gibi yeni yöntemlerin uygulamaya girmesiyle biyofilmin yapısı, biyofilm oluşturan bakteriler ve biyofilm- enfeksiyon ilişkisi hakkında daha geniş bilgiler edinilebilmiştir.

2.6.2. Biyofilm Oluşumu-Yapısı

Genel olarak, mikroorganizmalar doğada iki biçimde bulunurlar; serbest halde veya biyofilm yapısının içinde. Serbest halde yaşayan planktonik formdaki mikroorganizmalar, olumsuz çevresel koşullarda, varlıklarını devam ettirebilmek için, bir yüzeye tutunup topluluk oluşturarak biyofilm yapısı meydana getirir ya da var olan bir biyofilme dahil olurlar.

Biyofilm yapısında bir veya birden çok mikroorganizma türü bulunabilir (58). Şekil 2.4'te bir biyofilm oluşumu görülmektedir.



Şekil 2.4. Biyofilm yapısının scanning- elektron mikroskobu ile görüntüsü. A: biyofilm, B: yüzey, C: biyofilme tutunan bir hücre. 41. Kaynaktan uyarlanmıştır.

Biyofilm oluşumunda; yüzeye (yüzeyin yapısı, düz yada pürtüklü oluşu), mikroorganizmaya ait özellikler (pili, fimbria, flajella, glikokaliks varlığı) ve çevresel faktörler (ısı, pH, karbon, oksijen, besin içeriği) önem taşır (41, 59).

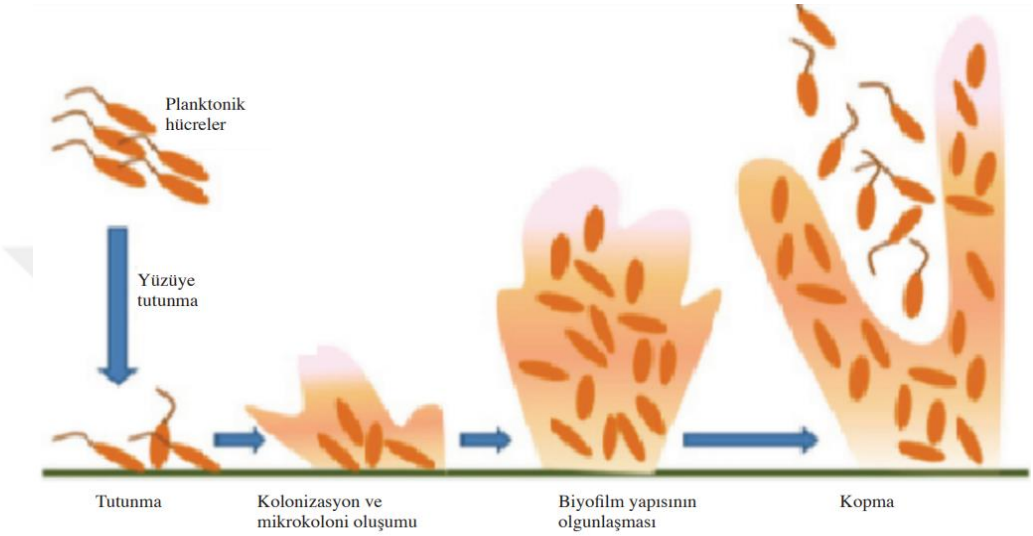
Biyofilm oluşumu çok aşamalı bir süreçtir (Şekil 2.5). Temel olarak dört aşamadan oluşur:

1) Yüzeye tutunma

2) Geri dönüşümsüz bağlanma

3) Mikrokoloni oluşumu

4) Olgunlaşma-Kopma



Şekil 2.5. Biyofilm oluşumunun evreleri. Altmış numaralı kaynaktan uyarlanmıştır.

Yüzeye tutunma: Planktonik haldeki mikroorganizmanın, bir yüzeye geri dönüşümlü olarak bağlandığı evredir. Zaman zaman yüzeye tutunma ve yüzeyden ayrılmalar gerçekleşebilir. Bakterinin pili, fimbria, flajel gibi yapılarının varlığı tutunmayı kolaylaştırır.

Geri dönüşümsüz bağlanma: Geri dönüşümsüz bağlanma aşamasında ise mikroorganizmalar, biyofilm yapısının ana bileşeni olan, ekzopolisakkaritler, ekstraselüler DNA (eDNA), protein ve lipitlerden oluşan ekstraselüler polimerik madde (EPS) sentezlerler. Bu aşamada mikroorganizma ile yüzey arasındaki bağı, yüzey proteinleri ve EPS sağlar. Geri dönüşümlü tutunmadan geri dönüşümsüz bağlanmaya geçiş aşamasında bis-(3′-5′)-cyclic dimeric guanosine monophosphate (c-di-GMP) ve cAMP ikincil haberci sistemleri rol oynamaktadır. Bu ikincil haberci sistemlerinin konsantrasyonu, mikroorganizmanın bulunduğu çevresel şartlar (örn: karbon, oksijen, sıcaklık) tarafından kontrol edilmektedir (59, 61).

Mikrokoloni Oluşumu: Yüzeye geri dönüşümsüz olarak bağlanan mikroorganizmalar bölünerek çoğalırlar, bir yandan da biyofilm yapısına çevreden planktonik bakterilerin katılmasıyla sayıca çoğalıp mikrokoloni oluştururlar. Mikrokolonilerin oluşumunda ve varlığını sürdürebilmesinde EPS kritik öneme sahiptir. Biyofilmin kuru kütlesinin % 90'ını oluşturan EPS, mikroorganizmaların yüzeye ve birbirlerine tutunmalarının yanı sıra, biyofilmin üç boyutlu yapısının korunması, olumsuz dış çevre koşullarından korunmak, Quorum Sensing (QS) sinyal molekülleri, hücre dışı enzimler, metabolik ürünlerin iletimi gibi fonksiyonlarıyla bir mikro-ekosistem oluşumuna katkı sağlar. Biyofilm yapısındaki su kanalları sayesinde su, besin maddeleri ve atık ürünler iletilir. Çevresel faktörler; EPS regülasyonunu, buna bağlı olarak da biyofilmin kalınlık, dansite gibi morfolojik özelliklerini etkiler (59). Biyofilm hücrelerinin içinde bulunduğu çevrenin fiziksel ve kimyasal özellikleri, kompleks düzenleyici mekanizmalarla, genlerde upregülasyon veya downregülasyon oluşturarak hücrenin davranış ve yaşam tarzında değişikliklere neden olmaktadır.

Olgunlaşma- Kopma: Uygun koşullar devam ettiğinde mikroorganizmalar sayıca artar ve biyofilm yapısı gelişir. Gelişme sürecinde mekanik etkilerle bir kısım hücreler biyofilmden kopabilir. Biyofilm yapısının büyüme potansiyeli, yakın çevredeki besinlerin mevcudiyeti, besin maddelerinin ve oksijenin biyofilm içindeki hücrelere perfüzyonu, atıkların uzaklaştırılması, ortam pH ve ozmolaritesi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Olgunlaşma aşamasının bir noktasında, sıcaklık değişimi, perfüzyon eksikliği, besin, oksijen ve karbon kaynaklarının yetersizliği veya toksik metabolik yan ürün birikimi gibi biyofilmin varlığını sürdürmesinin zorlaştığı durumlarda, tutunulan yüzeye en yakın olan alt katmanlardaki hücreler durağanlaşır veya ölür, matris bileşiklerinin sentezi azalır, matris enzimatik olarak ayrılır. Dış yüzeye yakın (yüzeyden en uzak) olan katmandaki bazı organizmalar ise biyofilm yapısından koparak planktonik forma geçer. Biyofilmden ayrılan bu mikroorganizmalar başka bir yüzeyde yeni bir biyofilm yapısı oluşturabilirler (62, 63). Ayrılma aşamasında, hücrenin gen regülasyonundaki değişiklikler rol alır. Flagella sentezi veya kemotaksis gibi hücre motilitesinde ve EPS'nin bozulmasında rol alan genler up-regüle olurken, fimbria sentezi gibi tutunmada ve polisakkarit sentezi gibi EPS üretiminde rol

alan genler down-regüle edilir. Hücre içi ikinci haberci c-di-GMP, gen regülasyonuyla yakından ilişkilidir. Transkripsiyon, enzim aktivitesi, ekzopolisakkarit, pili, adezinlerin sentezi, eDNA salgılanması, hücre ölümü ve hareketliliğinin düzenlenmesi gibi olaylarda etkindir (40). Hücre içi c-di-GMP seviyesindeki artış veya azalış, hücrenin planktonik yaşam sürdürmesi veya biyofilm oluşturması kararında anahtar rol oynar. Biyofilm oluşumu, c-di-GMP miktarı arttığında aktive olurken, planktonik yaşam özelliği baskılanır (64). Küçük RNA (sRNA) moleküllerinin bakterilerde, metabolizma, strese adaptasyon ve mikrobiyal patogenez ile ilgili posttranskripsiyonel gen regülasyonuna katıldığı ve bakteriyel biyofilmin düzenlenmesinde önemli rolü oynadığı bildirilmektedir (40).

Bir küçük ekosistem olan biyofilm yapısındaki organizmalar, birbirleriyle iletişim kurmak ve koordine hareket etmek için Quorum Sensing sistemlerini kullanmaktadırlar.

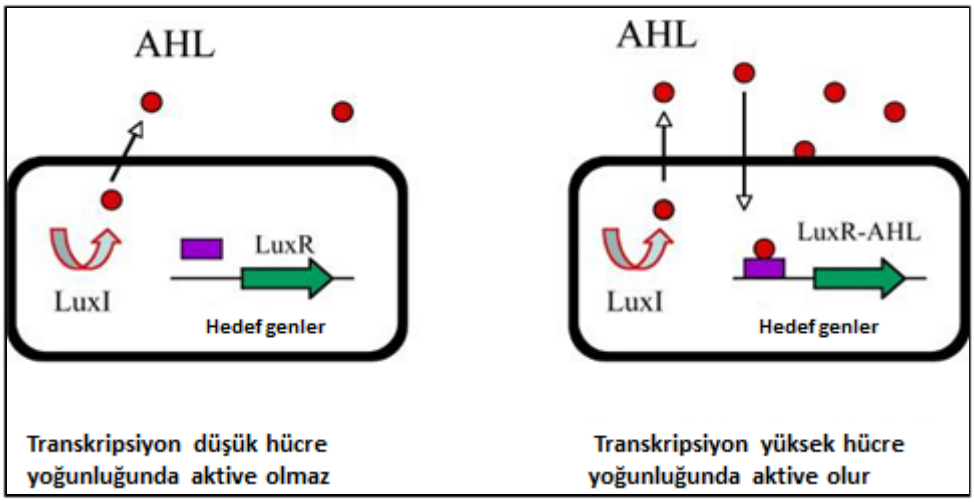
2.6.3. QS (Quorum Sensing)

Quorum Sensing, bir mikrobiyal iletişim mekanizmasıdır. "Quorum: yeterli çoğunluk" ve "sense: hissetme" kelimelerinden oluşmaktadır. Quorum sensing ile ilgili ilk çalışmalar, *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi* isimli mikroorganizmaların, denizde serbest yaşarken ışıma (biyolüminesans) yapmadıkları, ancak bir Havai mürekkep balığının ışıma organında kolonize olup belli bir konsantrasyona eriştiklerinde ışık yaymaya başladıklarının fark edilmesi ile ortaya çıkmış (65) ve sonrasında bu duruma neden olan mekanizmalar araştırılmıştır. Bakteriler, çevreye bazı kimyasal sinyal molekülleri (oto indükleyici = autoinducers) salgılayarak ve çevrelerindeki sinyal moleküllerini algılayarak birbirleriyle iletişim kurmaktadırlar. Tek bir bakterinin salgıladığı sinyal molekülünün konsantrasyonu, bir başka bakteri tarafından tespit edilemeyecek kadar düşüktür. Ortamdaki bakteri sayısı arttığında, ortama salınan oto-indükleyici konsantrasyonu da artar. Bakteriler, çevrelerindeki belli bir eşik seviyesine ulaşan oto-indükleyici konsantrasyonunu algılar ve buna karşılık olarak hedef gen ekspresyonlarında değişiklik yaparak davranışsal bir tepki verirler. Bu sinyal-yanıt sistemlerini kullanarak davranışlarını popülasyon yoğunluğuna göre

düzenleyebilir, koordine olarak hareket edebilir ve adeta çok hücreli organizmalar gibi işlev görürler. QS, aynı türden bakteriler arasında, farklı bakteri türleri arasında olabildiği gibi, ökaryot-prokaryotlar arasında da iletişim amaçlı kullanılabilir (66). QS sistemleri ile topluluk halinde hareket edebilme özelliği mikroorganizmalara, biyolüminesans, daha uygun bir ortama/daha iyi besin kaynağına doğru hareket etme, sporülasyon gibi yeni büyüme biçimleri kazanarak zararlı ortamlardan korunma gibi farklı özellikler sunar (67). Birçok bakteri türünde QS, toksin salınımı, antimikrobiyal madde üretimi, virülans faktörlerinin üretimi, biyofilm oluşumu ve DNA konjugasyonu gibi faktörlerle de ilişkilidir. QS sistemlerinin denetiminde salınan bazı bakteri toksinlerinin, ortamdaki diğer bakteri türleriyle rekabette rol oynadığı, polimikrobiyal topluluklarda türe özgü dinamikleri etkilediği düşünülmektedir. Bu özellikleriyle QS sistemleri, enfeksiyon patogenezinde önemli rol almaktadır (68).

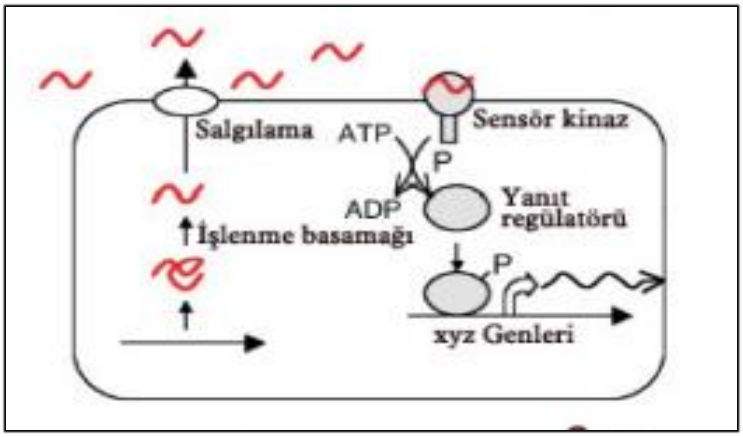
Quorum sensing sistemleri kompleks sistemlerdir. Mikroorganizmalar arasında sinyal tipleri, reseptörleri, sinyal iletim mekanizmaları ve hedef yanıtı gibi özelliklerine göre farklılık gösterebilirler. Yapısal olarak, QS sinyal molekülleri açil homoserin laktonları (AHL'ler), furanozil borat diesterleri (otoindükleyici-2=AI2), cis-2-doymamış yağ asitleri ve peptitler gibi çeşitli kimyasal sınıflara ayrılır (69). Bazı oto-indükleyiciler son derece türe özgü gibi görünse de son zamanlarda yapılan araştırmalar diğerlerinin cinse (genus) özgü olduğunu ya da cinsler arası iletişime katkı sağladığını göstermektedir (66, 70).

Gram negatif bakterilerin çoğu, sinyal molekülleri olarak N-açil homoserin laktonlarını (AHL veya AI-1) kullanırlar (Şekil 2.6). LuxI benzeri proteinler, AHL sentezinden sorumlu enzimlerdir. Dışarıya difüzyon ile salınan AHL konsantrasyonu, ortamda belirli bir eşik düzeye ulaştığında, difüzyonla membrandan içeriye girer. Sitoplazmada bulunan LuxR benzeri protein, AHL'nin tanınmasından sorumludur ve AHL'ye bağlandığında, spesifik promotöre bağlanarak hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder (71).



Şekil 2.6. Gram negatif bakterilerde LuxI/LuxR tipi QS mekanizması. LuxI benzeri protein, belirli bir açil-homoserin laktonunun (AHL) oluşumunu katalize eden bir otoindüktör sentazdır. AHL yüksek hücre yoğunluğunda, hücre zarı boyunca serbestçe difüze olur. LuxR, difüze olan AHL'ye bağlanan ve ardından hedef genlerinin transkripsiyonunu aktive eden bir transkripsiyonel düzenleyicidir. (71) numaralı kaynaktan uyarlanmıştır.

Gam pozitif bakterilerde QS, gram negatif organizmalardan farklıdır. Gram-pozitif bakteriler AHL sinyali yerine küçük peptit sinyal moleküllerini kullanırlar (Şekil 2.7). Bu peptit sinyalleri, membrana bağlı iki bileşenli sensör histidin kinazın ligandıdır. Bu iki bileşenli oluşum fosforillendiği zaman, hedef gen ifadesini değiştirebilmektedir (70).



Şekil 2.7. Gram pozitif bakterilerde QS sistemi. Kırmızı dalgalı çizgiler: oligopeptitler, xyz genleri: hedef genleri. 70 ve 72. kaynaklardan uyarlanmıştır.

Hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler “oto indükleyici-2” (AI-2) olarak adlandırılan QS sinyal moleküllerini kullanabilirler (66). Bu nedenle AI-2’nin bakterilerde türler arası iletişimi sağlayan bir sinyal olduğu ileri sürülmektedir (73). AI-2 üretiminden sorumlu olan gen LuxS’dir (70).

Mantarlarda da bakterilerde olduğu gibi, patogenez, virülans, biyofilm oluşumu gibi birçok populasyon düzeyinde davranışın QS ile düzenlendiği görülmüştür (74). QS mantarlarda, morfogenez, biyofilm oluşumu, besin rekabetinin kontrolü, kolonilerin yayılımı, hücre popülasyonunun sınırlandırılması gibi enfeksiyon oluşumuna katkıda bulunan davranışlarda da rol alır (75). Farnesol, tyrosol, phenilethanol, triptophol, mantarlarda kullanılan QS sinyal moleküllerinden bazılarıdır (76-78). Farnesol, ökaryotik bir mikroorganizmadan ilk izole edilen QSM’dir ve *C. albicans’tan* izole edilmiştir (79). Farnesolün, mantar hücrelerinde apoptozisi indüklediği, konakçı immün hücrelerinin farklılaşmasını ve sitokin salgılanmasını etkilediği gösterilmiştir (80-82). Farnesol ayrıca maya morfolojisinden hif morfolojisine geçişi engelleyip, hif morfolojisinden maya morfolojisine geçişi teşvik edebilir (79, 83). *Candida albicans* tarafından salgılanan bir başka QS molekülü olan Tyrosol, germ tüpü oluşumunun desteklenmesinde rol oynar (78).

2.6.4. Biyofilm Genleri

Mikroorganizmaların quorum sensing, adezyon, hücre duvar yapımı, metabolizma, stres yanıtı ve plazmide bağlanma gibi özellikleriyle ilgili genler, biyofilm oluşumunda rol alır (84). *Escherichia coli* biyofilmindeki gen ekspresyonunu, planktonik formdaki hücrelerin gen ekspresyonu ile karşılaştıran bir çalışmada, biyofilm hücrelerinde genomun %9'unun aktif hale geldiği ve %4,5'in baskılandığı, genel olarak 600'den fazla gende değişiklik olduğu görülmüştür (85). Farklı bakteri türlerinde, biyofilm oluşumunda yer alan fonksiyonlar arasında büyük farklılıklar vardır. Yapılan çalışmalara rağmen biyofilm oluşumunu yansıtan yaygın bakteriyel biyofilm geni ekspresyon paternlerini bulmak zordur (86).

Staphylococcus aureus izolatlarında “poli-N-asetilglukozamin (PNAG)” ve *S. epidermidis* izolatlarında “polisakkarit interselüler adezin (PIA)” olarak

adlandırılan hücre dışı polisakkaritler, biyofilm yapısının temel bileşenlerindendir (87). PNAG ve PIA sentezinde rol alan enzimler, ica (intercellular adhesin) operonu tarafından kodlanır. Bu operon, icaADBC genlerini içerir. Stafilokokların biyofilm oluşturma kapasitesinin icaADBC gen kümesini taşımasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir (87-90).

Acinetobacter baumannii, hastanelerde biyofilm enfeksiyonları oluşturması ve yaygın antibiyotik direnci nedeniyle son yıllarda oldukça önem kazanan bir bakteridir. Biyofilm oluşumunda dış zar proteinleri ve pili varlığı, eDNA gibi makromoleküler sekresyonlar etkindir. Bap, ompA, $bla_{PER-1,}$ epsA ve bfmS biyofilm oluşumuyla ilişkilendirilen virulans genlerindendir (91, 92). Bap geni, hücre yüzeyine bulunan bap (biyofilm ilişkili protein) proteinini kodlar. Bu protein, abiyotik yüzeylere tutunma aşamasından sonra biyofilm üretiminin başlamasına katkıda bulunur. Dış zar proteinlerinden olan ompA, ompA geni tarafından kodlanır, ökaryotik hücre adezyonunda rol alarak biyofilm oluşumuna katkıda bulunur. EpsA geni, ekzopolisakarit veya EPS olarak adlandırılan bir dış membran proteinini kodlar. EPS hücre yüzeyinde birikir ve sert dış ortam koşullarına karşı hücrenin korunmasını sağlar (92). Bla_{PER-1} geni, *A. baumannii'*nin klinik izolatlarının solunum epitel hücrelerine yapışma ve biyofilm oluşturma yeteneği ile ilişkili bulunmuştur (93). Bfms geninin de ökaryotik hücrelere yapışma ve abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşumunda etkin olduğu görülmüştür (94).

2.6.5. Biyofilm Enfeksiyon İlişkisi

Kronik bakteriyel enfeksiyonların %80'den fazlasının ve nazokomiyal enfeksiyonların %65'inin biyofilm nedenli oluştuğu gösterilmiştir (60). ABD'de yapılan bir çalışmada, santral venöz kateterlerde gelişen biyofilm enfeksiyonlarına bağlı ölüm oranı %3-8'dir (95).

Biyofilm oluşturabilme özelliği, mikroorganizmalar için bir virulans faktörüdür. Ekstraselüler polimerik madde sayesinde sıkı yapışma özelliği kazandıklarından, yüzeylerde kolonize olmaları kolay ve bağlı bulundukları yüzeyden uzaklaştırılmaları zordur.

Biyofilm yapısındaki mikroorganizmalar, içinde bulundukları ekosistem sayesinde kuruluk, dezenfektan, antibiyotikler gibi kimyasallar, pH, sıcaklık değişimi gibi olumsuz çevresel koşullardan korundukları gibi, büyüme hızlarını azaltarak, metabolizmalarını ve yaşam şekillerini değiştirerek besin azlığını daha iyi tolere edebilirler. Ayrıca gen ekspresyonlarında hızlı değişiklikler yaparak yüzey antijenlerini değiştirebilirler. Fagositler, oksijen radikalleri, proteazlar gibi vücudun savunma mekanizmaları biyofilm hücreleriyle savaşmada yetersiz kalır (96). Bütün bu özellikler sayesinde mikroorganizmalar çok farklı ortamlarda ve şartlarda uzun süre varlıklarını koruyabilirler.

Biyofilm, hastane ortamındaki yüzeylerde yaygın olarak bulunabilir ve mikroorganizmaların tıbbi alet ile ilişkili enfeksiyonlar ve kronik doku hasarıyla seyreden enfeksiyonlar oluşturmalarına neden olabilir (60, 97, 98) (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. Biyofilm enfeksiyonları ve ilişkili aletler. 41 ve 99 numaralı kaynaklardan uyarlanmıştır.

Biyofilm enfeksiyonu ilişkili tıbbi aletler	Biyofilm ilişkili doku enfeksiyonları
İntravenöz kateter	Kronik otitis media, Kronik sinüzit
Kontakt lens	Kronik tonsillit
Endotrakeal tüp	Diş plağı
İntrauterin alet	Endokardit
Pacemaker	Akciğer enfeksiyonu (Kistik fibrozis)
Periton diyaliz kateteri	Böbrek taşı
Üriner kateter	Safra yolu enfeksiyonu
Protez eklem	İdrar yolu enfeksiyonu
Timpanostomi tüpü	Vajinozis
Mekanik kalp kapağı	Osteomiyelit
Meme implantı	Kronik yaralar

Tıbbi araç veya biyomateryalde biyofilm oluşumu, cihazda fonksiyon kaybının yanı sıra hasta için sürekli bir enfeksiyon kaynağı olma riski taşır. Tedavide tıbbi aletin çıkarılması veya yenisiyle değiştirilmesi zorunlu olabilir. Bu durum iş gücü, maliyet ve komplikasyonlarda artışa neden olur.

Biyofilm enfeksiyonlarının saptanmasında da zorluklar yaşanabilir. Bu enfeksiyonlarda tekrarlayan negatif kültür sonuçları, biyofilmin olmadığı veya tedaviyle yok edildiği anlamına gelmez. Biyofilm hücreleri serbest halde olmadıklarından hastadan alınan örneğin kültüründe üretilemeyebilir. Hastaya uygulanan tedavi planktonik hücreleri öldürdüğünden kültürde mikroorganizma üretilemeyebilir. Ancak biyofilm yapısındaki mikroorganizmalar yaşamaya devam etmektedir (41). Bu aşamada asemptomatik olan hasta, immün direncinin düştüğü durumda akut enfeksiyon geçirebilir.

2.6.6. Biyofilm- Direnç İlişkisi

Biyofilm, yapısında bulunan mikroorganizmaları çevrenin olumsuz koşullarına, konağın savunma sistemlerine ve antimikrobiyallere karşı koruyan bir bariyer niteliğindedir. Tedavide kullanılan sistemik antibiyotikler serbest haldeki planktonik mikroorganizmalara etki edebilse de biyofilm yapısına gömülü mikroorganizmaları yok etmede kısıtlı etki gösterirler. Biyofilm hücrelerini yok etmek için gereken antibiyotik konsantrasyonu, planktonik formlarını öldürmek için gereken antibiyotik konsantrasyonunun 100 ila 1000 kat fazladır (96, 100-102). Buna yol açan nedenler arasında;

- Antimikrobiyallerin ekstraselüler matriksi aşarak biyofilm içine yeterli düzeyde nüfuz edememesi,
- Biyofilmin derin katmanlarındaki hücrelerin besin ve oksijen azlığına bağlı olarak metabolizmalarını ve büyüme hızlarını yavaşlatması, buna bağlı olarak Beta-laktam ve Kinolonlar gibi metabolik olarak aktif hücrelere etki eden antimikrobiyallere hassasiyetlerinin azalması,
- Dışa atım pompalarının ekspresyonunda artış,
- Ekstraselüler matriksteki enzimlerle inaktivasyon,
- Biyofilm hücrelerinde mutasyon hızının fazla olmasına bağlı olarak ilaç hedefinde mutasyon,
- Biyofilm hücreleri birbirlerine yakın olmaları nedeniyle konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon yoluyla horizontal gen transferinin

kolay olması sonucunda antimikrobiyal direnç genlerinin bu yollarla hücreler arasında aktarımı,

- Antimikrobiyal ajanların aktivitesini bozan biyofilm içi mikro çevredeki farklılıklar (biyofilmin derin katmanlarındaki anaerobik ortam, asidik artıklar nedeniyle meydana gelen düşük pH) sayılabilir (96, 102, 103).

Standart antimikrobiyal duyarlılık çalışmaları in vitro ortamda, antibiyotik ile optimal etkileşim gösteren planktonik formdaki bakteriler ile yapılır. Oysaki yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı antibiyotiklerin biyofilm içindeki mikroorganizmaları öldürmeleri zordur ve etkili olabilmeleri için daha uzun süreye ihtiyaç vardır. Biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik dozları standart uygulamaya göre planlandığında yetersiz kaldığından, direnç gelişimi ve tedavide başarısızlık görülebilir. Yeteri kadar yüksek dozda antibiyotik uygulaması ise toksisite ve yan etkiler nedeniyle mümkün değildir. Bu nedenlerden dolayı biyofilm enfeksiyonları, halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

2.6.7. Biyofilm Oluşumunu Saptama Yöntemleri

Biyofilm oluşumunu saptamak, biyofilm enfeksiyonlarıyla mücadele etme ve bu tür enfeksiyonları önlemeye yönelik çalışmalara ışık tutma açısından önem taşır. Biyofilm incelemelerinde çok sayıda in vitro yöntemden ve deney hayvanlarında gerçekleştirilen in vivo yöntemlerden faydalanılmaktadır (104). Kongo kırmızılı agar yöntemi, modifiye tüp aderans yöntemi (Modifiye Christensen yöntemi) ve mikroplak kullanılan yöntemler biyofilm oluşumunu saptamada sıklıkla kullanılan yöntemlerdir.

A) Fenotipik yöntemler:

1) Kongo kırmızılı agar yöntemi: Biyofilm oluşturma özelliği araştırılan bakteri, içeriğinde belirli miktarlarda sukroz, beyin kalp infüzyon buyyonu, kongo kırmızısı ve agar bulunan besiyerine ekilir. 37°C'de 24 saat inkübe edilerek üreyen kolonilerin rengine göre değerlendirme yapılır. Biyofilm

üreten bakteriler siyah-koyu kırmızı renkte, biyofilm üretmeyenler ise pembe-kırmızı renkte koloniler oluştururlar (105).

2) Standart cam tüp yöntemi: Cam tüplerdeki triptik soy buyyon (TSB) besiyerine bakteri ekilir. 37 °C'de 24-48 saat inkübasyon sonrası tüp içeriği boşaltılarak tüplere metilen mavisi eklenir. Belirli bir süre beklendikten sonra tüp içeriği boşaltılır. Tüpün iç çeperinde boyalı bir tabaka varlığı biyofilm oluşumu açısından pozitif olarak değerlendirilir (105).

3) Modifiye tüp aderans yöntemi (Christensen yöntemi): Glikozlu TSB besiyeri içeren tüplere bakterinin inokulasyonu ve 37°C'de 24-48 saat inkübasyonu ardından tüp içeriği boşaltılır ve fosfatla tamponlanmış salin (PBS) ile yıkanır. Daha sonra tüplere trypan blue, safranin veya kristal viyole koyulur. Bir süre bekletildikten sonra tüp içerisindeki boya dökülür. Boşaltılan tüpler kurutma kağıdı üzerinde ters çevrilerek kurumaya bırakılır. Tüplerin iç çeperinde renkli tabaka görülmesi, biyofilm oluşumu açısından pozitif sonuç olarak kabul edilir. Ayrıca tabakanın renginin koyuluğu ve kalınlığına göre suşların biyofilm oluşturma kapasitesi çok güçlü, güçlü ve zayıf olarak derecelendirilebilir (105).

4) Mikroplakların kullanıldığı yöntemler: Biyofilm oluşumunu saptamak amacıyla sıklıkla kullanılan, uygulaması kolay bir yöntemdir. Bu yöntemde genellikle 96 kuyucuklu düz tabanlı mikroplaklar kullanılmaktadır. Belirli hacimde sıvı besiyeri (glukoz içeren beyin-kalp infüzyon buyyon veya TSB) içeren mikroplak kuyucuklarına bakteri süspansiyonu inokule edilir ve uygun koşullarda inkübe edilir. İnkübasyon sonrası mikroplaklar ters çevrilerek kuyucuk içeriği boşaltılır. Boşaltılan kuyucuklar, PBS gibi uygun bir yıkama solüsyonuyla yıkanır. Bu şekilde biyofilm oluşturmayan bakteri hücreleri uzaklaştırılmış olur. Ardından kuyucuklara boya maddesi eklenerek bir süre beklenir. Bu aşamada kuyucukların yüzeyine biyofilm ile tutunmuş olan bakteri hücreleri boyanmaktadır. Kristal viyole en çok tercih edilen boyadır ancak safranin veya "trypan blue" boyası da tercih edilebilir. Boyama aşamasından sonra yıkama işlemi tekrarlanır. Oluşan biyofilme zarar vermemek için yıkama işlemlerinin dikkatle yapılması önemlidir. Yıkama sonrasında mikroplaklar oda ısısında kurumaya bırakılır. Ardından kuyucuklara etanol, asetik asit veya aseton gibi çözücü bir ajan eklenir. Mikroplaklardaki renklenme, spektrofotometre ile

değerlendirilir. Optik dansite değerlerine göre biyofilm varlığı ve derecesi (yüksek-orta-düşük) saptanabilir (105, 106).

Boyama yöntemleri:

1) Kristal viyole ile boyama: Biyofilm biyokütlesinin varlığını ve ölçümü için kullanılan ilk yöntemlerden biridir. Bu yöntemde biyofilm yapısındaki bakterilerin ve ekstraselüler matriksin negatif yüklü molekülleri, bazik bir boya olan kristal viyole ile boyanmaktadır. Boyama işleminden sonra, bir çözücü (örn: etanol, asetik asit) eklenmekte ve çözünmüş olan boya miktarı spektrofotometrik olarak değerlendirilmektedir (107).

2) Safranin ile boyama: Non-toksik olan safranin, oldukça toksik olan kristal viyole yerine tercih edilebilir (108).

3) 1,9-dimetil metilen mavisi (DMMB) yöntemi: Özellikle *Staphylococcus aureus*'un oluşturduğu biyofilmi ölçmek için kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Katyonik bir boya olan DMMB, biyolojik numunelerdeki glikozaminoglikanları (GAG) saptamak için yaygın olarak kullanılır. *Staphylococcus aureus* biyofilminin yapısındaki ekstraselüler matriksin temel bileşen olan interselüler polisakkarit adezinleri, GAG'lar ile yapısal olarak benzer olduğundan DMMB ile boyanır. Boyama işleminden sonra bir çözücü eklenerek biyofilm matriksi spektrofotometrik olarak değerlendirilir (107).

4) Floresein diasetat (FDA) yöntemi: Floresein diasetat; hücre membranını boyayan renksiz bir boyadır. FDA, bakteri tarafından alındıktan sonra, hücresel esterazlar ile sarı renkli floresans veren floreseine hidrolize edilir. Oluşan sinyal spektrofotometrik olarak ölçülür. Ölü hücreler FDA'yı metabolize edemediğinden floresan sinyali oluşturmazlar. Bu yöntem *C. albicans* biyofilmini ölçmek için kullanılmaktadır (107).

5) Ölü/canlı bakteri boyama (LIVE/DEAD BacLight boyama kiti) yöntemi: Bu yöntemde iki farklı nükleik asit boyası kullanılmaktadır. Birincisi, yeşil floresans veren Syto9 boyası, ikincisi ise kırmızı floresans veren propidyum-iodid boyasıdır. Syto9, bakterilerin tüm membranlarından geçebilir ve hem gram pozitif, hem de gram negatif bakterilerin DNA'sına bağlanabilir. Propidyum-iodid ise sadece hasarlanmış bakteri membranından geçebilme özelliğine sahiptir. Bu

yöntemde boyalı örnekler floresan mikroskopu kullanılarak değerlendirilir. Canlı bakteriler yeşil, ölü bakteriler ise kırmızı renkte görülür (107).

B) Metabolik Yöntemler:

1) Resazurin yöntemi: Alamar Mavisi olarak da bilinen Resazurin, canlı hücrelere zarar vermeyen bir biyolojik boyadır. Mavi, floresan olmayan resazurin boyası, hücresel metabolik aktivite sonucunda, pembe floresans veren rezorufine dönüştürülür. Floresans, spektrofotometrik olarak ölçülür. Resazurin, antimikrobiyallerle ilgili çalışmalarda canlı mikroorganizmayı saptamak ve biyofilmdeki canlı hücre sayısını ölçmek için kullanılmaktadır (107).

2) XTT yöntemi: Bu yöntemde bir redoks indikatör kullanılmakta, biyofilm yapısındaki canlı hücreler, spektrofotometre kullanılarak değerlendirilmektedir. Canlı hücreler, mikrobiyal respiratuvar metabolizmalar sonucunda 2,3-bis (2-metoksi-4-nitro-5-sülfonil)-5 [(fenilamino) karbonil] 2H-tetrazolyum hidroksit tuzunu (XTT), suda çözünebilen formazana indirgeyebilmektedir. XTT'nin metabolik indirgemesinden sonra, süpernatanın absorbansının ölçülmesi ile biyofilmdeki canlı hücre sayısı tespit edilebilmektedir (107).

3) Bio Timer yöntemi: Biyofilmi oluşturan canlı bakterilerin sayısını belirlemede kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Bu yöntemde fenol kırmızısı içeren spesifik bir belirteç kullanır. Bakterilerde fermentatif metabolizma sonucunda oluşan ürünler sayesinde, belirtecin rengi kırmızıdan sarıya dönmektedir. Rengin değişimi sırasında geçen süre; başlangıçtaki bakteri konsantrasyonu ile ilişkilidir (107).

C) Moleküler Yöntemler

1) Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR=PCR=Polymerase chain reaction) ve Gerçek Zamanlı Kantitatif-Revers Transkripsiyon PZR (qRT-PCR) yöntemleri: PZR yöntemiyle, her bir bakteri türüne ait spesifik genetik dizilerin varlığı tesbit edilebilir. Kantitasyon yapılamaması, hem ölü hem de canlı bakterilerin DNA'ları amplifiye edildiğiden canlı hücrelerin ayırt edilememesi, sensitivitesi yüksek olduğundan, kontaminasyon nedenli yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmesi dezavantajlarıdır. Gerçek Zamanlı Kantitatif-Revers Transkripsiyon PZR yöntemi ile bu dezavantajlar aşılmıştır. qRT-PCR, en güçlü

ve hassas gen analizi tekniklerinden biridir. Geleneksel PCR analizinde, sonuçlar reaksiyonun sonunda değerlendirilirken, qRT-PCR sırasında floresan sinyal, her amplifikasyon döngüsünde gerçek zamanlı olarak ölçülür ve üretilen amplikonların sayısı ile doğru orantılıdır (107).

2) Floresans in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi: Bu yöntemde, floresan boyalarla işaretli oligonükleotid probları kullanılmaktadır. Bu proplar, canlı hücrelerdeki rRNA'ya ya da bir hedefi temsil eden spesifik bir moleküle bağlanacak şekilde özel olarak dizayn edilebilir. Biyofilm birden fazla bakteri türü tarafından oluşturuluyorsa, bu yöntem kullanılabilir (107).

D) Fiziksel Yöntemler

1) Kütle spektrometrisi (Mass spectrometry): Çeşitli moleküllerin kimyasal özelliklerinin belirlenmesinde ve yapısı belirlenen materyalin kantitasyonunda kullanılan bir tekniktir. İncelenen örnekteki moleküller iyonlaştırılarak, bu iyonların kütle/yük oranına göre ayrılıp kaydedilmesi esasına dayanır. Elde edilen veriler maddenin kimyasal yapısıyla doğrudan ilişkilidir. Hem kalitatif hem de kantitatif sonuç elde edilebilir. Ancak pahalı, zaman alıcı, tecrübeli personel ve laboratuvar donanımı gerektiren bir testtir (107).

2) Konfokal lazer taramalı mikroskop (Confocal laser scanning microscopy= CLSM) yöntemi: CLSM, aydınlatma kaynağı olarak lazer ışınlarının kullanıldığı optik mikroskoptur. Numune genellikle spesifik floresan boyalarla boyanır. Mikroskop, X, Y ve Z eksenlerinde kesitler halinde görüntü alarak bunları birleştirir. Bu şekilde kalın biyolojik örneklerin (örn: mikrobiyal biyofilm) üç boyutlu olarak görüntülenebilmesini sağlar (107).

3) Konfokal Raman mikroskop (Confocal-raman microscopy= CRM): Raman spektroskopi yönteminde, bilinen dalga boyunda bir elektromanyetik lazer ışını analiz edilecek numuneye çarpar. Saçılan ışınımını ve enerjideki değişimi ölçerek, numunenin kimyasal özellikleri hakkında bilgi edinilir. Bu yöntemle kalın biyofilm tabakası içinde bir araştırma yapmak zordur. Raman ve CLSM (CRM) yöntemleri birleştirilerek, daha ayrıntılı mikrobiyal biyofilm çalışmaları yapılabilmektedir (107).

4) Elektron mikroskobisi (Electron microscopy): Elektron mikroskobu tekniğinde ışık kaynağı olarak elektronlar kullanılır. Analiz edilen örnekten saçılan elektronların görüntülenmesi esasına dayanır. Elektronlar, ışığa kıyasla daha kısa dalga boyuna ve yüksek enerjiye sahiptir. Elektron mikroskobunun olanak sağladığı büyütme oranı ve çözünürlük, standart ışık mikroskoplarına oranla çok daha fazladır. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM), biyofilmin iç yapısının ve hücre içi özelliklerin görüntülenmesi için çok avantajlıdır ancak numunenin ultra ince dilimler halinde hazırlanmasını gerektirir. Aksine, scanning electron microscopy (SEM), mikrokolonilerin yüzeyini görselleştirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (107).

5) X-ray mikroskobu: Bu yöntemde örnek, bir X-ışını bandında elektromanyetik radyasyonla aydınlatılır. X-ray mikroskobu, biyolojik numunelerin yüksek çözünürlüklü görüntülerini elde etme imkanı sağlar. Çok pahalı ve kullanımının zor olması dezavantajlarıdır (107).

6) Tarayıcı uç mikroskobisi (Scanning probe microscopy): İncelenen örneğin yüzeyi nanometrik boyutlu bir prob ile taranmakta ve örnek topografik olarak tanımlanmaktadır. Bu teknolojilerin arasında yer alan atomik kuvvet mikroskobu (atomic force microscopy), bakteri hücreleri ve biyofilm gibi mikrobiyolojik numunelerin incelenmesinde kullanılmaktadır. Atomik kuvvet mikroskobunun yüksek çözünürlük (nanometre düzeyinde) sağlayabilme, numune hazırlığının kolay olması gibi avantajları vardır. Dezavantajı ise yalnızca numune yüzeyinin ve buna hemen yakın olan iç kısmın incelenebilmesidir. Genç biyofilmler bu yöntem için uygun numunelerdir ancak onlarca mikron kalınlığındaki eski biyofilmlerin iç tabakalarının incelenmesi zordur (107).

2.6.8. Biyofilm Önleme Çalışmaları

Biyofilm oluşumuyla mücadelede temel stratejiler:

- Bakterilerin yüzeye bağlanmasının ve engellenmesi (örn: yüzeyin antimikrobiyallerle kaplanması),
- Yüzeye bağlı bakterilerin hayatta kalmasını engellemek için nanopartiküller (Gümüş/Bakır) ve antibiyotik kullanımı,
- QS sistemlerinin modülasyonu,

- İkinci haberci sinyal sistemleriyle (c-di-GMP, c-di-AMP) etkileşim,
- Olgun biyofilm yapısının bozulmasıdır (örn: dispersin, DNaz bileşiklerinin kullanılması) (98, 109).

Bu stratejiler üzerine birçok çalışma yapılmasına rağmen klinik kullanıma girebilen uygulamalar çok kısıtlıdır ve ciddi biyofilm enfeksiyonlarının tedavisi halen çözülmesi zor bir problemdir.

2.7. KİKDE Etkenleri

Bir tek mikroorganizma türü KİKDE'ye neden olabileceği gibi, birden çok bakteri türü veya bakteri ve mantarlar birlikte etken olabilir (110).

Hastane kökenli KDE etkeni olan mikroorganizmalar genellikle cilt florasında yoğun olarak bulunan gram pozitif koklardır (111). Başta koagulaz negatif stafilokoklar olmak üzere, *Staphylocccus aureus*, aerobik gram negatif basiller ve *Candida albicans*, KİKDE etiyolojisinde sıklıkla rol oynayan mikroorganizmalardır (112, 113). Virüsler, parazitler ve küf morfolojisinde mantarların etiyolojideki rolüyle ilgili yeterli bilgi yoktur (6).

Gram negatif basiller, genellikle kontamine olmuş infüzyon sıvılarıyla ilişkilidir (112). *Stenotrophomonas maltophilia* bakteriyemisi kanser hastalarında genellikle SVK ile ilişkili olarak meydana gelen önemli bir sorundur (114).

Kanser hastalarına verilen kemoteröpetik ilaçların, intestinal mukozaya ciddi zarar vermesi nedeniyle, gastrointestinal sistemde kolonize olan *Candida* türleri mukozayı penetre ederek kan dolaşımına geçebilir ve kateter yüzeyinde yoğunlaşarak KİKDE oluşturabilirler (115). *Candida* spp. glikoz miktarı yüksek sıvılarda daha iyi biyofilm oluşturur. Parenteral beslenme sıvısı vermek için kullanılan kateterlerde fungal patojenlerin görülme oranı daha fazladır (8). *Candida parapsilosis*, sağlıklı kişilerin cildinde sıklıkla bulunur ve uygun şartlar yerine geldiğinde kateter ilişkili enfeksiyona yol açabilir (110).

Etkenlerin dağılımı ülkelere, hastanelere, bölümlere göre ve zaman içinde değişkenlik gösterebilir (20, 116, 117). Patojen sıklıklarını belirlemeye yönelik

çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bunlardan bazılarına ait veriler Tablo 2.6'da yer almaktadır.

Tablo 2.6. KİKDE etiyolojisinde rol alan mikroorganizmaların sıklıklarını bildiren bazı çalışmalar.

Çalışmanın 1. Yazarı	**Yılı**	**Yer**	**Hasta sayısı**	**En sık izole edilen ilk üç mikroorganizma, %**	**Mikroorganizma% Gram(+) bakteri, Gram(-) bakteri, *Canida* spp.**	**Özellik**	**Kaynak**
Hatipoğlu, Ç.	2007-2008	Türkiye (Ankara)	32	MRKNS, 25 *Enterococcus* spp., 25 *Candida albicans*, 12,5	59,3 9,4 31,3	YBÜ	(118)
Aktaş E.	2007-2009	Türkiye (Zonguldak)	28	*A.baumannii*, 39,2 MRKNS, 28,6 MSKNS, 7,14 *K. pneomoniae*, 7,14	46,4 53,6 0	-	(119)
Nielsen XC.	2002-2005	Danimarka	225	KNS, 44,7 Enterobacteriaceae, 33,2 *Enterococcus* spp., 10,8	64,7 33,2 14,4	Evde parenteral nutrisyon alan hastalar	(120)
Lorente L.	2000-2003	İspanya	53	KNS, 43,39 *S. aureus*, 16,98 *E. faecalis*, 9,43	71,7 22,6 5,7	SVK	(121)
Kendirli T.	2009-2011	Türkiye (Ankara)	23	*A. baumannii*, 25,8 KNS, 21,7 *K. pneumoniae*, 21,7	30,3 64,7 4,3	Çocuk YBÜ	(122)
Atilla A.	2008-2013	Türkiye (Samsun)	166	*A.baumannii*, 26 *Candida* spp., 21,4 *Staphylococcus* spp., 14,5	27 52 21	YBÜ	(123)
Parameswaran R.	2009	Hindistan	25	*S. aureus*, 40 *P. aeruginoza*, 16 *Candida* spp., 16	64 36 16	-	(124)
Santarpia L.	1995-2006	İtalya	169	*S. epidermidis, 51* *S. aureus*, 7	75 16 3	SVK, Evde parenteral nutrisyon alan hastalar	(125)
Advani S.	2003-2009	ABD	116	KNS, 13,6 *C. parapsilosis*, 12,9	37 38 25	Periferden yerleştirilen SVK, Çocuk	(126)

ABD'de yapılan bir çalışmaya (113) göre, 2011-2014 yılları arasında KİKDE etkenlerinin dağılımı Tablo 2.7'de verilmiştir.

Tablo 2.7. ABD'de 2011-2014 yılları arasında KİKDE etkenlerinin dağılımı. (113) numaralı kaynaktan uyarlanmıştır.

Patojen	**%**
KNS	16,4
Candida spp.	14,3
S. aureus	13,2
Enterococcus faecalis	8,4
Klebsiella spp.	8,4
Enterococcus faecium	6,8
Escherichia coli	5,4
Enterobacter spp.	4,4
Pseudomonas aeruginosa	4
Diğer *Enterococcus* spp.	2
Proteus spp.	0,8
Bacterioides spp.	0,5
Diğer mantarlar	0,8
Diğer patojenler	14,6
Toplam	100

Ülkemizde, Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı, etken dağılımı ve antibiyotik direnç raporunda (2017) bildirilen SVK ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu etkenleri Tablo 2.8'de yer almaktadır. Buna göre; gram (+) bakteriler: %31,9 (KNS: 16,3, *S. aureus*: %6), gram (-) bakteriler: %53,5 *(Klebsiella* spp.: %17,5, *Acinetobacter* spp.: %14,4) ve *Candida* spp.: %14,1 oranında görülmektedir (117).

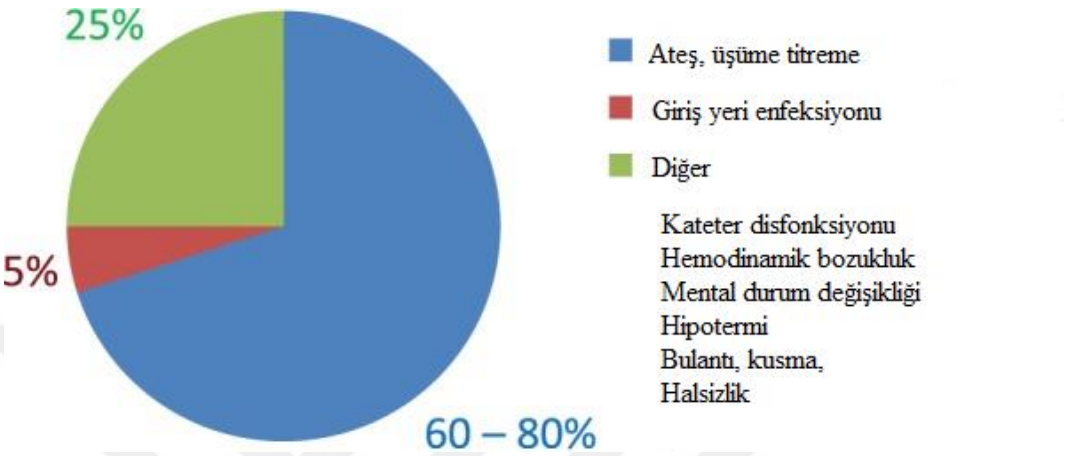
Tablo 2.8. UHESA etken dağılımı ve antibiyotik direnç raporuna (2017) göre KİKDE'ye neden olan patojenler ve sıklıkları. (117) numaralı kaynaktan uyarlanmıştır.

Patojen	**%**
KNS	16,3
Klebsiella spp.	17,5
Acinetobacter spp.	14,4
Candida spp.	14,1
Enterococcus spp.	8,6
S. aureus	6
Escherichia coli	5,5
Pseudomonas aeruginosa	5,4
Enterobacter spp.	3,2
Serratia spp.	2,2
Stenotrophomonas malthophilia	1,6
Proteus spp.	1
Streptococcus spp.	0,6
Burkholderia spp.	0,5
Diğer patojenler	3
Toplam	100

2.8. KİKDE Tanısı

KİKDE tanısı, intravenöz kateter takılı olan hastada, şüphe uyandıran klinik bulguların varlığında, doğrulayıcı testlerin yapılması ile konulur. Klinik bulgular değişkendir. Ateş ve/veya üşüme titreme, KİKDE tanısında en duyarlı bulgulardır ancak özgüllükleri düşüktür. Kateterin vücuda girdiği bölgede enflamasyon ve pürülan mayi varlığı gibi lokal bulguların özgüllüğü yüksek ancak duyarlılığı azdır. Sepsis bulguları, komplikasyonlara ait bulgular (örn: septik tromboflebit, endokardit, osteomiyelit, metastatik enfeksiyon) da görülebilir (127, 128). Kateter disfonksiyonu, hemodinamik bozukluk, mental durum değişikliği, hipotermi, bulantı, kusma, halsizlik görülebilen diğer klinik özelliklerdir (Şekil

2.8). Bazen komplikasyonlara ait bulgular KİKDE'nin ilk işaretleri olabilir (129). Ciltte kolonize halde bulunabilen KNS, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., *Candida* spp. gibi mikroorganizmalardan birinin, hastanın terkrarlanan kan kültürlerinde izole edilmesi de KİKDE'yi düşündürür (130).



Şekil 2.8. KİKDE ile ilişkili klinik özellikler. (129). kaynaktan uyarlanmıştır.

KİKDE tanısının doğrulanmasında bazı biyokimyasal veya radyolojik testlerden faydalanılabilmektedir. Ancak, etkenin saptanması, antimikrobiyal duyarlılık testlerinin çalışılıp uygun tedavinin belirlenebilmesi için mikrobiyolojik tanı testlerine ihtiyaç vardır. Sıklıkla kullanılan yöntem kültür yöntemidir.

"Kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu" diyebilmek için hastanın kan dolaşımı enfeksiyonuna, kateterinde kolonize halde bulunan mikroorganizmanın neden olduğu gösterilmelidir. KİKDE'nin kesin tanısı için temel olarak şu şartlardan biri yerine gelmelidir:

- Aynı organizmanın en az bir periferik venden perkutan alınmış kan örneği kültüründen ve kateter ucundan üretilmesi veya
- Biri kateterden biri de en az bir periferik damardan olmak üzere en az iki kan örneğinde KİKDE kriterlerine uyacak şekilde üreme olması veya
- Periferik venden kan örneği almanın mümkün olmadığı durumlarda, en az iki farklı kateterden alınan kan örneklerinin kantitatif kültürüne KİKDE kriterlerine uyan üreme saptanması (131).

Kateterin çıkarılması veya çıkarılmaması kararına bağlı olarak, mikrobiyolojik tanı için yapılan işlemler farklılık gösterir.

2.8.1. Kateterin Çıkarıldığı Durumda Tanı

Kateterin çıkarılmasının gerekliliğine karar verildi ise kateter çıkarılmadan önce, hem kateterden hem de periferik venden alınan kan setleri (bir kan kültürü seti, tek bir damar girişimiyle alınan kanın dağıtıldığı kültür şişelerinin tümüdür) ile birlikte, çıkan kateterin distal kısmı kültür yapılması için laboratuvara gönderilir. Etken mikroorganizmanın üretilebilme olasılığını artırmak için, kan kültür örneğinin antibiyotik tedavisi başlamadan önce alınması gerekir. Eğer antienfektif maddelerle kaplı bir kateterin kültürü yapılacaksa besiyerine spesifik inhibitör maddeler eklenmesi faydalıdır (131). Kontaminasyonu azaltmak için periferik venden kan örneği alınırken cilt temizliği yapılmalı ve kateter çıkarılırken aseptik teknik uygulamaya özen gösterilmelidir. Kateterin distal ucu kesilerek steril bir kap içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Avrupa Klinik Mikrobiyoloji ve Bulaşıcı Hastalıklar Derneği (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases-ESCMID) önerilerine göre 3- 4 cm'lik kateter ucu örneği yeterliyken (132), Klinik Mikrobiyoloji Uzmanlık Derneği (KLİMUD) ve Amerika Enfeksiyon Hastalıkları Derneği (Infectious Diseases Society of America-IDSA), kateterin distal 5cm'lik kısmının kültürünü önermektedir (131, 133).

a) Kantitatif kültür: Yıkama (flushing) yöntemi, vorteks yöntemi ve sonikasyon yöntemi, kantitatif kültür için kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemlerle, kateterin hem iç hem de dış yüzeyinde bulunan, biyofilm içinde gömülü haldeki mikroorganizmalar sıvı besiyeri içinde serbestleştirilir.

- Yıkama yönteminde kateter segmentinin içi ve dışı 1 ml sıvı besiyeri ile yıkanır.
- Vorteks yönteminde kateter segmenti, 1 ml sıvı besiyeri içeren tüpe konulup 1 dk vortekslenir.
- Sonikasyon yönteminde ise kateter segmenti, 10 ml sıvı besiyerine konulup 1 dk sonikasyon cihazında tutulduktan sonra 15 sn vortekslenir.

Üç yöntemde de, sıvı besiyerinden seri dilüsyonlar (1:10, 1:100) yapılıp 0.1'er ml alınarak agar yüzeyine ekilir. Besiyerleri üreme açısından günlük kontrol edilerek gerekirse 72 saate kadar inkübe edilir (133).

b) Semikantitatif kültür (Modifiye Maki yöntemi): Kateter ucunun kanlı agar yüzeyinde 4-5 kez ileri geri yuvarlanmasıyla ekim yapılan bu yöntem, sadece kateterin dış yüzeyindeki mikroorganizmaların kültürüne imkan sağlar (133). Kısa süreli kateterlerin kültürlerinde önerilir.

Kültür sonuçlarının değerlendirilmesi:

ESCMID'e göre, çıkarılmış olan kateterin, sonikasyon veya vorteksleme yöntemiyle yapılan kantitatif kültüründe $\geq 10^3$ KOB (koloni oluşturan birim)/ml üreme olması, KİKDE tanısında kateter kolonizasyonunu ile kontaminasyonunu ayırt ettirir (132). IDSA'ya göre kantitatif kültür (sonikasyon) yöntemiyle $>10^2$ KOB/ml üreme olması kolonizasyon oluştuğunu gösterir (131). KLİMUD, sonikasyon, vorteksleme veya yıkama (flushing) yöntemlerinden biriyle $>10^2$ KOB/ml üreme olmasını KİKDE açısından anlamlı kabul eder (133). Semikantitatif kültüründe ≥15 KOB/ml üreme, KİKDE tanısında kullanılan eşik değerdir (15, 132, 133). Kateter ucu üremesinin bu durumlardan birine uyması ve aynı zamanda periferik kanda da aynı mikroorganizmanın üremesi KİKDE tanısı koydurur (132, 133).

Kan kültüründe *S. aureus* veya *Candida* türleri ürediyse ve kateter ucunun kültüründe üreme olmadıysa, hastada başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülür (35, 133).

Periferik kan ve kateter ucu kültür sonuçları negatif ise KİKDE düşünülmez.

2.8.2. Kateterin Korunduğu Durumda Tanı

Kateterin çıkarılmasına gerek duyulmadıysa, KİKDE tanısı için bir set kateter lümeninden, bir set de periferik venden perkütan olarak, aynı zamanda ve aynı hacimde en az iki set kan örneği alınarak kültür için laboratuvara gönderilir. Etkenin saptanabilmesi için, yeterli hacimde kanın kan şişesine alınması önemlidir. Kan kültürü şişelerinin üzerine kanın alındığı yer (kateter/perifer) ve alınma zamanı mutlaka kaydedilmelidir. Bu örneklere iki çeşit kültür yöntemi uygulanabilir: üreme zamanının da belirtildiği kalitatif kültür yöntemi ve kantitatif kültür yöntemi. Bu iki yönteminin tanıda birbirine üstünlüğü yoktur ancak üreme

zamanı otomatik cihazlarla raporlandığından klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarında bahsedilen ilk yöntem daha kullanışlıdır (132).

a) Otomatize Kan Kültürü Sistemlerinin Kullanıldığı Durumda;

Kateterden alınan kan örneğinin kültüründe, eş zamanlı olarak hastanın periferik veninden alınan kan örneğinin kültüründen ≥120 dk daha erken üreme olduysa ve hastada başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülür (131-133). Süre farkının 120 dk'dan daha az olması KİKDE'yi ekarte ettirmez (133).

Kateterden ve periferik venden alınan kanlarda, antibiyotik duyarlılık testi (ADT) sonuçları da aynı olan aynı mikroorganizmalar ürediyse ve hastada başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülebilir (133).

b) Kantitatif Sonuç Alınan (örn: Lizis Santrifügasyon) Bir Kan Kültürü Yöntemi Kullanıldığında;

IDSA'ya (131) göre hem kateter hem de periferden alınan kanda aynı mikroorganizmanın üremesi durumunda ve kateterden alınan kanda üreyen koloni sayısının periferden alınan kanda üreyen koloni sayısından en az 3 kat fazla olması KİKDE'yi tanımlar. Türk Hastane İnfeksiyonları ve Kontrolü Derneği'nin kılavuzuna (15) göre bu oran 5 kat, KLİMUD'un rehberine (133) göre ise en az dört kat fazla ise ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülür. Hastadan periferik kan örneği alınamamış, sadece santral venöz kateterden kan alınmışsa ve kateterden alınan kanın kantitatif kültüründe >100 KOB/ml bakteri veya >25 KOB/ml mantar üremesi olduysa KİKDE tanısı konabilir (133).

Periferik venden kan kültürü alınamadığı durumda KİKDE tanısı için çok lümenli kateterlerde kateterin farklı lümenlerinden iki veya daha fazla kan örneği alınabilir. Bu kan kültürlerinden birinde üreyen koloni sayısının diğerinde üreyen koloni sayısından en az üç kat fazla olması, KİKDE'yi düşündürür (131).

Hastanın kan kültüründe *S. aureus* veya bir *Candida* türü üremiş ancak kateter ucu kültüründe üreme yoksa ve başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE düşünülebilir (133).

Periferik kan kültüründe üreme yokken, kateterden alınan kan kültüründe üreme olması, KİKDE tanısı açısından yeterli değildir. Her iki kan kültüründe üreme yoksa KİKDE düşünülmez (35, 132, 133).

Kandidemi durumunda etkenin kan kültüründe izole edilme ihtimali bakterilere göre daha zayıftır (134). Sistemik hastalık durumunda bile, kan kültürlerinde üreme görülmeyebilir. Örnek alınmadan önce başlanmış olan antifungal tedavi, mikrobiyolojik tekniklerin duyarlılığını önemli ölçüde etkileyebilir. Ayrıca, eş zamanlı alınan kan kültürlerinin tanıdaki değeri, mantar örnekleri için zayıf bir şekilde çalışılmıştır ve bakteriyel enfeksiyonlardaki kadar kesin değildir (132, 135).

Kültür yöntemi KİKDE tanısında sık kullanılır ancak nispeten geç sonuç verir ve bazı olgularda kateterin çıkarılmasını gerektirir. Ayrıca KİKDE şüphesiyle çıkarılan kateterlerin birçoğunun kültür sonucunda üreme olmadığı gösterilmiştir (136).

Kateteri çıkarmadan kolonizasyonu göstermek amacıyla bazı testler kullanılabilir:

- Gram boyama ve akridin oranj boyama yöntemleri: Basit, pahalı olmayan, 30 dk'da sonuç alınabilen hızlı tanıda faydalanılan yöntemlerdir. Kateter ucu (137, 138) veya kateter kanı örneği incelenebilir. Bu yöntemlerde inceleme için ışık ve ultraviyole mikroskop gereklidir. Sensitivite ve spesifiteleri %90'ın üstündedir (137, 139).

- Endoluminal Fırçalama Yöntemi de kateter çıkarılmadan uygulanır. Kateter birleşme yerinden ve lümen içinden fırçalama ile örnek alınır. Biyofilm ve trombüs içerisindeki mikroorganizmaların kültürde üretilebilmelerine olanak sağlar. Ancak geçici bakteriyemi, aritmi ve emboli gibi riskleri vardır (15). Güvenirliliği düşüktür, yaygın olarak kullanılmaz (139).

2.9. KİKDE Tedavi

Hastanın altta yatan hastalığı ve klinik durumunun ciddiyeti, muhtemel patojen, kateter çeşidi gibi faktörler göz önünde bulundurularak ampirik tedavi başlanabilir. Kültür örneklerinin, antimikrobiyal tedavi başlanmadan önce alınmasına dikkat edilmelidir.

Ampirik tedavi için, Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) prevalansının yüksek olduğu hastanelerde (MRSA izolatlarının çoğunun

vankomisin minimum inhibitör konsantrasyon değerlerinin >2 μg/ml olduğu hastanelerde) vankomisin önerilir. Linezolid'in ampirik tedavide kullanımı uygun değildir (131).

Gram-negatif basiller için ampirik tedavi, hastanenin kendi antimikrobiyal direnç verileri ve hastanın klinik durumunun ciddiyeti dikkate alınarak düzenlenir, örn: dördüncü kuşak sefalosporin, karbapenem veya β-laktam/β-laktamaz kombinasyonu tercihen bir aminoglikozid ile kombine edilerek verilebilir (131).

Total parenteral beslenme, uzun süre geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, hematolojik malignite, kemik iliği veya solid organ nakli, femoral kateterizasyon, *Candida* türlerinden dolayı birden fazla bölgede kolonizasyon gibi özelliklerden birine sahip hastalarda kandidemiye yönelik ampirik tedavi verilmelidir. Ekinokandin veya bazı durumlarda (*Candida krusei* veya *Candida glabrata* enfeksiyonu riskinin çok düşük olduğu hastanelerde, son 3 ay içinde azol grubu antifungal kullanmayan hastalarda) flukonazol kullanılarak uygulanmalıdır (131).

Kültür ve antimikrobiyal duyarlılık testleri sonuçlandığında tedavi bu sonuçlara göre yönlendirilir. Sadece kateter kolonizasyonu (klinik bulgu yokken kateter ucu kültüründe üreme olması, kateterden alınan kan kültüründe üreme olup periferden alınanın kan kültüründe üreme olmaması) söz konusuysa sistemik tedaviye gerek yoktur.

Tedaviyi planlarken kateteri çıkarma, çıkarmama (kurtarma) veya değiştirme gereksinimine karar vermek gerekir.

Kateter ilişkili enfeksiyonda kateter çıkarılması için endikasyonlar şunlardır:

- Uzun süreli kateterler, KİKDE hastalarında, şu durumlardan herhangi birinin varlığında çıkarılmalıdır (131, 139):
  - Şiddetli sepsis
  - Süpüratif tromboflebit
  - Metastatik komplikasyonların varlığı (örn: enfektif endokardit, pulmoner emboli, periferik emboli)
  - Uygun antimikrobiyal tedaviye rağmen >72 saat devam eden kan dolaşımı enfeksiyonu

- *Staphylococcus aureus, P. aeruginosa,* mantarlar veya mikobakterilerin neden olduğu enfeksiyon
- Kılavuz tel üzerinden değiştirilen SVK'de kantitatif veya semikantitatif kültür sonuçlarına göre kolonizasyon saptanması
- Antibiyotikler kesildikten sonra enfeksiyonun tekrarı.

- Kısa süreli kateterler, KİKDE etkeni gram negatif basil, *S. aureus,* enterokok, mantar veya mikobakteri ise çıkarılmalıdır. Periferik intravenöz kateterler beraberinde ağrı, endurasyon, eritem veya eksüda varlığında çıkarılmalıdır (131).

Kısa süreli veya uzun süreli kateter kullanımına bağlı gelişen, virulansı düşük ancak eradike edilmesi zor olan bakterilerin (örneğin, *Bacillus* türleri, *Micrococcus* türleri veya Propionibakteriler) etken olduğu kan dolaşımı enfeksiyonlarında, kan kültüründe kontaminasyon dışlandıysa genellikle kateter çıkarılır. Ancak *S. aureus, P. aeruginosa, Bacillus* türleri, *Micrococcus* türleri, Propionibakteriler, mantarlar veya mikobakteriler dışındaki patojenlere bağlı komplike olmayan KİKDE'de, sistemik tedavi ve antimikrobiyal kilit tedavisi birlikte uygulanarak kateter çıkarılmadan tedavi denenmelidir. Kateteri kurtarmak (çıkarmamak) için antibiyotik kilit tedavisi kullanılamıyorsa, kolonize kateter kullanılarak sistemik antibiyotikler uygulanmalıdır. Kateter çekilmeden uygulanan tedavi sonrasında tekrarlayan bakteriyemi riski yüksektir. Uygun antimikrobiyal tedavi başlandıktan 72 saat sonra alınan 2 set kan kültürü sonucu yine pozitif olursa, kateter çıkartılmalıdır (131). Acil şartlarda, aseptik tekniğe uyulmadan takılan PVK'lerin 48 saat içinde çıkarılıp başka bir bölgeden uygun şekilde yeniden takılması gerekir (15).

Tedavinin süresi, hastanın immun durumuna, etken olan patojene, süpüratif tromboflebit, endokardit, osteomiyelit gibi komplikasyonların varlığına göre değişkenlik gösterir.

Persistan kan dolaşımı enfeksiyonu, hastaya uygun tedavi uygulanmasından üç gün sonra etkenin kanda halen var olmasıdır. Persistan bakteriyemi, komplikasyon gelişimi ve hastalığın kötü seyri ile ilişkilidir. Relaps *S. aureus*'un etken olduğu persistan bakteriyemi vakalarında daha sıktır ve 12 hafta içinde ölüm görülebilmektedir. Persistan kandidemi vakaları da yüksek

mortalite oranına sahiptir (130). Kateterin çıkarılmasına rağmen persistan fungemi veya bakteriyemi görülen hastalara en az 4-6 hafta sistemik antibiyotik tedavisi verilmelidir (131).

Komplike KİKDE; endokardit, süpüratif tromboflebit, septik metastaz, ekstralüminal enfeksiyon veya septik şokun eşlik etmesi, hastada immün yetmezlik olması ya da uygun tedavinin başlanmasından 72 saat sonra ateş veya bakteriyeminin devam etmesidir. Bu durumdaki hastalar dikkatle izlenmeli, fokal ya da uzak enfeksiyöz komplikasyonlar açısından değerlendirilmelidir (130).

2.10. KİKDE'den Korunma

KİKDE, ciddi ama önlenebilir bir hastalıktır (140). Kateter enfeksiyonlarıyla mücadelede en etkili ve uygulaması en kolay adım, enfeksiyondan korunmaya yönelik önlemler almaktır. KİKDE'yi önleme çalışmaları multidisipliner olmalı ve işbirliği içinde yürütülmelidir (8).

SVK kullanımına bağlı KİKDE oluşma riski, PVK'lerinkinden çok daha yüksektir. PVK takılırken uygun şekilde cilt antisepsisi ve el hijyeni uygulamak yeterli iken SVK takılması sırasında daha fazla önlem alınmalıdır. Maksimum steril bariyer önlemlerinin (maske, bone, steril önlük, steril eldiven, büyük steril örtü) , standart önlemlere (steril eldiven, küçük örtü) kıyasla SVK nedenli KİKDE insidansını daha büyük oranda azalttığı gösterilmiştir (15).

KİKDE'den korunma amacıyla alınabilecek önlemler ve bunların uygulanması konusunda personele eğitim verilmesinin KİKDE insidansını azalttığı gösterilmiştir (141). İntravenöz kateter kullanımına bağlı enfeksiyon komplikasyon ve gereksiz maliyeti azaltmak amacıyla, intravenöz kateterin takılması ve bakımı konusunda uzmanlaşmış 'IV ekip' kurulmasının faydalı olduğu gösterilmiştir (142, 143). Mevcut hemşire sayısının yetersiz olmasının KİKDE insidansını artırdığı görülmüştür (144).

Piyasada farklı yapısal özelliklerde kateterler mevcuttur. Kateter seçiminde, kateterin elastisitesi, kırılmaya dayanıklılığı, tıkanma riski, gibi faktörler göz önünde bulundurulur. Kateter ilişkili enfeksiyon patogenezinde rol alan tıbbi cihaza ait faktörlerin enfeksiyonu engellemedeki rolleri üzerinde çok

sayıda çalışma yapılmıştır. Kateterin yapısal farklılıklarının enfeksiyon gelişme riskinde önemli bir fark oluşturduğuna dair kesin bir veri yoktur. Kateter yapımında kullanılan malzemelerin ve kateter yüzeyini antimikrobiyallerle kaplanmanın kateter kolonizasyonu ve KİKDE hızına etkisinde farklı klinik başarı oranları elde edilmiştir (98). Minosiklin-rifampisin kaplı kateterlerde kolonizasyon ve KİKDE riski klorheksidin-gümüş kaplı kateterlere göre, klorheksidin-gümüş kaplı kateterlerdeki riskin de antimikrobiyal kaplanmamış kateterlere göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (145).

Antimikrobiyal/aseptik kaplı kateterler kullanılırken de maksimal bariyer önlemlerine, aseptik tekniğe uyuma mutlaka dikkat edilmelidir. Bu kateterler enfeksiyon ihtimalini azaltsalar da bazı dezavantajları vardır; maliyetleri yüksektir, uzun süreli kateter kullanımında antimikrobiyal etkinlik devam etmez, mikroorganizmalarda direnç gelişimine neden olabilir ve antimikrobiyale karşı anaflaksi riski vardır (146, 147). Bu nedenlerden dolayı rutin olarak kullanılmaları uyun değildir, tüm önlemlerin alınmasına karşın KİKDE riski yüksek olan seçili hastalarda kullanılmaları önerilmektedir (146).

Kateterde oluşabilecek trombüs kümelerinin, mikroorganizmaların kolonizasyonunu için uygun bir ortam ve bir risk faktörü olabileceği düşünülerek, antikoagülan (heparin, warfarin) yıkama solüsyonlarının KİKDE'yi önlemedeki rolünü araştıran çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda antikoagülanların trombüs oluşumunu önlediği ancak KİKDE insidansında belirgin bir farklılık oluşturmadıkları gözlenmiştir (148, 149).

KİKDE'den korunmak için rutin kateter kültürü uygulaması önerilmemektedir. Yalnızca kateter kaynaklı enfeksiyon şüphesi varlığında kültür yapılmalıdır.

Sadece enfeksiyon gelişimini önlemek için SVK, hemodiyaliz kateteri, pulmoner arter kateteri ve pulmoner arter kateterlerinin rutin olarak değiştirilmesine gerek yoktur. Özellikle yoğun bakımda tedavi alanlarda ve çocuk hastalarda santral venöz kateterin çıkarılıp yerine yenisinin takılması zor ve komplikasyonlar nedeniyle risklidir. Bu nedenle KİKDE düşündüren bulgular varlığında kateterin çekilmesi kararı verilirken dikkatli olunmalıdır. Sadece ateşi olduğu için hastanın kateteri değiştirilmemeli, ateşe neden olabilecek diğer

nedenler gözden geçirilmelidir. PVK'lerin erişkinlerde 72-96 saatte bir, çocuklarda ise komplikasyon (örn: flebit) geliştiğinde değiştirilmesi önerilir. Hemodinamik takip yapılması gereken hastalarda pulmoner arter kateterlerinin 7 günden daha sık değiştirilmesi gerekmez. Yedi günden daha fazla ihtiyaç duyulan kateterlerin rutin olarak değiştirilmesiyle ilgili özel bir öneri yoktur (8). Kan ve kan ürünleri ile lipid emülsiyonlarının verilmesi amacıyla kullanılan infüzyon setlerinin, infüzyonun başladıktan sonraki 24 saat içinde değiştirilmesi önerilir (15).

Hastaneler, enfeksiyon kontrol uygulamalarındaki aksaklıkları zamanında saptayıp gerekli önlemleri almak amacıyla, sürveyans çalışmaları yapmalı, kendi KİKDE hızlarını hesaplamalı, bu hızların zaman içindeki değişimi izlemelidirler (15).

KİKDE'den korunma ile ilgili öneriler özet olarak şunlardır:

- Kateter kullanma endikasyonunu doğru şekilde koyulması,
- Kateter çeşidi, vücuda giriş yeri belirlenirken mümkün olduğunca enfeksiyon riski az olanın tercih edilmesi,
- Kateter takma işleminde enfeksiyon kontrol kurallarına uyum,
- Kateter kullanımında aseptik teknik kullanımına dikkat edilmesi,
- Kateter giriş yerinin günlük olarak gözlenmesi, bakımının uygun şekilde yapılması,
- Katetere ihtiyacın devam edip etmediğinin günlük olarak takip edilmesi ve kateterin hastada gereksiz takılı kalmasından kaçınılması,
- Bu konularda personele eğitim verilmesi, KİKDE'yi önlemeye yönelik prosedürler konusundaki bilgilerinin ve prosedürlere uyumlarının periyodik olarak değerlendirilmesi,
- Uzmanlaşmış "iv ekip" oluşturulması,
- Hemşire sayısının yeterli olması,
- Sürveyans çalışmaları ile KİKDE hızını ve zaman içindeki değişimini takip ederek gerekli önlemlerin zamanında alınması.

3. GEREÇ- YÖNTEM

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından; 03.01.2018 tarihinde 29 sayılı karar ile onaylanmıştır (Ek 1).

3.1. KİKDE Olan Hastaların Belirlenmesi:

1 Eylül 2018- 31 Ocak 2019 tarihleri arasında, kültür için laboratuvarımıza gönderilen kateter ucu, kateterden alınmış kan ve periferik kan örnekleri rutin işleme alınmıştır. Bütün bu örneklerin kültür sonuçları değerlendirilmiştir.

Kateter ucu örneğinden üreyen mikroorganizma sayısı en az 1000 CFU/ml olanlardan beraberinde periferik kan örneği gönderilmiş olup periferik kan örneğinde de aynı tür mikroorganizma üreyenler seçilmiştir. Bu hastaların klinik bilgileri, konsültasyon notları, diğer test sonuçları, verilen tedaviler incelenmiş, kültürde üreyen mikroorganizmayı açıklayacak başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE olarak kabul edilmiştir.

Kan kültürlerinin de sonuçları değerlendirilmiş, üremesi olan kateterden alınan kan örneklerinin, eş zamanlı periferik kan örneği gönderilip gönderilmediği değerlendirilmiş ve periferik kan örneğinde de kateterden alınan kandakiyle aynı türde mikroorganizma üreyenler seçilmiştir. Bu örneklerin cihazdan alınan üreme sinyali zamanları karşılaştırılmıştır. Kateterden alınan kandaki üreme sinyali, periferik venden alınan kanın üreme sinyalinden en az 120 dakika erken olanların ait olduğu hastaların klinik bilgileri, konsültasyon notları, diğer test sonuçları, verilen tedavileri yönünden incelenmiş ve kültürde üreyen mikroorganizmayı açıklayacak başka bir enfeksiyon odağı yoksa KİKDE olarak kabul edilmiştir.

Periferik ven kanında *S. aureus* veya *Candida* türlerinden biri üreyen ancak kateter ucu kültüründe üremesi olmayan hastalarda, üremeye neden olacak başka bir enfeksiyon kaynağı bulunamadıysa, klinik olarak KİKDE kabul edilmiştir.

3.2. KİKDE Etkeni Mikroorganizmaların Elde Edilmesi:

3.2.1.Kateter Ucu Örneklerinden Mikroorganizma İzolasyonu:

Kateter ucu örneğinin içi ve dışı 1 ml buyyon ile yıkanmış ve sıvı besiyerinin 1/10'luk ve 1/100'lük dilüsyonları hazırlanmıştır. Daha sonra her iki dilüsyondan 100'er µl'lik sıvı steril öze ile %5 koyun kanlı agar (Becton Dickinson, ABD), çikolata agar (Becton Dickinson, ABD) ve Mac Conkey agar (Becton Dickinson, ABD) plaklarına yaygın ekim yöntemiyle ekilmiştir. Koyun kanlı agar ve Mac Conkey agar plakları 35 °C'de 24 saat aerobik, çikolata agar plakları ise 48-72 saat %5 CO_2'li ortamda inkübe edilmiştir. Üreyen mikroorganizmalar tanımlanmış, isimleri ve üreme miktarları (KOB/ml) rapor edilmiştir.

3.2.2.Kan Kültürü Örneklerinden Mikroorganizma İzolasyonu:

Kateterden veya periferik venden alınan kan örneklerini içeren kan kültür şişeleri laboratuvarımızda BD Bactec FX (Becton Dickinson, Diagnostic Instrument System, USA) otomatize kan kültürü cihazına yüklenmiştir. Hastanemizde yetişkin kan örnekleri için BD BactecPlus aerobic/F, çocuk kan örnekleri için BD Bactec Peds Plus/F, anaerop kültür için BD Bactec Plus Anaerobic/F kültür şişesi kullanılmaktadır. Kan örnekleri cihazda üreme sinyali alınana kadar beş gün inkübe edilmiştir. Erişkin aerobik ve pediatrik kan örneklerinden üreme sinyali alınanların üreme zamanı kaydedilerek %5 koyun kanlı agar (Becton Dickinson, ABD), çikolata agar (Becton Dickinson, ABD) ve Mac Conkey agara (Becton Dickinson, ABD) ekimleri yapılmıştır. Koyun kanlı agar ve Mac Conkey agar plakları 35 °C'de 24 saat aerobik, çikolata agar plakları 48-72 saat %5 CO_2'li ortamda inkübe edilmiştir. Anaerobik örneklerden üreme sinyali alınanlar ise BD %5 koyun kanlı Brucella Agar (Becton Dickinson, ABD) ve BD %5 koyun kanlı Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agara (Becton Dickinson, ABD) ekilmiştir. Besiyerleri, anaerobik jarlar ve BD Gas Pak EZ anaerobe container system kullanılarak oluşturulan anaerobik şartlarda 35 °C'de

2-3 gün inkübe edilmiştir. Kültür sonuçları değerlendirilmiş, üreyen mikroorganizmalar tanımlanarak rapor edilmiştir.

3.3. Mikroorganizmaların Tanımlanması:

Tanımlama, matriks ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometresi yöntemi ile MALDI-TOF/MS (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) kullanılarak çalışılmıştır. Bu teknik mikroorganizmaların hızlı ve güvenilir bir şekilde tanımlanmasını sağlar (150, 151). Bu yöntemde araştırılan örnek, enerjiyi absorbe eden matriks ile kaplanır. Lazer atışları ile örnek iyonlaşır. İyonlar bir uçuş tüpü içinde kütlelerine ve yüklerine göre farklı hızlarda hareket edip sonunda bir dedektöre çarparlar. Dedektörden elde edilen veriler bilgisayar ortamında değerlendirilerek bir grafik halinde, örneğin peptid kütle parmak izi çıkarılır. Elde edilen grafik, sistemin veri tabanındaki referanslarla karşılaştırılarak uyuma göre mikroorganizma cins ve tür bazında tanımlanır (152).

Tanımlama işlemi için taze kültürü yapılmış mikroorganizmalar kürdanın ucuyla alınarak MALDI plağı üzerindeki noktalara yayılmış ve kurumaları beklenmiştir. Ardından her noktanın üzerine 1 µl matriks solüsyonu (α-cyano-4-hydroxycinnamic acid) ilave edilmiş ve kuruması beklenmiştir. Plak, MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Almanya) cihazına konularak Flex Analysis bilgisayar programı ile kütle spektrometreleri elde edilmiştir. Elde edilen protein profilleri Bruker BioTyper v3.1 (Bruker Daltonics, Almanya) yazılımı ve rutin veri tabanı kullanılarak incelenmiş ve mikroorganizmalar tanımlanmıştır. Firmanın önerileri doğrultusunda, cihazın verdiği tanımlama skor değeri 2,0'nin üzerinde ise güvenilir tanımlama, 1,7-2,0 arasında ise düşük düzeyde güvenilir tanımlama, 1,7'nin altında ise güvenilir olmayan tanımlama olarak kabul edilmiştir. Gerekli görüldüğünde tanımlama için konvansiyonel yöntemlerden faydalanılmıştır.

3.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Çalışılması:

KİKDE etkeni olduğu belirlenen bakterilerin antibiyotik duyarlılığı, Phoenix 100 BD otomatize sistemi (Becton Dickinson Diagnostic systems, Sparks, ABD) ile çalışılmıştır. Bu sistemde, Phoenix panelindeki mikrokuyucukların inkübasyonu esnasında devamlı okuma yapılması ve antimikrobiyallerin farklı konsantrasyonlarında bakteri üremesinin saptanması vasıtasıyla duyarlılık belirlenir.

Öncelikle uygun panel seçilmiştir. (Gram pozitif bakteriler için PMIC, gram negatif bakteriler için NMIC ve streptokoklar için SMIC panelleri kullanılmıştır). Steril eküvyon çubuk ile saf koloniden alınıp Phoenix ID Broth (4,5 ml) içinde karıştırılarak 0,5 Mc Farland bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonundan 25 µl alınıp bir damla AST indikatör solüsyonu damlatılan Phoenix AST Broth (8 mL) içerisine konulmuştur. Phoenix AST Broth solüsyonu panelin ikinci kuyucuğuna hava kabarcığı oluşturmadan dökülmüştür. Kapakları kapatılıp cihaza yüklenmiştir. 18-24 saat sonra çıkan antibiyogram sonuçları European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) önerilerine göre değerlendirilmiştir.

3.5. Biyofilm Yapısının Mikrotitre Plak Yöntemi İle Fenotipik Olarak İncelenmesi:

Sayıca nisbeten fazla olan KNS (35), *S. aureus* (16), *A. baumannii* (5), ve *P. aeruginosa* (5) suşlarında fenotipik biyofilm oluşumu, mikrotitre plak yöntemiyle incelenmiştir. Bunun için, -80'de saklanmış olan suşlar koyun kanlı agar besiyerine ekilerek 37 ^{0}C'de bir gece inkübe edilmiştir. Üreyen bakterilerden 5'er koloni, 3 ml %0,25 glukozlu TSB besiyerine ekilerek 37 ^{0}C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra %0,25 glukozlu TSB besiyeri ile 1/40 oranında dilüsyon uygulanıp, steril düz tabanlı 96 kuyucuklu mikroplaklara her izolat için üçer kuyucuk kullanılmak üzere 200 µl pipetlenmiştir. Plaklar 37 ^{0}C'de etüvde 24 saat inkübe edildikten sonra, kuyucuklar 200 µl PBS ile üç kez yıkanmış ve ters çevrilerek kuruması beklenmiştir. Daha sonra kuyucuklara 200 µl %1 kristal

viyole eklenerek 15 dakika bekletilmiş, ardından yıkama işlemi tekrarlanmıştır. Her bir kuyucuğa 200 µl etanol-aseton (80:20 v/v) pipetlenip plaklar 620 nm'de spektrofotometre cihazında (Multiskan GO, Thermo Scientific) okutulmuştur. Negatif kontrol olarak *E. coli* ATCC 25922 suşu, pozitif kontrol olarak da *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu kullanılmıştır. Biyofilm üretmeyen bakteriler: OD620 < 0,275, zayıf biyofilm oluşturanlar: 0,275 ≤ OD 620 < 0,550, orta derecede biyofilm oluşturanlar: 0,550≤ OD620 <0,825, kuvvetli derecede biyofilm oluşturanlar: 0,825 ≤ OD620 şeklinde sınıflandırılmıştır (153).

3.6. Biyofilm Oluşumunun Genotipik Olarak İncelenmesi

Tablo 3.1. Araştırılan biyofilm ilişkili genler ve primer bölgeleri

Mikroorganizma	Gen- Primer	Primer dizisi	Kaynak
S. aureus ve KNS	icaA-forward	GAGGTAAAGCCAACGCACTC	(89)
	reverse	CCTGTAACCGCACCAAGTTT	
	icaB-forward	ATACCGGCGACTGGGTTTAT	(89)
	reverse	TTGCAAATCGTGGGTATGTGT	
	icaC-forward	CTTGGGTATTTGCACGCATT	(89)
	reverse	GCAATATCATGCCGACACCT	
	icaD-forward	ACCCAACGCTAAAATCATCG	(89)
	reverse	GCGAAAATGCCCATAGTTTC	
A. baumannii	Bap-forward	ATGCCTGAGATACAAATTAT	(91)
	reverse	GTCAATCGTAAAGGTAACG	
	epsA-forward	AGCAAGTGGTTATCCAATCG	(154)
	reverse	ACCAGACTCACCCATTACAT	
	ompA-forward	CGCTTCTGCTGGTGCTGAAT	(154)
	reverse	CGTGCAGTAGCGTTAGGGTA	
	bla_{PER-1}-forward	ATGAATGTCATTATAAAAGC	(154)
	reverse	AATTTGGGCTTAGGGCAAGAAA	
	bfmS-forward	TTGCTCGAACTTCCAATTTATTATAC	(93)
	reverse	TTATGCAGGTGCTTTTTTATTGGTC	

Biyofilm ile ilişkili genlerden olan icaACBD genleri stafilokoklarda; bap, epsA, ompA, bla_{PER-1} ve bfms genleri *A. baumannii* kökenlerinde araştırılmıştır (Tablo 3.1).

3.6.1. DNA Ekstraksiyonu:

Bakteri hücrelerinden DNA ekstraksiyonunda Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit K0721 kullanılmıştır.

A) Gram pozitif bakterilerden DNA ekstraksiyonu:

Öncelikle kitte belirtilen şekilde Gram pozitif bakteri lizis tamponu hazırlandı. Bunun için;

Distile su	98,8 ml
Triton X-100 (Merck, Germany)	1,2 ml
2 mM EDTA (Sigma-Aldrich, USA)	0,074 gr
20 mM Tris-HCl	0,314 gr

kullanılarak 100 ml karışım elde edildi. Kullanımdan hemen önce 20 mg/ml lizozim eklendi.

Bir günlük taze bakterilerden steril öze ile 4 koloni alınarak 1 ml TSB içeren 1.5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

1) 5000xg'de 10 dakika boyunca santrifüj cihazında (Eppendorf Mini-Spin, Hamburg) santrifüj edildi. Süpernatant atıldı.

2) Pellet 180 µl Gram pozitif bakteri lizis tamponunda yeniden süspanse edildi. 37 °C'de 30 dakika boyunca inkübe edildi.

3) 200 µl Lizis Solüsyonu ve 20 µl Proteinaz K eklendi. Vortekslenerek karıştırıldı.

4) Örnekler 56 °C'de 30 dakika boyunca su banyosunda (M48K water bath, Elektro-mag, Turkey) bekletildi.

5) 20 µl RNase A Solüsyonu eklendi, vortekslendi ve karışım oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.

6) 400 µl %50 etanol eklendi, vortekslenerek karıştırıldı.

7) Hazırlanan lizat, bir toplama tüpüne yerleştirilmiş olan GeneJET Genomic DNA Purification kolonuna aktarıldı. Kolon, 6000 x g'de 1 dakika

santrifüj edildi. Toplama tüpü, içinde biriken çözeltiyle birlikte atıldı. GeneJET Genomik DNA Purification kolonu, yeni 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi.

8) 500 µl Wash Buffer I (etanol eklenmiş) eklendi. 8000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi. Üstteki çözelti dökülüp Purification kolonu toplama tüpünün içine yerleştirildi.

9) GeneJET Genomic DNA Purification kolonuna 500 µl Wash Buffer II (etanol eklenmiş) eklendi. Maksimum hızda 3 dakika santrifüjlendi. İçinde çözelti biriken toplama tüpü atıldı ve GenJET Genomic DNA Purification kolonu steril bir 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.

10) GeneJET Genomic DNA Purification kolonu membranının ortasına 200 µl Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi ve 8000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi.

11) Purification kolonu atıldı. Saflaştırılmış DNA -20 °C'de saklandı.

B) Gram negatif bakterilerden DNA ekstraksiyonu:

1) Bir günlük taze bakteri kolonisinden steril öze ile 4 koloni alınarak 1 ml TSB içeren 1,5 ml'lik bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı, 5000 x g'de 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Üstteki çözelti atıldı.

2) Pellet 180 µl Digestion Solüsyonu içinde tekrar süspanse edildi. 20 µl Proteinaz K eklendi. Vortekslenerek karıştırıldı.

3) Örnek, 56 °C'de su banyosunda 30 dakika inkübe edildi.

4) 20 µl RNase A Solüsyonu eklendi vortekslenerek karıştırıldı ve karışım oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.

5) Örneğe 200 µl Lysis Solüsyonu eklendi. Homojen bir karışım elde edilinceye kadar yaklaşık 15 saniye vorteksleyerek iyice karıştırıldı.

6) 400 µl %50 etanol eklendi ve vorteksleyerek karıştırıldı.

7) Hazırlanan lizat, bir toplama tüpüne yerleştirilmiş olan GeneJET Genomic DNA Purification kolonuna aktarıldı. Kolon 6000 x g'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama tüpü, içinde biriken çözeltiyle birlikte atıldı. GeneJET Genomik DNA Purification kolonu, yeni 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirildi.

8) 500 µl Wash Buffer I (etanol eklenmiş) eklendi. 8000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi. Üstteki çözelti dökülüp Purification kolonu toplama tüpünün içine yerleştirildi.

9) GeneJET Genomic DNA Purification kolonuna 500 µl Wash Buffer II (etanol eklenmiş) eklendi. Maksimum hızda 3 dakika santrifüjlendi. İçinde çözelti biriken toplama tüpü atıldı ve GenJET Genomic DNA Purification kolonu steril bir 1,5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.

10) GeneJET Genomic DNA Purification kolonu membranının ortasına 200 µl Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildi ve 8000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi.

11) Purification kolonu atıldı. Saflaştırılmış DNA -20 °C'de saklandı.

3.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

A) *S. aureus* ve KNS suşlarında PZR:

Her izolat için ayrı birer PZR tüpüne 10µl reaksiyon karışımı koyuldu.

Bileşenler	10 µl Reaksiyon karışımı
BrightGreen Express 2X qPCR MasterMix	5 µl
Primer Forward (10 µM)	0,3 µl
Primer Reverse (10 µM)	0.3 µl
Hedef DNA	2,5 µl
Nükleaz içermeyen H_2O	1,9 µl

PZR, CFX96 optik modülle donatılmış Bio-Rad C1000 Thermal Cycler cihazı kullanılarak, aşağıdaki döngü koşullarında gerçekleştirildi (155).

Sıcaklık	Süre	Döngü(ler)	
50 ° C	2 dk	1	
95 ° C	10 dk	1	
95 °C	15 sn	1	40 döngü
60 °C	1 dk	1	

B) *A. Baumannii* izolatlarında PZR:

Her izolat için ayrı birer PZR tüpüne 10 µl reaksiyon karışımı koyuldu.

Bileşenler	10 µl Reaksiyon karışımı
BrightGreen Express 2X qPCR MasterMix	5 µl
Forward (10 µM)	0,3 µl
Reverse (10 µM)	0.3 µl
Hedef DNA	2,5 µl
Nükleaz içermeyen H2O	1,9 µl

PZR, CFX96 optik modülle donatılmış Bio-Rad C1000 Thermal Cycler cihazı kullanılarak, aşağıdaki döngü koşullarında gerçekleştirildi (156).

Sıcaklık	Süre	Döngü(ler)	
95 ° C	2 dk	1	
95 ° C	1 dk	1	
55 °C	1 dk	1	30 döngü
72 °C	1 dk	1	
72 °C	10 dk	1	

Real-time PCR değerlendirmesinde, grafik üzerinden eğriler değerlendirilmiş ve melting curve analizi yapılmıştır. Araştırdığımız genleri taşıyan örneklerden birer tanesi seçilerek doğrulama amaçlı ticari olarak dizi analizi yaptırılmıştır.

3.7. Hasta Verilerinin Elde Edilmesi

Hastalara ait yaş, tanı, uygulanan tedavi, bulundukları bölüm gibi demografik bilgiler, hastanemizin MIA-MED bilgi sistemi kullanılarak elde edilmiştir.

3.8. Verilerin Analizi ve İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmanın istatistiksel analizi Akdeniz Üniversitesi İstatistik Danışmanlık Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından yapılmıştır.

Verilerin analizi SPSS paket programında yapılmıştır. Nominal değişkenler Pearson Ki-Kare testi ile değerlendirilmiştir. Gerekli olduğunda anlamlılık değeri için Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. İstatistiksel hata payı %5 kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, örneklerin incelemeye alındığı 1 Eylül 2018- 31 Ocak 2019 tarihleri arasındaki beş aylık sürede, toplam 19292 tane; kateter ucu, kateterden alınan kan veya periferik kan örneği kültür yapılması için laboratuvarımıza gönderilmiştir. Bunlardan 436 (%2,26) tanesi kateter ucu örneğidir. Kateter ucu örneklerinin 139 (%31,88) tanesinin kültüründe üreme olmuş, 297 (%68,12) tanesinin kültüründe üreme olmamıştır. Hastalardan eş zamanlı periferik kan örneği olmadan kateter örneği veya eş zamanlı kateter örneği olmadan periferik kan örneği alınıp gönderilen istem (KİKDE tanısı açısından uygunsuz istem) sayısı 5934'tür. Eş zamanlı kateter ve periferik kan örneği gönderilmiş olan istem sayısı 1390'dır. KİKDE açısından değerlendirmeye uygun olan bu örneklerin kültür sonuçları değerlendirildiğinde 83 ayrı hastada KİKDE olduğu saptanmıştır. Toplam KİKDE atak sayısı 89'dur. Dört olguda polimikrobiyal etkenler olmak üzere, KİKDE etkeni olarak toplam 93 mikroorganizma izole edilmiştir. Polimikrobiyal olgulardan izole edilen her mikroorganizma ayrı bir KİKDE olgusu olarak değerlendirilmiştir.

4.1. Risk Faktörleri

Hastaların 37 (%39,8)'si kadın, 56 (%60,2) erkektir. Yaşlar, bir ile 93 arasında değişmektedir (ortalama: 40,46). Çocuk hasta sayısı 33 (%35,5), erişkin hasta sayısı 60 (%65,5)'tır. Hastaların yaş dağılımı Tablo 4.1'de verilmiştir.

Çalışmamızda bakterilerin cinsiyete göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir (p=0.026). Gram negatif bakterilerin, gram pozitif bakterilere göre kadınlarda görülme oranı daha fazla (%61,1'e karşı %29,3); gram pozitif bakterilerin de erkeklerde görülme oranı, gram negatif bakterilere göre daha fazladır (%70,7'e karşı %38,9). Mantarların cinsiyete göre dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05).

Tablo 4.1. KİKDE hastalarının yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	Sayı	%
0-10	25	27
11-20	10	11
21-30	1	1
31-40	5	5
41-50	16	17
51-60	6	7
61-70	14	15
71-80	9	10
81-90	6	7
91-100	1	1
Toplam	93	100

KİKDE hastalarındaki altta yatan hastalıklar incelenmiştir. Tablo 4.2'de görüldüğü gibi solid tümörler 28 (%31,46), hematolojik maligniteler 20 (%22,47) ve kronik böbrek yetmezliği 11 hastada (%12,36) bulunarak en sık ilk üç hastalığı oluşturmaktadır. DM, tüm hastaların sekizinde var olup diğer hastalıklara eşlik etmektedir.

Tablo 4.2. KİKDE hastalarında bulunan altta yatan hastalıklar.

Altta Yatan Hastalık	Hasta Sayısı	%
Solid malignite	28	31,46
Hematolojik malignite (ALL AML NHL)	20	22,47
Kronik böbrek yetmezliği	11	12,36
Travma	5	5,62
Serebrovasküler olay- serebral palsi	5	5,62
Koroner arter hastalığı	4	4,49
Akut böbrek yetmezliği	3	3,37
Hemoglobinopatiler	3	3,37
İmmun Yetmezlik	2	2,25
Diğer	8	8,99
Toplam	89	100,00

KİKDE olduğu belirlenen 89 hastanın beşinden (%5,62) periferik kan örneğiyle birlikte kateter ucu örneği, 84'ünden (%94,38) ise periferik kan ile birlikte kateterden alınan kan örneği gönderildiği belirlenmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. KİKDE olduğu belirlenen hastaların tanısında kullanılan örneklerin özellikleri

Örnek Çeşidi	**Sayı**	**%**
Kateter ucu+periferik kan örneği	5	5,62
Kateter kanı+periferik kan örneği	84	94,38
Toplam	89	100,00

4.2. KİKDE- Bölüm İlişkisi

KİKDE olduğu belirlenen hastaların bölümleri ayrıntılı olarak incelendiğinde 55 hastanın (%61,80) servislerde, 23 hastanın (%25,84) yoğun bakımlarda ve 11 hastanın (%12,36) acil serviste bulunduğu belirlenmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. KİKDE ataklarının bölümlere göre dağılımı

Bölüm	**KİKDE Atak Sayısı**	**%**
Servisler	55	61,80
Yoğun Bakımlar	23	25,84
Acil Servis	11	12,36
Toplam	89	100,00

KİKDE hastalarına ait örneklerin gönderildiği bölümler Tablo 4.5'te yer almaktadır. En sık ilk üç bölüm; çocuk servisi (%20,22), anestezi YBÜ (%15,73) ve çocuk acil (%11,24)'dir.

Tablo 4.5. KİKDE ataklarının kliniklere göre dağılımı

Klinik	KİKDE atak sayısı	%
Çocuk servis	18	20
Anestezi YBÜ	14	16
Çocuk acil	10	11
Hematoloji	9	10
Dahiliye servis	8	9
Tıbbi onkoloji servis	8	9
Dahiliye YBÜ	4	4
Pediatri kök hücre	3	3
Pediatrik onkoloji	3	3
Göğüs cerrahisi YBÜ	3	3
Genel cerrahi servis	2	2
Kalp damar cerrahisi YBÜ	1	1
Nöroşirurji servis	1	1
Kardiyoloji servis	1	1
Çocuk cerrahisi servis	1	1
Pediatri YBÜ	1	1
Göğüs kalp damar servis	1	1
Acil servis	1	1
Toplam	89	100

YBÜ: Yoğun bakım ünitesi

4.3. KİKDE Etkenleri

KİKDE oldukları belirlenen hastalardan izole edilen mikroorganizmalar ve sıklıkları Tablo 4.6'da görülmektedir. KİKDE etkenlerinin çoğunu, *S. epidermidis* başta olmak üzere gram pozitif koklar oluşturmaktadır. KNS'ler, tüm etkenlerin %37,64'ini oluşturmaktadır. Tüm mikroorganizmaların 58 (%62,36) tanesi gram pozitif bakteri, 18 (%19,38) tanesi gram negatif bakteri, 17 (%18,28) tanesi *Candida* spp.'dir. Kandidalar içinde en sık *Candida albicans* izole edilmiştir. En sık izole edilen ilk üç mikroorganizma sırasıyla; *S. epidermidis* (%21,51), *S. aureus* (%17,20), ve *C. albicans* (%13,9)'tır.

Tablo 4.6. KİKDE etkeni mikroorganizmaların sıklıkları

Mikroorganizma	**Sayı (n)**	**%**
S. epidermidis	20	21,5
S. aureus	16	17,20
C. albicans	13	13,98
S. hominis	8	8,60
S. haemolyticus	7	7,52
A. baumannii	5	5,38
P. aeruginosa	5	5,38
Corynebacterium spp.	3	3,22
E. coli	3	3,22
Klebsiella pneumoniae	3	3,22
C. parapsilosis	2	2,15
C. glabrata	2	2,15
S. mitis	1	1,08
S. gordonii	1	1,08
E. faecium	1	1,08
E. faecalis	1	1,08
Stenotrophomonas maltophilia	1	1,08
Morganella morganii	1	1,08
Toplam	93	100,00

Not: Dört olguda polimikrobiyal etkenler izole edilmiştir.

Yoğun bakım üniteleri, servisler ve acil servisten sırasıyla 25 (%26,88), 56 (%60,22) ve 12 (%12,90) mikroorganizma izole edilmiştir. Mikroorganizmaların kliniklere göre dağılımı Tablo 4.7'de görülmektedir. Servislerde gram pozitif mikroorganizmaların görülme oranı (%71,4), yoğun bakımlarda gram pozitif mikroorganizmaların görülme oranından (36,0%) istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır (p=0,01). Acil serviste gram pozitif bakteri görülme oranı (%75,0) da yoğun bakımlara göre fazladır ancak acil servise ait örnek sayısı az olduğundan, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Mantarların YBÜ'de görülme oranı (%52,9), gram pozitif bakterilerin YBÜ'de görülme oranına (%15,5) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (p=0,01).

Tablo 4.7. KİKDE etkenlerinin bölümlere göre dağılımı

Bölüm / Etken	Yoğun Bakım		Servisler		Acil Servis		Toplam	
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
Gram pozitif bakteri	9	15,52	40	68,96	9	15,52	58	100,00
Gram negatif bakteri	7	38,89	8	44,44	3	16,67	18	100,00
Candida spp.	9	52,94	8	47,06	0	0,00	17	100,00
Toplam	25	26,88	56	60,22	12	12,90	93	100,00

Mikroorganizmaların cinsiyete göre dağılımı incelenmiş (Tablo 4.8), gram negatif bakterilerin kadınlarda görülme oranı (%61,1) gram pozitif bakterilerin kadınlarda görülme oranına (%29,3) göre; gram pozitif bakterilerin erkeklerde görülme oranı (%70,7) gram negatif bakterilerin erkeklerde görülme oranına (%38,9) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulunmuştur (p=0.026). Mantarlar kadın ve erkeklerde yakın oranlarda (sırasıyla %52,9 ve %47,1) görülmüştür.

Tablo. 4.8. Cinsiyete göre mikroorganizmaların dağılımı

Mikroorganizma	CİNSİYET				Toplam	
	Kadın		Erkek			
	Sayı	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**
S. epidermidis	3	15,00	17	85,00	20	100,00
S. haemolyticus	5	71,43	2	28,57	7	100,00
S. hominis	1	12,50	7	87,50	8	100,00
S. aureus	5	31,25	11	68,75	16	100,00
A. baumannii	4	80,00	1	20,00	5	100,00
P. aeruginosa	1	20,00	4	80,00	5	100,00
E. coli	2	66,67	1	33,33	3	100,00

Tablo. 4.8. (Devam) Cinsiyete göre mikroorganizmaların dağılımı

C. albicans	8	61,54	5	38,46	13	100,00
C. parapsilosis	0	0	2	100,00	2	100,00
C. glabrata	1	50,00	1	50,00	2	100,00
Corynebacterium spp.	1	33,33	2	66,67	3	100,00
K. pneumoniae	2	66,67	1	33,33	3	100,00
E. faecium	0	0	1	100,00	1	100,00
E. faecalis	1	100,00	0	0	1	100,00
S. maltophilia	1	100,00	0	0	1	100,00
S. mitis	0	0	1	100,00	1	100,00
S. gordonii	1	100,00	0	0	1	100,00
M. morganii	1	100,00	0	0	1	100,00
Toplam	37	39,78	56	60,22	93	100,00

4.4. KİKDE – Klinik Sonuç İlişkisi

KİKDE hastalarının klinik sonuçları incelendiğinde 70 (%78,65) hastanın taburcu olduğu, 19 (%21,35) hastanın exitus olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Bölüm-KİKDE klinik sonucu ilişkisi

	Klinik Sonuç				**Toplam atak**	
	Taburcu		**Exitus**			
	Sayı	**%**	**Sayı**	**%**	**Sayı**	**%**
Yoğun bakımlar	10	43,48	13	56,52	23	100,00
Servisler	49	89,09	6	10,91	55	100,00
Acil Servis	11	100,00	0	0	11	100,00
Toplam atak sayısı (%)	70	78,65	19	21,35	89	100,00

YBÜ'deki hastalarda exitus oranı (%56,0), servislerdeki hastaların exitus oranından (%10,7) istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulunmuştur (p<0,001).

KİKDE etkeni mikroorganizma grupları ve klinik sonuç ilişkisi incelenmiştir (Tablo 4.10). Gram pozitif bakterilerin taburculukla sonuçlanma oranı (%91,4), gram negatif bakterilerin (%61,1) ve mantarların (%52,9) taburculukla sonuçlanma oranından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır (p<0,001). Gram negatif bakterilerin exitus oranı (%38,9) ile mantarların exitus oranı (%47,1) birbirine yakın ancak gram pozitiflerin exitus oranına (%8,6) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (p<0,001). Taburcu olanlarda gram pozitif bakteri görülme oranı (%72,6), exitus olanlara (%25) göre fazla; exitus olanlarda ise gram negatif bakteri görülme oranı (%35) ve mantar görülme oranı (%40) taburcu olanlara (sırasıyla %15,1 %12,3) göre daha fazladır (p<0,001).

Tablo 4.10. Mikroorganizma grubu-klinik sonuç ilişkisi

	Klinik Sonuç		
	Taburcu n (%)	**Exitus n (%)**	**Toplam n (%)**
Gram pozitif bakteriler	52 (91,2)	5 (8,8)	57 (100)
Gram negatif bakteriler	11 (61,1)	7 (38,9)	18 (100)
Candida spp.	10 (55,6)	8 (44,4)	18 (100)
Toplam	73 (78,5)	20 (21,5)	93 (100)

Mikroorganizma türleri ile klinik sonuç ilişkisi de incelenmiştir. Bulgular Tablo 4.11'de yer almaktadır. Taburcu olanlarda *S. epidermidis* görülme oranı (%26) exitus olanlara (%5) göre daha fazla; exitus olanlarda ise *A. baumannii* görülme oranı (%15) ile *C. albicans* görülme oranı (%35,0) taburcu olanlara (sırasıyla %2,7 ve %8,2) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla bulunmuştur (p=0.017).

Tablo 4.11. Mikroorganizma-klinik sonuç ilişkisi

	Klinik Sonuç		
Mikroorganizma	**Taburcu n (%)**	**Exitus n (%)**	**Toplam n (%)**
S. epidermidis	19 (95)	1 (5)	20 (100)
S. haemolyticus	5 (71,4)	2 (28,6)	7 (100)
S. hominis	7 (87,5)	1 (12,5)	8 (100)
S aureus	15 (93,8)	1 (6,2)	16 (100)
Corynebacterium spp.	3 (100)	0	3 (100)
E. faecium	1 (100)	0	1 (100)
E. faecalis	1 (100)	0	1 (100)
S. mitis	1 (100)	0	1 (100)
S. gordonii	1 (100)	0	1 (100)
A. baumannii	2 (40)	3 (60)	5 (100)
P. aeruginosa	3 (60)	2 (40)	5 (100)
E. coli	3 (100)	0	3 (100)
K. pneumoniae	1 (33,3)	2 (66,7)	3 (100)
S. maltophilia	1 (100)	0	1 (100)
Morganella morganii	1 (100)	0	1 (100)
C. albicans	6 (46,1)	7 (53,9)	13 (100)
C. parapsilosis	2 (100)	0	2 (100)
C. glabrata	1 (50)	1 (50)	2 (100)

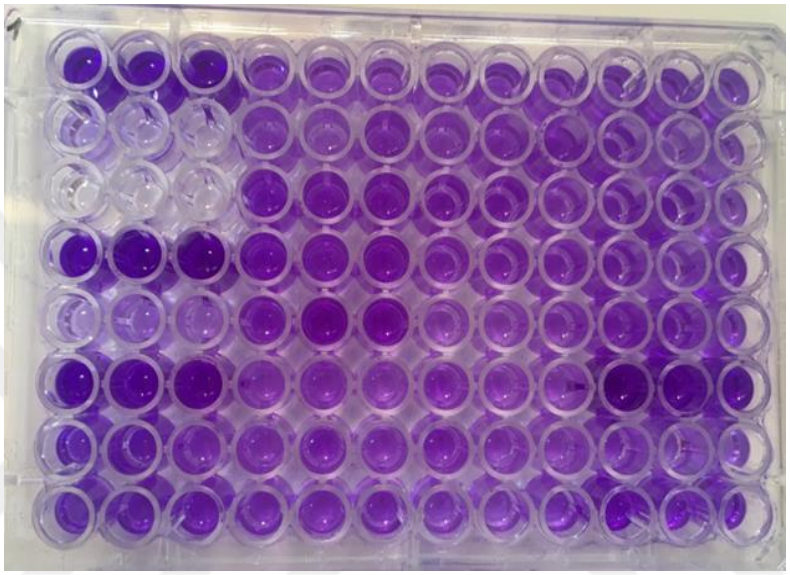
Karbapenem direnci sıklığının exitus olan hastalarda, taburcu olanlardakinden daha sık (%71,4'ye karşı %22,2) olduğu görülmüştür ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.126). Daha fazla sayıda örnekle yapılacak çalışmalarla aradaki ilişki daha iyi ortaya koyulabilir.

Karbapenem direnci en sık YBÜ'de, en az acil serviste görülmektedir. YBÜ, servis ve acil servisteki bakterilerin karbapeneme direnç oranları sırayla %83,3 (5/6), %28,6 (2/7) ve %0 (0/3)'dır.

4.5. Biyofilm Testleri

4.5.1. Biyofilm Üretiminin Fenotipik Olarak İncelenmesi

KNS, *S aureus, A. baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatlarının biyofilm oluşturma özellikleri mikrotitre plak yöntemiyle incelenmiştir. Şekil 4.1'de spektrofotometre ile değerlendirmeye hazır bir plak görülmektedir.



Şekil 4.1. Mikrotitre plak yöntemiyle fenotipik biyofilm oluşumunun incelenmesi, etanol-aseton karışımı eklendikten sonra plağın görüntüsü. Sol üst ilk sıradaki üç kuyucuk: pozitif kontrol; ikinci sıra ilk üç kuyucuk: negatif kontol (*E. coli* ATCC 25922); üçüncü sıra üç kuyucuk: sadece besiyeri içeren kuyucuklardır.

Biyofilm oluşumu gram pozitif ve gram negatif bakterilerde sırasıyla %86,3 (44/51) ve %100 (10/10) oranında pozitif bulunmuştur. Gram pozitif bakterilerin çoğunluğu (%52,9) zayıf, gram negatif bakterilerin çoğunluğu (%60) ise kuvvetli derecede biyofilm oluşturmuştur. Gram negatif bakterilerde kuvvetli biyofilm görülme oranı (%60,0), gram pozitif bakterilerde kuvvetli biyofilm görülme oranına (%19,6) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0.033).

Mikroorganizmaların fenotipik biyofilm oluşturma özellikleri Tablo 4.12'de görülmektedir.

Tablo 4.12. KİKDE etkeni bakterilerin fenotipik biyofilm oluşturma özellikleri

Mikroorganizma	Biyofilm Düzeyi				Toplam sayı (%)
	Yok (%)	Zayıf (%)	Orta (%)	Kuvvetli (%)	
S. epidermidis	2 (10)	9 (45)	2 (10)	7 (35)	20 (100)
S. haemolyticus	0	4 (57)	0	3 (43)	7 (100)
S. hominis	1(13)	5 (62)	2 (25)	0	8 (100)
S. aureus	4 (25)	9 (56)	3 (19)	0	16 (100)
A. baumannii	0	0	1 (20)	4 (80)	5 (100)
P. aeruginosa	0	2 (40)	1 (20)	2 (40)	5 (100)
Toplam	6 (10)	30 (49)	9 (15)	16 (26)	61 (100)

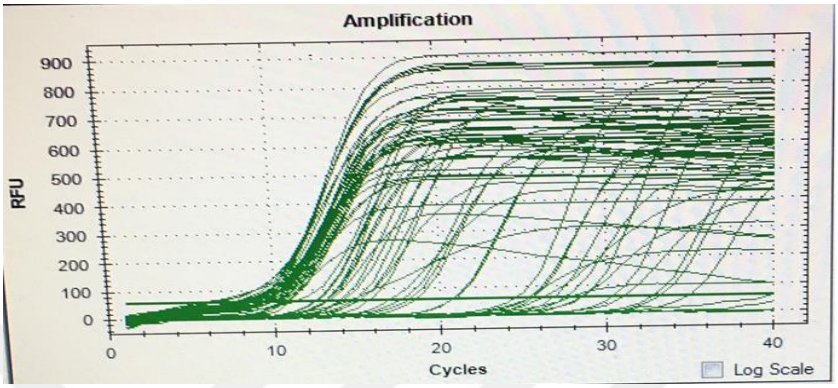
Gram pozitif bakterilerden KNS'lerin 32 (%91,4)'sinde biyofilm oluşmuş; %51,4 (18/35)'ünde zayıf, %11,4 (4/35)'ünde orta, %28,6 (10/35)'sında kuvvetli derecede biyofilm görülmüştür. Biyofilm, *S. aureus* izolatlarının 12 (%75)'sinde pozitif, dördünde (%25) negatiftir. İzolatların dokuzunda zayıf, üçünde orta derecede biyofilm oluşmuş, kuvvetli biyofilm oluşumu görülmemiştir.

Gram negatif bakterilerden *Acinetobacter baumannii* izolatlarının hepsinde biyofilm pozitiftir. Bunlardan birinde (%20) orta, dördünde (%80) kuvvetli biyofilm oluşumu görülmüş, zayıf biyofilm üretimi görülmemiştir. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının da hepsinde biyofilm pozitiftir, bunlardan ikisinde (%40) zayıf, birinde (%20) orta, ikisinde (%40) kuvvetli biyofilm oluşumu görülmüştür.

Fenotipik biyofilm üretiminin varlığı ile yaş, cinsiyet, kullanılan antibiyotik sayısı, metisilin direnci, karbapenem direnci, MDR (Multi drug resistant/çoklu ilaç direnci) olma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.5.2. Biyofilm Üretiminin Genotipik Olarak İncelenmesi

KNS ve *S. aureus* izolatlarında icaABCD genlerinin; *Acinetobacter baumannii* izolatlarında bap, ompA, bla_{PER-1}, bfms, epsA genlerinin varlığı real-time PCR yöntemiyle araştırılmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Real-time PCR yöntemiyle amplifikasyon ürünlerini değerlendirmek için cihazdan alınan bir görüntü

Pozitif birer örneğin, yaptırılan dizi analizinde aranan gen olduğu doğrulanmıştır.

IcaADBC genleri, KNS'lerde sırasıyla %51, %31, %43, %17 oranında; *S. aureus* izolatlarında ise %100, %94, %56, %94 oranında bulunmuştur (Tablo 4.13). Biyofilm varlığı ile icaADBC genleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). IcaAD birlikteliği KNS'lerde %23 (8/35) iken *S. aureus* izolatlarında %94 (15/16) olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$).

Tablo 4.13. Stafilokoklarda icaABCD genleri ve fenotipik biyofilm varlığı

Bakteri		**icaA**		**icaD**		**icaB**		**icaC**		**Biyofilm**	
		var	yok	var	yok	var	yok	var	yok	var	yok
S. epidermidis	n	8	12	2	18	6	14	2	18	18	2
	%	**40**	**60**	**10**	**90**	**30**	**70**	**10**	**90**	**90**	**10**
S. haemolyticus	n	6	1	3	4	2	5	1	6	7	0
	%	**86**	**14**	**43**	**57**	**29**	**71**	**14**	**86**	**100**	**0**
S. hominis	n	4	4	6	2	7	1	3	5	7	1
	%	**50**	**50**	**75**	**25**	**88**	**12**	**37**	**63**	**88**	**12**
S. aureus	n	16	0	15	1	9	7	15	1	12	4
	%	**100**	**0**	**94**	**6**	**56**	**44**	**94**	**6**	**75**	**25**
Toplam	n	30	16	22	24	22	24	19	27	44	7
	%	**65**	**35**	**48**	**52**	**48**	**52**	**41**	**59**	**86**	**14**

Acinetobacter baumannii izolatlarında bap, ompA, epsA, bfms ve bla_{PER-1} genleri sırasıyla %100, %100, %60, %100 ve %80 oranında saptanmıştır (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. *A. baumannii* izolatlarında biyofilm genleri ve fenotipik biyofilm oluşumu varlığı

		epsa		**ompa**		**blaper1**		**bfms**		**bap**		**Biyofilm**	
		var	yok	var	yok	var	yok	var	yok	var	yok	var	yok
A. baumannii	n	3	2	5	0	4	1	5	0	5	0	5	0
	%	**60**	**40**	**100**	**0**	**80**	**20**	**100**	**0**	**100**	**0**	**100**	**0**

4.5. Direnç Bulguları

Tüm stafilokoklar vankomisine duyarlı bulunmuştur.

Stafilokokların metisilin duyarlılıkları incelenmiş, bulgular Tablo 4.15'te verilmiştir. KNS'lerin %94,29 (33/35)'i metisiline dirençli, %5,71(2/35)'i duyarlıdır. *Staphylococcus aureus* izolatlarının ise metisiline direnç oranı daha az olup, %37,50 (6/16)'si metisiline dirençli, %62,50 (10/16)'si duyarlıdır.

Tablo 4.15. Stafilokoklarda metisilin direnci

	Metisilin Direnci				**Toplam**	
	Var		**Yok**			
Mikroorganizma	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
KNS	33	94,29	2	5,71	35	100,00
S. aureus	6	37,50	10	62,50	16	100,00
Toplam	39	76,47	12	23,53	51	100,00

Gram negatif bakterilerin %44 (7/16)'ü karbapenem dirençlidir. Karbapenem direnç oranları Tablo 4.16'da verilmiştir.

Çoklu ilaç direnci, gram pozitif bakterilerin %76,5 (39/51)'inde; gram negatif bakterilerin ise %81,3 (13/16)'ünde saptanmıştır.

Tablo 4.16. Gram negatif bakterilerde karbapenem direnci

	Karbapenem Direnci n (%)		**Toplam n (%)**
	Var n (%)	**Yok n (%)**	
A. baumannii	5 (100)	0	5 (100)
P. aeruginosa	2 (40)	3 (60)	5 (100)
K. pneumoniae	0	3 (100)	3 (100)
E. coli	0	3 (100)	3 (100)
Toplam	7 (44)	9 (56)	16 (100)

4.6. Biyofilm-Direnç İlişkisi

Biyofilm varlığı ve düzeyi ile metisilin direnci ilişkisi incelenmiştir (Tablo 4.17, Tablo 4.18).

Staphylooccus aureus izolatlarında metisiline dirençli olan toplam altı izolatın beşinde (%83,3) biyofilm oluşumu saptanmış, birinde (%16,7) saptanmamıştır. Metisiline duyarlı olan on izolattan yedisinde (%70) biyofilm saptanmış üçünde (%30) saptanmamıştır.

Tablo 4.17. MRSA ve MSSA izolatlarında biyofilm oluşumu

Biyofilm Düzeyi	**MRSA sayısı (%)**	**MSSA sayısı (%)**	**Toplam sayı (%)**
Yok	1 (25)	3 (75)	4 (100)
Zayıf	4 (44,44)	5 (55,56)	9 (100)
Orta	1 (33,33)	2 (66,67)	3 (100)
Kuvvetli	0	0	0
Toplam (%)	6 (37,5)	10 (62,5)	16 (100)

MRSA: Metisiline rezistan *S. aureus,* MSSA: Metisiline duyarlı *S. aureus.*

KNS izolatlarından metisiline dirençli olan 33 izolatın 30 (%90,9)'unda biyofilm saptanmış, üçünde (%9,1) saptanmamıştır. Metisiline dirençli olmayan iki izolatta zayıf derecede biyofilm saptanmıştır.

Tablo 4.18. MRKNS ve MSKNS izolatlarında biyofilm oluşumu

		MRKNS n (%)	**MSKNS n (%)**	**Toplam n (%)**
Biyofilm düzeyi	**Yok**	3 (100)	0	3 (100)
	Zayıf	16 (88,89)	2 (11,11)	18 (100)
	Orta	4 (100)	0	4 (100)
	Kuvvetli	10 (100)	0	10 (100)
Toplam		33 (94,28)	2 (5,72)	35 (100)

MRKNS: Metisiline rezistan KNS, MSKNS: Metisiline duyarlı KNS.

Gram negatif bakterilerden fenotipik biyofilm testi yapılmış olanlarda (beş *A. baumannii*, beş *P. aeruginosa*) biyofilm oluşumuyla karbapenem direnci ilişkisi araştırılmış, bulgular Tablo 4.19'da verilmiştir. Tamamı biyofilm oluşturmuş olan bu bakterilerin yedisi (%70) karbapeneme dirençli, üçü (%30) karbapeneme duyarlı saptanmıştır. Kuvvetli biyofilm oluşturma özelliğiyle karbapenem direnci karşılaştırıldığında ise daha büyük bir fark bulunmuş; altı suşun beşinin (%83,33) karbapeneme dirençli, sadece birinin (%16,67) duyarlı olduğu saptanmıştır. Kuvvetli biyofilm varlığı ile karbapenem direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (p=0,5) Ancak daha fazla sayıda örnekle yapılacak çalışmalarla, ilişki daha iyi ortaya konulabilir.

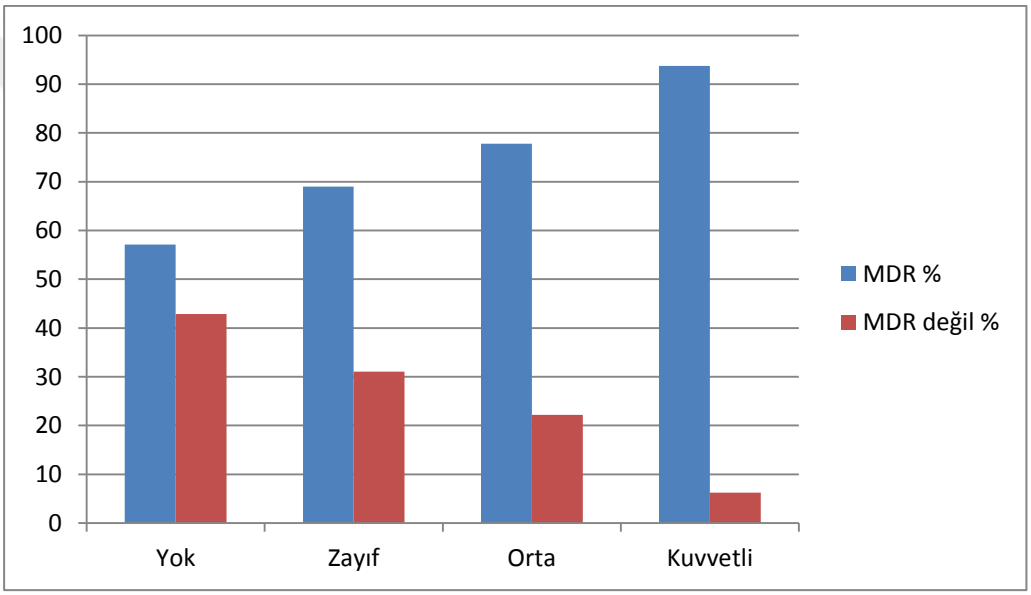
Tablo 4.19. Gram negatif bakterilerde karbapenem direnci ile biyofilm oluşumu ilişkisi

	Karbapenem dirençli mi?				**Toplam**	
	Evet		**Hayır**			
Biyofilm düzeyi	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Yok	0	0	0	0	0	0,00
Zayıf	0	0	2	100,00	2	100,00
Orta	2	100,00	0	0	2	100,00
Kuvvetli	5	83,33	1	16,67	6	100,00
Toplam	7	70,00	3	30,00	10	100,00

Bakterilerin biyofilm oluşturma özellikleriyle MDR olma ilişkisi de incelenmiş (Tablo 4.20), biyofilm düzeyi arttıkça MDR olma oranın da arttığı saptanmıştır (Şekil 4.3).

Tablo 4.20. Biyofilm oluşum düzeyinin MDR fenotipine etkisi

Biyofilm düzeyi	MDR mi?				Toplam n %	
	Evet n %		Hayır n %			
Yok	4	57,14	3	42,86	7	100,00
Zayıf	20	68,96	9	31,04	29	100,00
Orta	7	77,78	2	22,22	9	100,00
Kuvvetli	15	93,75	1	6,25	16	100,00
Toplam	46	75,41	15	24,59	61	100,00



Şekil 4.3. İzolatların biyofilm düzeylerine göre MDR olma oranları

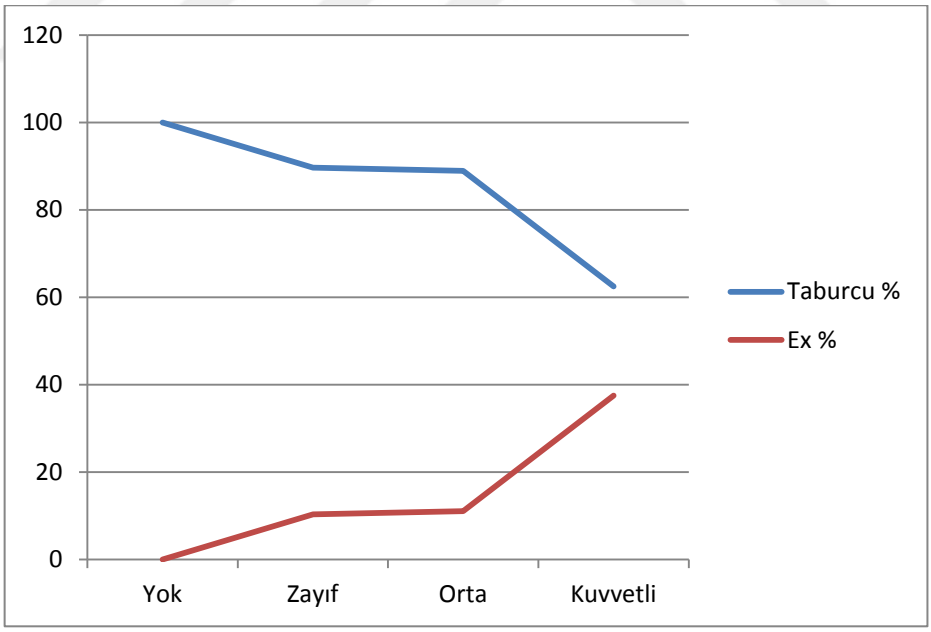
4.7. Biyofilm Oluşumunun Klinik Sonuca Etkisi

Biyofilm varlığı ile klinik sonuç ilişkisi incelendiğinde biyofilm oluşturmayan yedi izolatın tamamının taburculukla sonuçlandığı saptanmıştır. Biyofilm oluşturan 54 izolatın ise onunun (%18,5) ölümle, sadece 44 (%81,5)'ünün taburculukla sonuçlandığı saptanmıştır. Ancak biyofilm varlığı ile klinik sonuç arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.587).

Tablo 4.21. Biyofilm düzeyi ile klinik sonuç ilişkisi

		Klinik Sonuç					
		Taburcu		Exitus		Toplam	
		n	%	n	%	n	%
Biyofilm Düzeyi	**Yok**	7	100	0	0	7	100
	Zayıf	26	90	3	10	29	100
	Orta	8	89	1	11	9	100
	Kuvvetli	10	63	6	37	16	100
Toplam		51	84	10	16	61	100

Biyofilm düzeyi ile klinik sonuç ilişkisi de karşılaştırılmıştır (Tablo 4.21, Şekil 4.4). Zayıf, orta ve kuvvetli derecede biyofilm oluşturan suşlarda görülen ölüm oranı sırasıyla %10,3 %11,1 ve %37,5'tir. Ölümle sonuçlanan olgularda kuvvetli biyofilm oluşumu (%60,0), taburcu olanlara göre (%19,6) istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek oranda görülmüştür (p=0.015).



Şekil 4.4. Biyofilm oluşumu- Klinik sonuç ilişkisi

5. TARTIŞMA

Kateterle ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları, hastane kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonları arasında önemli bir yere sahiptir (157). Nazokomiyal hastalıklarla ilgili KİKDE'nin de içinde bulunduğu sürveyans çalışmaları, sağlık birimlerindeki enfeksiyon oranlarını ölçmek, zaman içindeki değişimleri görmek ve enfeksiyon kontrolünde bir kalite indikatörü olarak kullanılmak amacını taşımaktadır (158). Ülkeler, hastaneler, birimler bazında; KİKDE insidansı, etken olan mikroorganizmaların dağılımı ve bu mikroorganizmaların antimikrobiyal duyarlılıkları farklılık gösterdiğinden her birimin kendi verilerini incelemesi önemlidir (19, 23, 117, 159).

5.1. Çalışmaya Alınan Suşların Belirlenmesi

KİKDE tanısı konulması; sıklıkla etken olan mikroorganizmaların aynı zamanda en sık kontaminan mikroorganizmalar olması, tanımlama ve tanı konulmasındaki farklılıklar nedeniyle zordur.

Cilt florasında yer alan KNS, viridans grubu streptokoklar, *Aerococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. (*Bacillus anthracis* dışında), *Corynebacterium* spp. (*C. diphtheria* dışında), *Propionibacterium* spp. ve *Rhodococcus* spp. gibi mikroorganizmalar kan kültürlerini kontamine edebilmektedir (35, 36). KNS'ler, kan kültürlerinde kontaminant olarak en sık görülen mikroorganizma olmalarının yanında, aynı zamanda KİKDE'nin de en sık nedenidirler (131). Bu nedenle kültürde izole edildiklerinde, sonucun kontaminant veya patojen olarak yorumlaması zor olabilir, bunun için bazı laboratuvar testlerinden yararlanılır.

Hastalığın tanımlanmasında bazı farklılıklar vardır. KİKDE tanısı, laboratuvar kanıtı gerektiren klinik bir tanıdır, bu tanıya göre hastaya tedavi uygulanır. Santral yolla ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu (central line associated bloodstream infection-CLABSI) ise, sürveyans çalışmaları için kullanılan bir tanımlamadır. CLABSI belirleyen sürveyans çalışmalarında, hastanın kültüründeki üremeye neden olacak diğer enfeksiyon odaklarını dışlamak her

zaman mümkün olmadığından bildirilen CLABSI oranları gerçek KİKDE oranlarından daha yüksek olabilir (160).

KİKDE tanısı koyarken farklı hastanelerde farklı metotlar kullanılabilmektedir. KİKDE tanısında temel olarak üç metot kullanılır. İlk metot; kateter ucu ve beraberinde periferik ven kanı kültürüdür. Bu metot diğerlerine göre uygulaması daha kolay olduğundan laboratuvarlarda en sık kullanılan yöntemdir ancak kateterin çıkarılmasını gerektirmektedir. İkinci metot; kateterden alınan kan ve periferik venden alınan kan örneklerinin kantitatif kültürü ile üreme miktarlarının (KOB/ml) karşılaştırılmasıdır. Üçüncü metot ise; kateterden alınan ve periferden alınan kan örneklerinin kültürlerinin üreme zamanlarının karşılaştırılmasıdır. İkinci ve üçüncü metot kateterin çıkarılmasını gerektirmez ancak teknik donanım gerektirmesi, daha kompleks olması nedeniyle laboratuvarlarda daha az kullanılabilmektedir (160, 161). Bu nedenle KİKDE insidansı bazı çalışmalarda sadece kateter ucu üremesi ile kan kültürü üremelerini karşılaştırarak verilmekte, kateterden alınan ve eş zamanlı periferden alınan kan örneklerinin kültürüyle konulan KİKDE olgularını kapsamamaktadır (161, 162). Kateter ucu örneklerini kapsamayıp tanıda sadece eş zamanlı kateter ve kan kültürlerini değerlendiren çalışmalar da vardır (163).

Çalışmamızda KİKDE tanısı, laboratuvarımıza kültür istemiyle gönderilen kateter ucu, kateterden alınmış kan ve periferik kan örneklerinin kültür sonucu ve hastaların klinik bilgileri değerlendirilerek koyulmuştur.

Altı aylık çalışma süremizde 5934 istem; sadece kateter, kateterden alınmış kan veya periferik kan örneği olması nedeniyle, KİKDE tanısı konulması için değerlendirilememiştir. Bu nedenle, KİKDE tanısını daha iyi konulması için kliniklerle sürekli iletişimde olmak ve eğitimlere devam etmek önemli olduğu düşünülmüştür.

Hastadan çıkarılarak kültür için gönderilen kateter ucu örneği sayısı toplam 436'dır. Bu örneklerinin 139 (%31,88) tanesinin kültüründe mikroorganizma üremiş, 297 (%68,12) tanesinde üreme olmamıştır. Üremesi olan kateter ucu örneklerinin büyük bir kısmı, beraberinde periferik kan kültürü gönderilmediğinden KİKDE tanısı açısından değerlendirmeye alınamamıştır. KİKDE olduğu belirlenen 89 hastanın sadece 5'inde (%5,62) periferik kan

örneğiyle birlikte kateter ucu örneği değerlendirilerek tanı konmuştur. Bu durum, hastada KİKDE olmadığı halde çok sayıda kateterin çıkarılıp kültür için gönderildiğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda hastalardan kateterlerin %48 ila %91 oranında gereksiz yere çıkarıldığı ortaya konulmuştur (164).

Hakyemez (165), tez çalışmasında altı aylık sürede santral venöz kateteri çıkarılıp kültür istemi ile laboratuvara gönderilmiş olan, 16 yaş ve üzerinde olan 100 vakada kateter enfeksiyonlarını ve risk faktörlerini değerlendirmiş, 100 kateter ucu kültürünün 37 (%37)'sinin kültüründe üreme olmadığını, 10 (%10)'unda KİKDE olduğunu saptamıştır. KİKDE veya lokal kateter enfeksiyonu olan toplam 15 hastadan kateterin çıkarılma nedenlerini incelemiş; 8 (%53,2) hastada kateter bağımlı enfeksiyon şüphesi, 3 (%20) hastada ölüm, 1 (%6,7) hastada katetere gerek kalmaması, 1 (%6,7) hastada kateterin tıkanması, 1 (%6,7) hastada kateterin gerekenden uzun kalması, 1 (%6,7) hastada belirlenemeyen bir sebep nedeniyle kateterin çıkarıldığını belirtmiş, katetere bağlı enfeksiyon vakalarının sadece yarısında bu enfeksiyondan şüphelenildiğine dikkat çekmiştir.

KİKDE tanı oranını arttırmak, gereksiz kateter çıkarılmasının maddi ve klinik olumsuz getirilerinden kaçınmak için ve hastalara KİKDE tanısını doğru şekilde koyabilmek için kliniklerle KİKDE şüpheli hastalarda uygulanan testler ve hastadan uygun örnek alınmasıyla ilgili iletişime geçilmesinin faydalı olabilir.

5.2. KİKDE Risk Faktörleri

KİKDE ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde yaş, cinsiyet, altta yatan hastalık, hastanın bulunduğu bölüm gibi özelliklerde belli standartların olmadığı gözlemlenmiştir. Bu özellikler; diğer hastalıklara yatkınlık, immun yanıt düzeyi ve tedavi uygulamalarında farklılıklara neden olarak KİKDE insidansını etkileyebilir. Bu nedenle araştırma sonuçları karşılaştırılırken hasta grupları arasındaki benzerlik ve farklılıklara dikkat edilmesi faydalı olabilir.

Özellikle enfeksiyon riskinin fazla olduğu hasta grubunda enfeksiyon kontrol önlemlerine uyuma çok dikkat edilmesi, kateter takılması kullanılması ve bakımına özen gösterilmesi, KİKDE sıklığını azaltmak açısından önemlidir.

Çalışmamızda altta yatan hastalıklardan en sık görülenleri solid tümörler (n=28, %31,46), ardından hematolojik malignitelerdir (n=20, %22,47). Malignitenin altta yatan en sık hastalık olmasının sebepleri arasında kemoterapi gibi kanser tedavilerinin enfeksiyona yatkınlık oluşturmasının yanı sıra malignite hastalarında uzun süreli damar yolu erişimi gereksinimi duyulması sayılabilir. Enfeksiyonun, kanser tedavisinin en belirgin komplikasyonlarından biridir (166). Raad ve ark. (163) çalışmalarında SVK'nin özellikle solid tümörü olan hastalarda kan dolaşımı enfeksiyonunun ana kaynağı olduğunu bildirmişlerdir.

Tarpatzi ve ark. (167) 3,5 yıllık sürede, erişkin hastalardaki KİKDE insidans ve risk faktörlerini değerlendirdikleri çalışmada, solid organ tümörlerinin KİKDE olma oranını artırdığını, hematolojik kanserlerin ise arttırmadığını saptamışlardır. Hematolojik kanseri olan hastalarda KİKDE riskinin artmıyor olmasını; hastanelerinde hematoloji hastalarının bakımının hemşireler tarafından iyi yapılmasına, SVK takılması ve bakımıyla ilgilenen personele iyi eğitim verilmiş olmasına ve personelin bu konudaki kesin prosedürlere uyumunun iyi olmasına bağlamışlardır.

Çalışmamızda kronik böbrek yetmezliği, altta yatan hastalıklar arsında üçüncü (n=11, %12,36) sırada gelmektedir. Parameswaran ve ark. (124) yaptıkları çalışmada KİKDE olan hastalarda altta yatan hastalıklardan en sık böbrek yetmezliği (%40) görüldüğünü, hiç malignite hastası olmadığını bildirmişlerdir. Kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda immün sistemin zayıf olması, sık hastane ortamı maruziyeti ve hemodiyaliz kateteri kullanımına gereksinim duyulması KİKDE için risk faktörleridir (168). Kanada'da yapılan çok merkezli bir çalışmada, 66 yaş üzerindeki hastalarda glomerüler filtrasyon hızında azalmanın, hemodiyaliz gereksinimi olmasa da bakteriyemi riskini artırdığı gösterilmiştir (169).

Turken ve ark. (170) İzmir'de, hastanelerinin YBÜ'de yatan KİKDE hastalarında yaş, cinsiyet, komorbid hastalıklar arasında anlamlı bir ilişki bulmamışlardır. Benzer şekilde Hakyemez (165) tez çalışmasında cinsiyet, yaş, ünite, malignite, kronik böbrek yetmezliği, serebrovasküler hastalık, travma, diabetes mellitus ile kateter ilişkili enfeksiyon arasında istatistiksel olarak anlamlı

bir fark olmadığını saptamış, buna bağlı olarak etiyolojide daha çok lokal faktörlerin rol aldığını düşünmüştür.

Çalışmamızda mikroorganizmaların cinsiyete göre dağılımı incelenmiş, gram negatif bakterilerin kadınlarda görülme oranı (%61,1) gram pozitif bakterilerin kadınlarda görülme oranına (%29,3) göre, gram pozitif bakterilerin erkeklerde görülme oranı (%70,7) gram negatif bakterilerin erkeklerde görülme oranına (%38,9) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla bulunmuştur (p=0.026). Ancak cinsiyete göre mikroorganizma dağılımında görülen farklılığın nedeni açıklanamamıştır.

5.3. KİKDE- Bölüm İlişkisi

Yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalar, invaziv girişimlerin sıklıkla yapılması, geniş spektrumlu antimikrobiyallerin sık kullanılması, altta yatan hastalıklarının ciddiyeti ve vücut dirençlerinin düşük olması, uzun süre hastanede yatma gereksinimi gibi nedenlerle enfeksiyonlara yatkındırlar ve dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar bu hastalarda sıklıkla görülür (171). KİKDE sürveyans çalışmaları da daha çok YBÜ'lerinde yapılmaktadır (172) Ülkemizde, Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Özet Raporu'nda da sadece YBÜ'lerindeki KİKDE olgularına ait veriler yer almaktadır (173). Hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %25'i YBÜ'de meydana geldiği bildirilmektedir (174). Benzer şekilde çalışmamızdaki KİKDE hastalarının %25,84'ü YBÜ'de bulunmaktadır.

İntravenöz kateterler, hastanelerin YBÜ dışındaki bölümlerinde de yaygın olarak kullanılır. Ancak bu bölümlere ait KİKDE araştırma sayısı azdır. Çalışmamızda, KİKDE tanılı hastaların örneklerinin %61,80'i servislerden, %12,36'sı acil servisten gönderilmiştir. Trick ve ark. (175) çalışmalarında YBÜ ve YBÜ dışındaki birimlerde SVK kullanımını değerlendirmiş, YBÜ dışındaki hastalarda sebepsiz SVK kullanım gününün daha fazla olduğunu ve kateter giriş yeri bakımının daha kötü olduğunu saptamışlardır. Her ne kadar YBÜ'de bulunan hastalar enfeksiyona birçok nedenden dolayı yatkın olsalar da çalışmamızda hastaların çoğunluğunun YBÜ dışındaki birimlerde bulunduğu saptanmıştır. YBÜ

dışındaki birimleri kapsayan KİKDE araştırmalarının yapılmasının, bu birimlerdeki KİKDE farkındalığını artırmak ve enfeksiyonu önleyici tedbirleri alabilmek açısından gerekli olduğunu, ayrıca enfeksiyon kontrolüne yönelik uygulamaların takibinin bu bölümlerde de sıkı bir şekilde yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

5.4. KİKDE Etkenleri

Gram pozitif mikroorganizmalar, özellikle KNS'ler, KİKDE'ye en sık neden olan mikroorganizmalardır (118, 120, 121, 125).

Çalışmamızda da KİKDE etkenlerinin çoğu (n=58, %62,36) gram pozitif bakterilerdir. KNS'ler tüm KİKDE etkenlerinin %37,64 (35/93)'ünü oluşturmaktadır. KNS izolatlarının %57,14 (20/35)'ünü oluşturan *S. epidermidis*, en sık (%21,51) görülen KİKDE etkenidir. İkinci en sık mikroorganizma ise %17,20 (16/93) oranında görülen *S. aureus*'tur. Lorente ve ark. (121) da en sık ilk iki KİKDE etkeninin KNS (%43,39) ve *S. aureus* (%16,98) olduğunu bildirmişlerdir. Gram pozitif bakterileri en sık olarak izole ettiği halde *S. aureus*'u en sık oranda, KNS'leri çok daha az sıklıkta bulan çalışmalar da vardır (124, 160). Parameswaran ve ark. (124), KİKDE etkenlerinin %64 oranında gram pozitif bakteriler olduğunu, *S. aureus*'un izole ettikleri en sık (%40) KİKDE etkeni olduğunu belirtmişlerdir. Gram pozitif kokların yüksek oranda görülmesi, bu mikroorganizmaların cilt florasında bulunması ve cilt florası üyelerinin kateter enfeksiyonlarının etiyolojisinde etkin rol almasıyla açıklanabilir (111). KNS'lerin çeşitli çevresel yüzeylere yerleşip çoğalma özelliğine sahip, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojenler oldukları bilinmektedir (176).

Çalışmamızda gram negatif bakteriler KİKDE etkenlerinin %19,38 (18/93)'ini oluşturmaktadır. Gram negatif bakteriler çalışmalarda farklı oranlarda da bildirilmektedir. Hatipoğlu ve ark. (118) Ankara'da 2007-Ocak 2008 tarihleri arasındaki sürede, nöroloji ve beyin cerrahisi YBÜ'deki SVK takılı hastaların KİKDE etiyolojisinde, gram negatif bakterilerin %9,4 oranında görüldüğünü bildirmişlerdir. Bunun yanında KİKDE etiyolojisinde en sık rol alan

mikroorganizmaların gram negatif bakteriler olduğunu bildiren çalışmalar da vardır (119, 122, 123, 126, 165). Aktaş ve ark. (119), Kendirli ve ark. (122), ve Atilla ve ark. (123)'nın çalışmalarında, *A. baumannii* tüm etkenlerin sırasıyla %39,2, %25,8 ve %26'sını oluşturduğu ve en sık KİKDE etkeni olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda *A. baumannii* daha az sıklıkta (%5,3) görülmüştür.

Çalışmamızda *Candida* spp. %18,28 (17/93) oranında izole edilmiştir. Bu bulgu Atilla ve ark. (123), İnan ve ark. (20), Chen ve ark. (160) ile Parameswaran ve ark. (124)'nın çalışmasıyla uyumludur. Çalışmamızda *Candida albicans* en sık (%13,98) görülen üçüncü mikroorganizmadır. *Candida albicans*'ı Hatipoğlu ve ark. (118) %12,5, Turken M. ve ark. (170) %18,4 oranında saptamışlardır. Hakyemez (165), KİKDE etkeni olarak yüksek oranda gram negatif bakterileri (%40) ve *Candida* spp. (%30) saptamıştır. Bunun nedeninin, çalışma grubundaki hastalarda geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılması olabileceğini belirtmiştir. Çalışmalarda patojen dağılımının farklılık göstermesinde, hasta popülasyonundaki (çocuk/erişkin vb.) farklılıklar, bölüm farklılıkları (YBÜ/tüm bölümler vb.), sağlık uygulamaları ve enfeksiyon kontrol protokollerindeki farklılıkların da rolü olabilir.

Hastanemizde zaman içinde KİKDE'ye neden olan mikroorganizmaların dağılımında farklılık görülmektedir. Hastanemizde 2006'da yayımlanan, 27 aylık süreyi kapsayan bir çalışmada, YBÜ'deki KİKDE hastalarının %20 sinde KNS'lerin etken olduğu saptanmıştır (177). Hastanemizde yapılan diğer bir çalışmada (178) Ağustos 2011- Ağustos 2012 tarihleri arasındaki 1 yıllık sürede yoğun bakım ünitesinde yatan, SVK takılı olan, 18 yaş ve üstü 300 hastanın 18'inde KİKDE saptanmıştır. Bu çalışmada bildirilen KNS oranı (%27,8), 2006'da yayımlanan çalışmadaki orandan yüksek, bizim çalışmamızdaki orandan (%38) daha düşüktür. KNS izolatların oranının zaman içinde giderek arttığı görülmektedir. Aynı çalışmada (178) bildirilen *Acinetobacter baumannii* oranı (%11,1) çalışmamızdaki orandan (%5,38) daha fazla, *Pseudomonas aeruginosa* oranı (%5,6) çalışmamıza (%5,38) benzerdir. *Staphylococcus aureus*, %5,3 (1/18) oranında saptanmış olup, çalışmamızda elde ettiğimiz oran (%17,20) bu bakterinin sıklığında büyük artış olduğunu göstermektedir. Ayrıca çalışmada

Candida spp. izole edilmemiş ancak bizim çalışmamızda %18,27 oranında izole edilmiştir. Kandidalardaki bu artış da dikkat çekmektedir. Bildirilen çalışmalarda hastanemizdeki KİKDE etkeni mikroorganizmaların farklı oranlarda saptanması, hastalara doğru ampirik tedavinin uygulanabilmesi ve gerekli enfeksiyon kontrolü çalışmaların yapılabilmesi açısından, benzer çalışmaların zaman zaman tekrarlanması ve verilerin güncellenmesi gerektiğini göstermiştir. Çalışmalara dahil edilen bölüm ve yaş gruplarının benzer olması, daha doğru bir karşılaştırma yapılmasına imkan verecektir.

Verilerimizi ülke genelindeki verilerle karşılaştırdığımızda da farklılıklar görmekteyiz. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı, etken dağılımı ve antibiyotik direnç raporuna (2017) (117) göre ülkemizde, SVK ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu etkenleri arasında, gram pozitif bakteriler %31,9 (KNS: 16,3, *S. aureus*: %6) oranında bildirilmiş olup bizim elde ettiğimiz oranlardan (gram pozitif bakteri:%62,36, KNS: %37,64, *S. aureus*: %17,20) çok daha azdır. Gram negatif bakteriler ise yüksek oranda (%53,5) bulunmuştur (çalışmamızda gram negatif bakteri oranı: %19,38). Aynı raporda belirtilen *Candida* spp. oranı % % 14,1 olup çalışmamızdaki *Candida* spp. oranına (%18,27) benzerdir. Bahsedilen çalışma sadece SVK ilişkili KDE'leri, bizim çalışmamız ise tüm KİKDE'leri kapsamaktadır. Etken dağılımındaki farklılıklarda bunun etkisi olabilir.

ABD'de 2011-2014 yılları arasında (113) KİKDE etkenleri arasında KNS'ler bizim çalışmamıza göre daha az sıklıkta (%37,64'e karşı %16,4) bulunmuştur. *Staphylococcus aureus* (%17,20'ye karşı %13,2) ve *Candida* spp. çalışmamızdakine benzer oranlarda (%18,27'ye karşı %14,3) bildirilmiştir. Çalışmamızda en sık izole edilen gram negatif bakteriler *A. baumannii* (%5,38) ve *P. aeruginosa* (%5,38) iken, ABD'de *K. pneumoniae* (%8,4), *Escherichia coli* (%5,4) ve *Enterobacter* spp. (%4,4)'dir (113).

5.5. Mikroorganizma- Bölüm İlişkisi

Uygunsuz ampirik antimikrobiyal tedavi, YBÜ hastalarında görülen ölüm oranıyla yakından ilişkili bulunmuştur (179). Hastanelerin farklı bölümlerinde ve

farklı hasta gruplarında hangi mikroorganizmaların daha sık görüldüğünü bilmek, uygun ampirik tedaviyi seçmek için yol gösterici olacaktır.

KİKDE etkenlerinin hastanemizin bölümlerine göre dağılımı incelendiğinde servislerde ve acil serviste gram pozitif bakteriler (sırasıyla %71,4 ve %75,0) YBÜ'de görülen gram pozitif bakterilere (%36,0) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,01). KİKDE etkeni olan 17 kandida kökeninin dokuzu (%52,9) YBÜ'deki hastalardan izole edilmiştir. Toplam 58 gram pozitif bakterinin ise sadece dokuzu (%15,5) YBÜ'deki hastalardan izole edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (p=0,01). Acil servis hastalarında *Candida* spp. izole edilmemiştir. Kandida kökenlerinin acil servisteki hastalarda görülmeyip, en sık YBÜ'deki hastalardan izole edilmesinin nedeni, hastanede uzun süre yatan hastalarda kolonize olarak KİKDE'ye neden olması ile açıklanabilir.

Advani ve ark. (126) periferden yerleştirilen santral venöz kateter takılmış olan 1819 çocuğu inceledikleri çalışmada, KİKDE etkenlerinin dağılımında çocukların YBÜ'de kalıp kalmamasına göre farklılık gözlemlemişlerdir. Bulgularımıza benzer şekilde YBÜ dışındaki çocuklarda çoğunlukla gram pozitif bakterilerin (%58), YBÜ'de kalanlarda ise çoğunlukla gram negatif bakteri (%38) ve mantarların (%35) etken olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda en sık altta yatan hastalıklar olan solid tümör ve hematolojik maligniteye sahip hastalarda mantarlar ve gram negatif bakterilerin sıklıklarında farklılık görülmüştür. Gram negatif bakteriler hematolojik malignitesi olan hastalarda (%28,6) solid tümörü olanlardakine (%6,9) göre daha sıktır. Mantarlar da solid tümörü olan hastalarda (%31,0) hematolojik malignitesi olanlardakine göre (%4,8) daha sıktır. Başka çalışmalarda da bu iki hastalık grubunda görülen bakteriyemilerin etken dağılımlarında farklılık gözlenmiştir. Velasco ve ark. (180) bir kanser merkezinde 26 aylık süredeki bakteriyemi olgularında, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'yı hematoloji hastalarında daha sık izole etmişlerdir (p< 0,05). *Enterobacter* spp.'nin ise solid tümörü olan hastalarda daha sık bakteriyemi nedeni olduğunu belirtmişlerdir (p=0,05). Raad ve ark. (163) gram negatif bakteriyemilerin kateter kaynaklı olma oranını, solid tümörü olan

hastalarda %60, hematolojik malignitesi olan hastalarda ise sadece %19 olarak saptamışlardır (p= 0,01).

5.6. KİKDE - Klinik Sonuç

Santral yol ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonlarının mortalite oranı %12-25'tir (181). Hajjej ve ark. (182) YBÜ'de yatan hastaları, KİKDE olanlar (A grubu), sadece kateter kolonizasyonu olanlar (B grubu) ve KİKDE ve kateter kolonizasyonu olmayanlar (C grubu) olarak üç gruba ayırmış, gruplarda mortalite oranını sırasıyla %21,8 %11,1 ve %8,3 bulmuşlardır. Çalışmamızda KİKDE hastalarının exitus oranı (%21,50) bu çalışmadaki orana çok yakındır. Tarpatzi ve ark. (173) SVK ilişkili KİKDE olgularında mortalite oranını daha düşük (%11,3) bulmuşlardır. İstanbul'da yapılan bir çalışmada kateter ilişkili enfeksiyonu (KİKDE veya lokal kateter enfeksiyonu) olan hastaların %46,7 oranında ölüm ile sonuçlandığı bildirilmiştir (165). Hastaneler arasında exitus oranlarında farklılık gözlenmesi; tedavi/enfeksiyon kontrol protokollerindeki farklılıklara, hastaların immun cevap durumundaki farklılıklara, KİKDE etkenlerinin dağılımı ve patojenlerin virülansındaki farklılıklara bağlı olabilir.

Çalışmalarda mortalite oranının en yüksek *Candida* spp.de olduğu, ardından sırasıyla gram negatif ve gram pozitif bakterilerin geldiği görülmektedir. Patojenlerin virülansı, antimikrobiyal direnç oranı, ampirik tedavi seçimi ve uygun tedavinin düzenlenmesi, klinik sonucu etkileyen faktörlerdir. IDSA rehberinde (183), kandidemi hastalarında mortalite oranının %47'ye kadar çıkabildiği, septik şok hastalarında bu oranın daha da arttığı bildirilmiştir. Etkin tedavinin erken başlanması ve kontamine santral venöz kateterin çıkarılması gibi uygulamalarla kaynak kontrolü yapılmasının, mortalite riskinini azaltabileceği belirtilmiştir.

Çalışmamızda mantarların ve gram negatif bakterilerin etken olduğu olgulardaki mortalite oranı (sırasıyla %47,1 ve %38,9) gram pozitiflerin etken olduğu olgulardaki mortalite oranına (%8,6) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,001). Exitus oranı en sık olan etkenler; *K. pneumoniae* (%67), *Acinetobacter baumannii* (%60), *C. albicans* (%54) *C.*

glabrata (%50) ve *P. aeruginosa* (%40)'dır. Ölüm oranı en az olanlar ise *S. epidermidis* ve *S. aureus* (sırasıyla %5 ve %6)'tur. Taburcu olanlarda *S. epidermidis* oranı (%26,0) exitus olanlardakine (%5,0) göre; exitus olanlarda ise *A. baumannii* oranı (%15) ile *C. albicans* oranı (%35,0) taburcu olanlardakine (sırasıyla %2,7 ve %8,2) göre anlamlı derecede fazladır (p=0.017).

Çalışmamızdaki bulgular ile benzer olarak, Amerika'da erişkin kanser hastalarında yapılan bir çalışmada, KDE etiyolojisinde rol alan mikroorganizmalardan en sık ölüme neden olan etkenin *Candida* spp. olduğu (ölüm oranı: %45), ardından *P. aeruginosa* ve *E. coli*'nin geldiği bildirilmiştir (166). Amerika'da yapılan bir diğer çalışmada 24,179 nazokomiyal KDE olgusu incelenmiş, *Candida* spp. (%39,2) ve *P. aeruginosa* (%38,7)'nın neden olduğu KDE'lerde ölüm oranı diğer mikroorganizmalara oranla daha fazla olduğu, KNS'lerin neden olduğu KDE'lerde ise ölüm oranının en düşük (%20,7) olduğu görülmüştür (179). Bu bulguları destekler nitelikte Hajjej ve ark. (182) etkenlere göre ölüm oranını gram pozitif bakterilerde, gram negatif bakterilerde ve mantarlarda sırasıyla; %10, %12,5 ve %25 bulmuşlardır.

5.7. Biyofilm Testleri

5.7.1. Fenotipik Biyofilm Oluşumunun Mikrotitre Plak Yöntemiyle İncelenmesi

Staphylococcus spp. KİKDE etkenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır ve biyofilm oluşturma özelliği patogenezde rol alan önemli bir faktördür (184). Çalışmamızda *S. epidermidis* izolatlarının %90'ı (18/20), *S. hominis* izolatlarının %87,5 (7/8)'i, *S. haemolyticus* izolatlarının hepsi (8/8), tüm KNS izolatlarının %91,4'ü (32/35) biyofilm oluşturmuştur. KNS izolatlarının %51,4 (18/35)'ü zayıf, %11,4 (4/35)'ü orta, %28,6 (10/35)'sı kuvvetli derecede biyofilm oluşturmuştur.

Bulgularımıza benzer olarak Öcal (185) tez çalışmasında, KİKDE etkeni 15 KNS'den 14 (%93,3)'ünün mikrotitre plak yöntemiyle biyofilm oluşturduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamızda izolatların çoğu (%51,4) zayıf biyofilm oluşturuyorken bu çalışmada izolatların sadece %21,4'ü zayıf, yarısı orta, kalanı (%28,6) kuvvetli derecede biyofilm oluşturmuştur.

Mısır'da yapılan bir çalışmada (186) CLABSI etkeni olan, 20'si *S. epidermidis* ve 18'i diğer KNS'lerden oluşan izolatlarda mikrotitre plak yöntemiyle biyofilm oluşumu araştırılmış, *S. epidermidis* izolatlarında %55 (11/20), diğer KNS'lerde %66,7 oranında biyofilm oluştuğu bildirilmiştir. Çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 41 *S. epidermidis* izolatıyla yapılan bir çalışmada mikrotitre plak yöntemiyle %53,6 oranında biyofilm saptanmıştır. Biyofilm oluşumu en sık (%60, 15/25) kandan izole edilenlerde görülmüştür (187).

Çalışmamızda *S. aureus* izolatlarının %75 (12/16)'i biyofilm oluşturmuştur. Biyofilm düzeyi dokuz (%56) izolatta zayıf, üç (%19) izolatta orta derecededir. Kuvetli biyofilm oluşumu görülmemiştir.

Mısır'da yapılan çalışmada (188), çalışmamıza benzer şekilde KİKDE etkeni *S. aureus* izolatlarında biyofilm oluşumu %70 (14/20) oranında saptanmıştır. Şahin (189), tez çalışmasında çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 175 *S. aureus* suşunda mikrotitre plak yöntemiyle biyofilm oluşumunu araştırmış, çalışmamıza benzer olarak %80,6 izolatta biyofilm oluştuğunu tesbit etmiştir. İzolatların biyofilm düzeyi ise çalışmamızdakinden daha yüksektir; 112'sinde (%64,0) orta, 29'unda (%16,6) kuvvetli biyofilm oluşumu tesbit etmiştir. Biyofilm oluşumunu en sık kateter izolatlarında (%87,5) ve yara izolatlarında (%87,4) saptamıştır.

Çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş 103 MRSA izolatının biyofilm oluşturma özelliğinin incelendiği bir çalışmada (89), izolatların tümü biyofilm oluşturmuştur. Bu çalışmada kuvvetli, orta ve zayıf derecede biyofilm oluşturanların oranı sırasıyla %53,5, %33,3 ve %13,2'dir. Biyofilm varlığı en yüksek oranda dekübit ülseri (%85), yara (%78,2) ve trakeal sekresyon izolatlarında (%65,4) bulunmuştur.

Çalışmamızda *A. baumannii* ve *P. aeruginosa* izolatlarının hepsi biyofilm oluşturmuştur. Beş *A. baumannii* izolatının dördünde (%80) kuvvetli, birinde (%20) orta; *P. aeruginosa* izolatlarının ikisinde (%40) kuvvetli, birinde (%20) orta, ikisinde (%40) zayıf derecede biyofilm görülmüştür. Kuvvetli biyofilm görülme oranı gram negatif bakterilerde (%60,0) gram pozitif bakterilere (%19,6) göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur ($p=0.033$).

Solmaz (190), kateter ilişkili enfeksiyon etkeni olan *A. baumannii* izolatında mikroplak yöntemiyle biyofilm varlığını incelemiş, bizim çalışmamızda olduğu gibi izolatının tümünde (n=30) biyofilm saptamıştır. İzolatların 15 tanesinde (%50) kuvvetli biyofilm, 10 (%33,33) tanesinde orta kuvvetli biyofilm, beş (%16,67) tanesinde zayıf biyofilm tesbit etmiştir. Benzer şekilde Zeighami ve ark. (191) da MDR olan 100 *A. baumannii* izolatında %58'i kuvvetli derecede olmak üzere, tamamında biyofilm tesbit etmiştir.

Başka bir çalışmada (192) klinik 154 *A. baumannii* izolatının sadece %6,5'inde biyofilm görülmediği, biyofilm oluşturanların çoğunda kuvvetli derecede biyofilm oluşturduğu (kuvvetli orta ve zayıf biyofilm oranı sırayla: %45,4 %32,5 ve %15,6) bildirilmiştir.

Olejnickova ve ark. (193), kateter ilişkili üriner sistem veya kan dolaşımı enfeksiyonuna neden olan *P. aeruginosa* izolatlarının %80,6 (141/175)'sında fenotipik yöntemlerle biyofilm saptamışlardır.

Mikroorganizmaların biyofilm oluşturma özelliklerini bulundukları ortamın fiziksel ve kimyasal koşulları (örn: sıcaklık, glukoz konsantrasyonu, antimikrobiyal konsantrasyonu, ortamın akışkan olması, demir içeriği, yüzey özellikleri) etkileyebilmektedir (84, 194). Bu özelliklerdeki farklılıklar, invitro biyofilm çalışmalarının sonuçlarını etkileyebilir. Ayrıca mikroorganizmaların invitro koşullarda gösterdikleri fenotipik özelliklerin, invivo özelliklerinden farklı olabileceği dikkate alınmalıdır. Örneğin farklı sıcaklıkların (37°C ve 28°C) *A. baumannii*'nin bazı fenotipik özelliklerine etkisini araştıran bir çalışmada, 28°C'de yüzeye bağlı hareketliliğin önemli ölçüde azaldığı, plastik yüzeylerde biyofilm oluşumunun ise arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca 28°C'de aztreonam duyarlılığı azalmış ve trimetoprim-sulfametoksazole duyarlılık artmıştır (195).

Dikkat edilmesi gereken diğer bir nokta; fenotipik biyofilm oluşumunu test etmek amacıyla kullanılan bazı yöntemlerin değerlendirilmesinin sübjektif olması ve yöntem farklılıklarının saptanan biyofilm oranlarını değiştirebileceğidir (189). Babapour ve ark. (196) 156 klinik *A. baumannii* izolatının fenotipik biyofilm oluşturma özelliğini dört farklı yöntemle incelemiştir. Tüp testi, mikrotitre plak yöntemi ve modifiye mikrotitre plak yöntemiyle sırasıyla %48,72; %66,66 ve %73,72 oranında, kongo kırmızılı agar yöntemiyle ise sadece %10,26 oranında

biyofilm saptamışlardır. Bu nedenle farklı yöntemlerin birlikte kullanılması faydalıdır.

5.7.2. Biyofilm İlişkili Genlerin İncelenmesi ve Bulguların Fenotipik Biyofilm Oluşturma Özelliğiyle Karşılaştırılması

Çalışmamızda biyofilm varlığı veya düzeyi ile icaADBC genleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). IcaAD birlikteliği *S. aureus* izolatlarında %94 (15/16); KNS'lerde ise %23 (8/35)'tür. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı derecede fazladır ($p<0.001$).

Çalışmalarda stafilokoklarda icaADBC genlerinden daha çok icaA ve icaD varlığının araştırıldığı görülmüştür. Öcal (185), KİKDE etkeni olan 15 KNS izolatında icaA ve icaD genlerinin varlığını ve fenotipik biyofilm oluşumunu araştırmıştır. Altı (%40) izolatta genleri birlikte pozitif, dört (%27) izolatta birlikte negatif, beş (%33) izolatta ise tek bir geni pozitif bulmuştur. Kuvvetli biyofilm oluşturan beş suşun dördünde (%80) genlerin birlikte pozitif, birinde (%20) sadece icaD'nin pozitif olduğunu saptamıştır. Ayrıca sadece bir (1/15) izolatın biyofilm oluşturmadığını ve bu izolatta her iki genin de bulunmadığını tesbit etmiştir.

Hashem ve ark. (186) CLABSI etkeni 20 *S. epidermidis* izolatının %20'sinde icaA, %30'unda icaD genini saptamıştır. Fenotipik biyofilm oluşturan izolatlarda (n=11) icaA ve icaD genlerinin sırasıyla %36,3 ve %54,5 oranında bulunduğunu, biyofilm oluşturmayanlarda ise bulunmadığını bildirmişlerdir. IcaA geni bulunduran izolatların aynı zamanda icaD genini de bulundurduğunu tesbit etmişlerdir. Pinheiro ve ark. (197), Arciola ve ark. (198) ve Gad ve ark. (199) da çalışmalarında, icaA geni pozitif olan tüm izolatların icaD genini de taşıdığını görmüşlerdir. Zhou ve ark. (200) da bu iki gen arasında büyük korelasyon olduğunu, bu iki geni birlikte taşıyan izolatların genleri tek tek taşıyanlara göre daha fazla biyofilm oluşturduğunu tesbit etmiştir. Cafiso ve ark. (201) icaD geninin varlığına icaA geni eşlik ediyorsa fenotipik biyofilm oluşturma özelliğinin görülebildiğini belirtmiştir. Bu durum, icaD geninin tek başına transferaz aktivitesini indüklememesi, icaA'nın ise düşük düzeyde aktiflemesine ve birlikte

eksprese edildiklerinde yüksek miktarda PİA ve biyofilm oluşturacak etki gösterebilmeleriyle açıklanabilir (186).

Pinheiro ve ark. (197) kan kültürlerinden elde edilen 107 *S. epidermidis* izolatında icaA, icaD, icaB, icaC genlerinin varlığını incelemiş, izolatların %89,7'sinde en az bir ica geni, %43,9'ünde icaA+ icaD genlerini birlikte ve %40'ında icaA+icaD+icaC genlerini birlikte saptamıştır. İzolatların %38,3'ünde icaADBC genlerinin tümü pozitif, %10,9'unda tümü negatif bulunmuştur. Tüm ica operonunu taşıyan izolatların %58,5'inde mikrotitre plak yöntemiyle biyofilm tespit etmişlerdir. Nasr ve ark. (202) da klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarında fenotipik biyofilm oluşumunun her zaman icaA ve icaD genlerinin varlığıyla birlikte olmadığını belirtmişlerdir.

Vandecasteele ve ark. (203) kontaminasyon, kateter kolonizasyonu ve kateter ilişkili bakteriyemiye neden olan *S. epidermidis* izolatlarında icaA'nın varlığını araştırdıkları çalışmada, kolonizasyon grubunda pozitiflik oranını en yüksek (%88) bulmuşlardır. Bakteriyemiye neden olan invaziv izolatlarda %59 oranında, gönüllülerin cildinden izole edilmiş olan *S. epidermidis* izolatlarında (kontaminasyon grubu) ise en düşük oranda (%38) pozitiflik saptamışlardır.

Şahin (189), tez çalışmasında çeşitli klinik öneklerden izole edilmiş 152 *S. aureus* izolatında icaA ve icaD varlığını ve bu genlerin fenotipik biyofilm oluşumuyla ilişkisini araştırmıştır. IcaA ve icaD genlerinin birlikte pozitifliği; toplam 152 izolatın 136 (%89,5)'sında görülürken, diğerlerinde (%10,5) her iki gen de negatiftir. Kan örneklerinin %81,0, kateter örneklerinin %85,7'sinde her iki gen de pozitiftir. IcaA ve icaD genlerinin birlikte pozitifliği, kuvvetli biyofilm oluşturan izolatların tamamında, orta derecede biyofilm oluşturanların %97,9'unda, biyofilm oluşturmayanların ise %56,3 (18/32)'ünde saptanmıştır. Mikrotitre plak yöntemiyle saptanan biyofilm üretimi ile icaA ve icaD genleri arasında anlamlı derecede ($p<0,001$) ilişki saptamıştır.

Bazı çalışmalarda ise *S. aureus* izolatlarında biyofilm oluşumu çok az oranda saptanmıştır. Fowler ve ark. (204) bakteriyemiye neden olan 15 *S. aureus* izolatının hepsinin icaA pozitif olduğunu ancak sadece bir izolatın biyofilm ürettiğini saptamışlardır. Başka bir çalışmada (205) klinik örneklerden izole edilmiş 80 *S. aureus* izolatında icaADBC'nin tümü pozitif bulunmuş, ancak

fenotipik biyofilm oluşumu sadece iki izolatta gözlenmiştir. Sonuçlardaki farklılıklar biyofilm saptamasında değişik yöntemlerin kullanılması nedeniyle oluşmuş olabilir.

Çalışmamızda *A. baumannii* izolatlarında bap, ompA, epsA, bfms ve bla_{PER-1} genleri sırasıyla %100, %100, %60, %100 ve %80 oranında saptanmıştır.

Solmaz (190) bap genini, tüm klinik *A. baumannii* izolatlarında %86,6; kateter ilişkili enfeksiyon etkeni olanlarda %80 (24/30) oranında saptamıştır. Biyofilm düzeyi arttıkça bap bulundurma sıklığının da arttığını (zayıf, orta ve kuvvetli biyofilm oluşturan izolatlarda sırasıyla: %70, %84,2 %93,5) tesbit etmiştir.

Klinik örneklerden izole edilmiş *A. baumannii* izolatlarında biyofilm ilişkili genlerden ompA, bap ve bla_{PER-1}'in sıklığını, Badmasti ve ark. (206) sırasıyla %100, %30 ve %44; Bardbari ve ark. (207) %100, %82,7 ve %53,3; Zeighami ve ark. (191) %81, %43 ve %2; Yang ve ark. (192) %68,8, %79,2 ve %38,3 oranında bulmuşlardır. Yang ve ark. (192) bu genlerin biyofilm oluşturmayan izolatlarda düşük oranda görüldüğünü, biyofilm oluşturma derecesi arttıkça, sıklıklarının giderek arttığını saptamışlardır. OmpA, bap ve bla_{PER-1} genlerinin sıklığı biyofilm oluşturmayanlarda sırasıyla %6,5, %3,9 %1,9; kuvvetli biyofilm oluşturanlardaki sıklıkları sırasıyla ve %41,6, %40,3 ve %20,1'dir. Zeighami ve ark. (191) YBÜ'deki hastaların klinik örneklerinden izole edilmiş 100 MDR *A. baumannii* izolatı ile yaptıkları çalışmada bla_{PER-1} sıklığını %2 saptamışlardır ve bu oran diğer çalışmalara göre daha azdır. Epsa ve bfms sıklığı sırasıyla %95 ve %92'dir.

Thummeepak ve ark. (92) 225 klinik *A. baumannii* kökeninde ompA ve bfmS'yi en sık oranda (%84,4 ve %84); bap, bla_{PER-1} ve epsA genlerini de sırasıyla, %48, %30,2 ve %22,2 oranında saptamıştır. Biyofilm oluşturup oluşturmama özelliği ile çalışılan genlerin sıklıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamamışlardır ($p<0,05$). Bahsedilen son iki çalışmada bfmS oranları birbirine yakın (%92 ve %84); epsA oranları ise farklıdır (%95 ve %22,2) Literatürde *A. baumannii*'de epsA ve ompA ile ilgili karşılaştırma yapabileceğimiz az sayıda çalışmaya ulaşılabilmiştir. Çalışmamıza dahil olmayan farklı genlerin de *A. baumannii* izolatlarında biyofilm oluşumu ile ilişkisi

araştırılmıştır. Zeighami ve ark. (191) araştırdıkları genlerden csuE, pgaB ve ptk'yı yüksek oranda (sırasıyla %100, %98 ve %95) saptamışlardır.

Çalışmalarda kullanılan primerlerinin farklı olması, gen varlığı sonuçlarını etkileyebilir (205). Mikroorganizmanın maruz kaldığı çevresel koşulların da gen ekspresyonunu ve biyofilm oluşumunu etkileyebildiği düşünülmektedir (186).

5.8. Antimikrobiyal Direnç Oranları

Çalışmamızda tüm stafilokoklar vankomisine duyarlı bulunmuştur. KNS'lerin %94,29 (33/35)'i metisiline dirençlidir. MRKNS'ler tüm KİKDE etkenlerinin %35,5'ini oluşturmaktadır.

Üniversitemizde 2011-2012 yılları arasında yapılan çalışmada (178) benzer bulgulara ulaşılmış, KİKDE etkeni olan altı KNS'nin metisiline dirençli olduğu ve MRKNS'lerin tüm KİKDE etkenlerinin %33,3'ünü oluşturduğu tesbit edilmiştir. Yüksek direnç oranı, KNS'lerin nazokomiyal olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Aktaş ve ark. (119) KİKDE etkeni olan on KNS'nin sekizinde (%80) metisilin direnci saptamışlardır.

Çalışmamızda toplam *S. aureus* 16 izolatının altısı (%37,50) metisiline dirençli bulunmuştur. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Etken Dağılımı Ve Antibiyotik Direnç Raporu (2017) 'nda (173) santral kateter ilişkili KDE etkeni olan *S. aureus* izolatlarında oksasilin ve sefoksitin direnci sırasıyla %68,72 ve %64,60 olarak bildirilmiştir. Leblebicioğlu ve ark. (208) üç yıllık sürede 12 hastanedeki 13 YBÜ'de görülen nazokomiyal enfeksiyonlardan izole edilen *S. aureus* izolatlarında metisilin direncini yüksek oranda (%89,2) bulmuşlardır. İnan ve ark. (19)'nın çalışmasında da alet ilişkili enfeksiyon etkeni *S. aureus* izolatlarında MRSA oranı yüksek (%93,1) bulunmuştur. NHSN'e bildirilen nazokomiyal patojenlerin antimikrobiyallere duyarlılık raporuna göre (113), 2014 yılında CLABSI etkeni *S. aureus* izolatlarında metisilin direnci %50,7'dir. Bu verilere göre çalışmamızda *S. aureus* izolatlarındaki metisilin direncinin, ülkemiz ve NHSN raporundaki oranlara göre daha düşük seviyede olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda *Acinetobacter baumannii* izolatlarının tamamı (5/5) ve *P. aeruginosa* izolatlarının %40 (2/5)'ı karbapenem dirençli ve MDR'dir. *Klebsiella pneumoniae* (3/3) ve *E. coli* (3/3) izolatlarının hepsi karbapenem duyarlıdır. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının hepsi, *P. aeruginosa* izolatlarının 2/5'i MDR'dir.

NHSN'e bildirilen, nazokomiyal patojenlerin antimikrobiyallere duyarlılık raporunda (119) 2014 yılına ait CLABSI etkeni patojenlerde karbapenem direnci *Acinetobacter* spp.de %46,6, *P. aeruginosa*'da %25,8, *Klebsiella* spp.de %10,9 ve *E. coli*'de %1,9 olarak bildirilmiştir.

Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Etken Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Raporu (2017) (173)'na göre, ülkemizdeki santral kateter ilişkili KDE etkeni gram negatif bakterilerin karbapenem direnç oranı NHSN oranlarına göre daha yüksektir. İmipenem ve meropenem direnci *A. baumannii* izolatlarda sırasıyla %95,22 ve %95,10; *P. aeruginosa* izolatlarında sırasıyla %48,04 ve %50,72 olarak bildirilmiştir. Bu oranlar çalışmamızdaki oranlara benzerdir. Aynı raporda santral kateter ilişkili KDE etkeni olan *K. pneumoniae* izolatlarında imipenem ve meropenem direnci sırasıyla %52,92 ve %27,64, *E. coli* izolatlarında sırasıyla %8,77 ve %12,04'tür. İnan ve ark. İstanbul'da 2004-2010 yılları arasında, hastanelerindeki alet ilişkili enfeksiyonlarla ilgili yaptıkları çalışmada (20) *Acinetobecter* spp.'de imipenem direncinin 2004 yılında %47 iken, 2010 yılında %85,5'e yükseldiğini belirtmiştir. Sağlık birimlerinin antimikrobiyal duyarlılıkları ile ilgili sürveyans çalışmalarını sürekli şekilde yapmaları, direnç gelişimini önleyip kontrol altına alabilmeleri, sağlık uygulamalarını ve tedavi protokollerini uygun şekilde sürdürebilmeleri açısından önemlidir.

5.9. Biyofilm- Direnç İlişkisi

Çalışmamızda MRKNS'lerin %90,9 (30/33)'unda biyofilm saptanmıştır. Metisiline duyarlı olan iki KNS'nin ise biyofilm oluşturmadığı dikkat çekmiştir.

Biyofilm oluşturma oranı MRSA'larda (%83,3, 5/6), MSSA'lardan (%70, 7/10) daha yüksektir. Ancak biyofilm üretimiyle metisilin direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0,05).

Hashem ve ark. (188) KİKDE etkeni olan 20 *S. aureus*, 20 *S. epidermidis* ve 18 diğer KNS izolatlarında metisiline direnç oranını sırasıyla %40, %70 ve %16,7 oranında bulmuşlardır. Biyofilm oluşturma oranı, metisiline dirençli olan izolatlarda %72, metisiline duyarlı olanlarda ise %57,6 olup metisilin direnci ile biyofilm oluşturma özelliği arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede fark bulunmuştur (p=0,05). Metisiline dirençli olan *S. epidermidis* izolatlarının yarısı, *S. aureus* (n=6) ve diğer KNS (n=3) izolatlarının tamamı biyofilm oluşturmuştur.

Ghasemian ve ark. (209) klinik örneklerden izole edilen 209 *S. aureus* suşunun tümünün biyofilm oluşturduğunu ve 64 (%30,62)'ünün metisiline dirençli olduğunu saptamışlardır. Kuvvetli biyofilm oluşturanların oranını MRSA'larda (%21,8) MSSA izolatlarından (%28,9) daha düşük saptamışlardır. IcaA, icaD, icaB, icaC genleri, MSSA ve MRSA izolatlarında sırasıyla %71, %54, %69, %71 ve %76, %69, %64, %74 oranında bulmuş, MRSA ve MSSA izolatlarında biyofilm oluşumu ile icaADBC genlerinin varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görmemişlerdir.

Seng R. ve ark. (90) çalışmalarında hastane ortamlarından ve toplum ortamlarından izole edilen MRKNS izolatlarının sırasıyla %92,4 ve %68,3'ünün biyofilm ürettiğini saptamışlardır.

O'neill ve ark. (210) çalışmalarında MRSA ve MSSA izolatlarında icaADBC ekspresyonu, PIA/PNAG sentezini ve biyofilm üretimini, besiyerinin glukoz ve NaCl konsantrasyonunu değiştirerek (Brain Heart Infusion besiyerine %1 glukoz ve %4 NaCl ekleyerek) incelemişlerdir. MSSA izolatlarında PIA sentezi ile biyofilm üretimi arasında güçlü bir ilişki olduğunu görmüş ancak ica lokusunun transkripsiyonel regülasyonu ile biyofilm üretimi ilişkisinde, izolatlar arasında farklılık görüldüğünü saptamışlardır. MRSA izolatlarında ise ica operonunun transkripsiyonel aktivitesi ile PIA/PNAG sentezi veya biyofilm üretimi arasında korelasyon olmadığını görmüşlerdir. Glukozun MRSA ve MSSA izolatlarında biyofilm üretimini artırdığını, NaCl'nin ise MSSA izolatlarında biyofilm üretimini belirgin şekilde daha çok artırdığını tesbit etmişlerdir

($p<0.001$). Çalışmamızda mikrotitre plak yönteminde %0,25 glukozlu TSB besiyeri kullanılmış, besiyerine NaCl eklenmemiştir.

Stafilokoklarda ica lokusu ve PIA/PNAG sentezinin nasıl düzenlendiği konusunda halen bilinmeyen çok şey vardır. Ica lokusunu taşımadığı halde biyofilm üretme özelliği olan izolatlarda başka faktörlerin rolü araştırılmaktadır. Örneğin, *S. aureus* ve *S. epidermidis* izolatlarında ica-bağımsız biyofilm üretiminde, yüzey proteinlerinden olan Aap (Accumulation-associated protein) ve Bap'ın, rol oynadığı anlaşılmıştır (211).

Pozzi ve ark. (212) *S. aureus* izolatlarında fenotipik biyofilm özelliğinin; hücre duvarı otolizini (Atl=Autolysin) ve fibronektin bağlayıcı proteinler (FnBPA, FnBPB) veya PIA/PNAG ile düzenlendiğini belirtmiştir. In-vitro ortamda MSSA izolatlarında biyofilm üretiminin PIA/PNAG'a bağlı, MRSA izolatlarında ise majör Atl ve FnBPA, FnBPB aracılığıyla olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda gram negatif bakterilerden onunda (beş *A. baumannii*, beş *P. aeruginosa*) fenotipik biyofilm oluşturma özelliği incelenmiş ve tamamında pozitif saptanmıştır. Bunlardan yedisi (%70) karbapeneme dirençli, üçü (%30) duyarlıdır. Kuvvetli biyofilm oluşturanlardaki karbapenem direnci oranı daha fazla olup %83,33 (5/6)'tür. Karbapenem duyarlı olan üç suşun (hepsi *P. aeruginosa*) ikisi zayıf, biri kuvvetli biyofilm oluşturmuştur. Biyofilm varlığı ile karbapenem direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Hastanemizde daha önce yaptığımız bir çalışmada (213) 2016 yılına ait klinik örneklerden izole edilmiş karbapeneme dirençli 116 *A. baumannii* kökeninin 105 (%90,5)'inde biyofilm saptanmıştır. Bunlardan 52 (%44,8)'si kuvvetli, 33 (%28,4)'ü orta ve 20 (%17,2)'si zayıf derecede biyofilm oluşturmuştur.

Kumari ve ark. (214) klinik örneklerden izole edilen 65 *A. baumannii* izolatında, imipenem direnciyle biyofilm üretimi arasında yüksek derecede ilişki bulmuşlardır ($p<0.001$). Yang ve ark. (192) biyofilm oluşturma gücünün imipeneme orta duyarlı izolatlarda duyarlı olanlara göre anlamlı derecede ($p=0.017$) fazla olduğunu saptamıştır. Ancak imipeneme duyarlı ve dirençli

izolatlarda biyofilm oluşturma gücü açısından anlamlı bir fark saptamamıştır (p=0.078).

Çalışmamızda biyofilm varlığıyla MDR olma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.153). Ancak bakterilerin biyofilm oluşturma düzeyi arttıkça MDR olma oranının da arttığı görülmüştür. Biyofilm oluşturmama, zayıf, orta, kuvvetli derecede biyofilm oluşturma sıklıkları MDR olanlarda sırasıyla %57,14, %68,96, %77,78, %93,75; MDR olmayanlarda ise %42,86, %31,04, %22,22, %6,25'tir.

Bardbari ve ark. (207), klinik *A. baumannii* izolatlarında biyofilm oluşturma yeteneğiyle MDR sıklığı arasında anlamlı (p=0.008) ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada MDR *A. baumannii* klinik izolatlarının %74,1 (20/27)'inin biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir (206).

Diğer taraftan biyofilm oluşumu ile antibiyotik direnci arasında ters ilişki olduğunu belirten çalışmalar da vardır. Qi ve ark. (215) 272 klinik *A. baumannii* suşunun 249 (%91)'unda biyofilm saptamıştır. İzolatları duyarlılıklarına göre MDR/XDR olanlar ve MDR olmayanlar olarak gruplandırmıştır. Kuvvetli biyofilm oluşturan (n=63), zayıf biyofilm oluşturan (n=186) ve biyofilm oluşturmayan (n=23) izolatlarda MDR/XDR olma oranını sırayla %20,6, %87,6 ve %91,3; MDR olmama oranını ise; %79,4, %12,4 ve %8,7 saptamışlardır. MDR olmayan suşların daha kuvvetli biyofilm oluşturma eğiliminde olduğunu görmüşlerdir (p<0.001). Tek tek antibiyotik bazında ilişkiyi değerlendirdiklerinde, polimiksin B haricinde test ettikleri 20 antibiyotik için de biyofilm oluşturma kapasitesiyle direnç arasında negatif korelasyon saptamış, polimiksin B için anlamlı bir korelasyona ulaşamamışlardır. Benzer şekilde Rodriguez ve ark. (216) biyofilm oluşturan *A. baumannii* izolatlarında imipenem ve siprofloksasine direnç oranının daha düşük olduğunu saptamış, bu durumu, biyofilm oluşturan suşların oluşturmayanlara kıyasla, hayatta kalmak için direnç geliştirmeye daha az gereksinim göstermelerine bağlamışlardır.

5.10. Biyofilm –Mortalite İlişkisi

Çalışmamızda biyofilm oluşturmayan yedi izolatın tamamının taburculukla sonuçlanması, bunun yanında biyofilm oluşturanlarda biyofilm düzeyi arttıkça ölüm oranının da artış göstermesi (ölüm oranı, zayıf, orta ve kuvvetli biyofilm oluşturanlarda sırasıyla: %10,3 %11,1 ve %37,5) dikkat çekmektedir. Ancak biyofilm üretiminin var olup olmamasının mortalite ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0.587). Kuvvetli biyofilm oluşumu, ölümle sonuçlanan olguların yarısından fazlasında (%60,0), taburcu olanlarda ise sadece %19,6 oranında görülmekte olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.015).

6. SONUÇLAR

1. 1 Eylül 2018- 31 Ocak 2019 tarihleri arasında, 83 ayrı hastada KİKDE saptanmıştır. Toplam KİKDE atak sayısı 89'dur. Dört olguda polimikrobiyal etkenler olmak üzere, KİKDE etkeni olarak toplam 93 mikroorganizma izole edilmiştir.

2. KİKDE olduğu belirlenen hastaların örneklerinin %61,80'i servislerden, %25,84'ü YBÜ'den, %12,36'sı acil servisten gönderilmiştir.

3. Altta yatan hastalıklardan en sık görülenleri solid tümörler (n=28. %31,46), hematolojik maligniteler (n=20, %22,47) ve kronik böbrek yetmezliği (n=11, %12,36)'dir.

4. KİKDE etkenlerinin çoğu (n=58, %62,36) gram pozitif bakterilerdir. KNS'ler tüm KİKDE etkenlerinin %37,64 (35/93)'ünü oluşturmaktadır. En sık görülen KİKDE etkeni *S. epidermidis* (%21,51); ikincisi ise *S. aureus* (%17,20)'tur. Gram negatif bakteriler KİKDE etkenlerinin %19,38 (18/93)'ini oluşturmaktadır. *Candida* spp. %18,28 (17/93) oranında izole edilmiştir. *Candida albicans* en sık (%13,98) görülen üçüncü mikroorganizmadır.

5. KİKDE etkenlerinin hastanemizin bölümlerine göre dağılımı incelendiğinde servislerde ve acil serviste gram pozitif bakteriler (sırasıyla %71,4 ve %75,0) ile YBÜ'de görülen gram pozitif bakterilere (%36,0) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p=0,01). KİKDE etkeni olan kandidaların %52,9 (9/17)'u; gram pozitif bakterilerin ise sadece %15,5 (9/15)'i YBÜ'deki hastalardan izole edilmiş olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (p=0,01). Acil servis hastalarında *Candida* spp. izole edilmemiştir.

6. Mikrotitre plak yöntemiyle, *S. epidermidis* izolatlarının %90'ı (18/20), *S. hominis* izolatlarının %87,5 (7/8)'i, *S. haemolyticus* izolatlarının hepsi (8/8); tüm KNS izolatlarının %91,4'ü (32/35) biyofilm oluşturmuştur. KNS izolatlarının %51,4 (18/35)'ü zayıf, %11,4 (4/35)'ü orta, %28,6 (10/35)'sı kuvvetli derecede biyofilm oluşturmuştur.

Staphylococcus aureus izolatlarının %75 (12/16)'i biyofilm oluşturmuştur. Biyofilm düzeyi dokuz (%56) izolatta zayıf, üç (%19) izolatta orta derecededir. Kuvetli biyofilm oluşumu görülmemiştir.

Test edilen gram negatif bakterilerin (beş *A. baumannii* ve beş *P. aeruginosa*) hepsi biyofilm oluşturmuştur. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının dördünde (%80) kuvvetli, birinde (%20) orta; *P. aeruginosa* izolatlarının ikisinde (%40) kuvvetli, birinde (%20) orta, ikisinde (%40) zayıf derecede biyofilm görülmüştür. Kuvvetli biyofilm görülme oranı gram negatif bakterilerde (%60,0) gram pozitif bakterilere (%19,6) göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (p=0.033).

7. IcaADBC genleri KNS'lerde sırasıyla %51, %31, %43 ve %17; *S. aureus* izolatlarında ise %100, %94, %56 ve %94 oranında bulunmuştur. Biyofilm varlığı ve düzeyi ile icaADBC genleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p>0,05). IcaAD birlikteliği *S. aureus* izolatlarında %94 (15/16), KNS'lerde ise %23 (8/35) olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001).

Acinetobacter baumannii izolatlarında bap, ompA, epsA, bfms ve bla_{PER-1} genleri sırasıyla %100, %100, %60, %100 ve %80 oranında saptanmıştır. Bahsedilen genlerin varlığıyla biyofilm oluşumu ilişkisi incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tesbit edilmemiştir (p>0,05).

8. Tüm stafilokoklar vankomisine duyarlı bulunmuştur. KNS'lerin %94,29 (33/35)'i; *S. aureus* izolatlarının %37,50 (6/16)'si metisiline dirençlidir.

Acinetobacter baumannii izolatlarının tamamı (5/5) ve *P. aeruginosa* izolatlarının %40 (2/5)'ı karbapeneme dirençlidir. *Klebsiella pneumoniae* (3/3) ve *E. coli* (3/3) izolatlarının hepsi karbapeneme duyarlıdır. Bu oranlar ülkemizde bildirilen (173) oranlarla benzerdir.

9. Biyofilm ve direnç ilişkisi de incelenmiştir. MRKNS'lerin %90,9 (30/33)'unda biyofilm saptanmıştır. Metisiline duyarlı olan iki KNS ise zayıf derecede biyofilm oluşturmuştur. MRSA'ların biyofilm oluşturma oranı (%83,3;5/6), MSSA'lardan (%70;7/10) daha yüksektir. Ancak biyofilm üretimiyle metisilin direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0,05). Gram negatif bakterilerde biyofilm varlığı ile karbapenem direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (p>0,05).

Biyofilm düzeyi arttıkça MDR olma oranının da arttığı görülmüştür. Biyofilm oluşturmama, zayıf, orta, kuvvetli derecede biyofilm oluşturma

sıklıkları, MDR olanlarda sırasıyla %57,14, %68,96, %77,78, %93,75; MDR olmayanlarda ise %42,86, %31,04, %22,22, %6,25'tir. Ancak biyofilm varlığıyla MDR olma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0.153).

10. Biyofilmin klinik sonuca etkisi araştırılmıştır. Biyofilm oluşturmayan yedi izolatın tamamının taburculukla sonuçlanması, bunun yanında ölüm oranının biyofilm düzeyi arttıkça artış göstermesi (zayıf, orta ve kuvvetli biyofilm oluşturanlarda sırasıyla: %10,3 %11,1 ve %37,5) dikkat çekmektedir. Kuvvetli biyofilm oluşumu, ölümle sonuçlanan olguların yarısından fazlasında (%60,0), taburcu olanlarda ise sadece %19,6 oranında görülmekte olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.015). Ancak biyofilm üretiminin var olup olmaması ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (p=0.587).

11. Örnek gönderimindeki hatalar nedeniyle olguların çoğunda değerlendirme yapılamamıştır. KİKDE tanı oranını artırmak için, klinikler ile iletişime geçilerek bilgilendirme yapılmasının gerekli olduğu görülmüştür. KİKDE'yi önlemek ve tedavisini uygun şekilde yönetmek için sürekli ve multidisipliner yaklaşımlarla çalışmaların yapılması, KİKDE ile mücadelede başarı oranını artıracaktır.

ÖZET

Kateter Kaynaklı Kan Dolaşımı Enfeksiyonu Etkenlerinin Belirlenmesi ve Biyofilm Oluşumunun Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması

Mikroorganizmaların yüzeylere tutunup çoğalmalarını sağlayan biyofilm, özellikle yabancı cisim enfeksiyonlarında büyük öneme sahiptir.

Çalışmamızda hastanemizdeki KİKDE etkenlerinin dağılımı, fenotipik biyofilm oluşturma özellikleri ve biyofilm ilişkili genlerin varlığı araştırılmıştır.

1 Eylül 2018- 31 Ocak 2019 tarihleri arasında, kültür için laboratuvarımıza gönderilen kateter ucu, kateterden alınmış kan ve periferik kan örnekleri rutin işleme alınmıştır. Kültür sonuçları ve hastaların klinik bilgileri incelenerek KİKDE olguları belirlenmiştir. KİKDE atak sayısı 89'dur. Dört olguda polimikrobiyal etkenler olmak üzere, KİKDE etkeni toplam 93 mikroorganizma izole edilmiştir. KİKDE etkenlerinin çoğu (n=58, %62,36) gram pozitif bakterilerdir. En sık görülen mikroorganizmalar; *S. epidermidis* (%21,51), *S. aureus* (%17,20) ve *Candida albicans* (%13,98)'tır. Gram negatif bakteriler KİKDE etkenlerinin %19,38 (18/93)'ini; *Candida* spp. %18,28 (17/93)'ini oluşturmaktadır.

Mikrotitre plak yöntemiyle, *S. epidermidis* izolatlarının %90'ı (18/20), *S. hominis* izolatlarının %87,5 (7/8)'i, *S. haemolyticus* izolatlarının hepsi (8/8); tüm KNS izolatlarının %91,4'ü (32/35) biyofilm oluşturmuştur. *Staphylococcus aureus* izolatlarında biyofilm oluşturma oranı %75 (12/16) olup KNS'lere göre daha düşüktür. Test edilen gram negatif bakterilerin (*A. baumannii* ve *P. aeruginosa*) tamamı biyofilm oluşturmuştur. Kuvvetli biyofilm görülme oranı gram negatif bakterilerde (%60,0) gram pozitif bakterilere (%19,6) göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (p=0.033).

KNS izolatlarında icaA, icaD, icaB, icaC genlerinin bulunma sıklığı sırasıyla %51, %31, %43 %17; *S. aureus* izolatlarında ise %100, %94, %56 %94'tür. *Acinetobacter baumannii* izolatlarında bap, ompA, epsA, bfms ve bla_{PER-1} genleri sırasıyla %100, %100, %60, %100 ve %80 oranında saptanmıştır. Biyofilm oluşumu ile araştırılan genlerin varlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tesbit edilmemiştir.

Tüm stafilokoklar vankomisine duyarlı bulunmuştur. KNS'lerin %94,29 (33/35)'i, *S. aureus* izolatlarının %37,50 (6/16)'si metisiline dirençlidir. *Acinetobacter baumannii* izolatlarının tamamı (5/5) ve *P. aeruginosa* izolatlarının %40 (2/5)'ı karbapeneme dirençlidir. *Klebsiella pneumoniae* (3/3) ve *E. coli* (3/3) izolatlarının hepsi karbapeneme duyarlıdır.

MRKNS'lerin %90,9 (30/33)'unda biyofilm saptanmıştır. Metisiline duyarlı olan iki KNS ise zayıf derecede biyofilm oluşturmuştur. MRSA'ların biyofilm oluşturma oranı (%83,3; 5/6), MSSA'lardan (%70; 7/10) daha yüksektir. Ancak biyofilm üretimiyle metisilin direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

Biyofilm varlığı ile karbapenem direnci arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$). Biyofilm düzeyi arttıkça MDR olma oranının da arttığı görülmüştür. Biyofilm oluşturmama, zayıf, orta, kuvvetli derecede biyofilm oluşturma sıklıkları MDR olanlarda sırasıyla %57,14, %68,96, %77,78, %93,75; MDR olmayanlarda ise %42,86, %31,04, %22,22, %6,25'tir. Ancak biyofilm varlığıyla MDR olma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0.153$).

Biyofilm oluşturmayan yedi izolatın tamamının taburculukla sonuçlanması, bunun yanında ölüm oranının biyofilm düzeyi arttıkça artış göstermesi (zayıf, orta ve kuvvetli biyofilm oluşturanlarda sırasıyla: %10,3 %11,1 ve %37,5) dikkat çekmektedir. Kuvvetli biyofilm oluşumu, ölümle sonuçlanan olguların yarısından fazlasında (%60,0), taburcu olanlarda ise sadece %19,6 oranında görülmekte olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.015$). Ancak biyofilm üretiminin var olup olmaması ile mortalite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p=0.587$).

Biyofilm üzerine yapılacak bundan sonraki çalışmalar da, biyofilm oluşumunu daha iyi anlayıp biyofilm enfeksiyonlarına çözüm bulabilmek için faydalı olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonu, biyofilm, mikrotitre plak yöntemi, biyofilm geni, Real-time PCR.

ABSTRACT

Determination of Etiologic Agents of Catheter Related Bloodstream Infection and Investigation of Biofilm Formation by Phenotypic and Genotypic Methods

Biofilm, which allows microorganisms to attach to the surfaces and proliferate, is of great importance especially in foreign body infections.

In our study, the distribution of microorganisms causing KİKDE, phenotypic biofilm formation properties and presence of biofilm related genes were investigated.

Between September 1 2018 and January 31 2019, catheter tip samples and blood samples drawn from a catheter hub or a peripheral vein sent to our laboratory for culture were routinely processed. Culture results and clinical information of the patients were evaluated and the cases of CRBSI were determined. The number of the CRBSI attacks is 89. A total of 93 microorganisms causing CRBSI were isolated. Of these, 62,36% of the pathogens were gram positive bacteria. The most common etyologic agents were *S. epidermidis* (21,51%), *S. aureus* (17,20%) and *Candida albicans* (13,98%).

Microtitre plate method was used for evaluation of phenotypic biofilm formation ability. Biofilm production was observed in 90% (18/20) of *S. epidermidis* isolates, 87,5% (7/8) of *S. hominis* isolates, all of *S. haemolyticus* isolates (8/8); and 91,4% (32/35) of all CNS. Biofilm formation rate in *S. aureus* isolates was 75%. All of the gram negative bacteria tested (*A. baumannii* and *P. aeruginosa*) were biofilm positive. The incidence of strong biofilm was significantly higher in gram negative bacteria (60,0%) than gram positive bacteria (19,6%) ($p= 0.033$).

The frequency of icaA, icaD, icaB, icaC genes was 51%, 31%, 43%, 17% in CNS and; 100%, 94%, 56% 94% in *S. aureus* isolates. Bap, ompA, epsA, bfms and blaPER-1 genes were detected in 100%, 100%, 60%, 100% and 80% of *Acinetobacter baumannii* isolates, respectively. No statistically significant relationship was found between biofilm formation and the presence of genes investigated ($p>0,05$).

All staphylococci were susceptible to vancomycin. Methicillin resistance was detected in 94,29% (33/35) of CNS and 37,50% (6/16) of *S. aureus* isolates. All *Acinetobacter baumannii* isolates (5/5) and 40% (2/5) of *P. aeruginosa* isolates were resistant to carbapenem. All *K. pneumoniae* (3/3) and *E. coli* (3/3) isolates were susceptible to carbapenem.

Biofilm was detected in 90,9% (30/33) of MRCNS. Two CNS sensitive to methicillin produced weak biofilm. Biofilm formation rate of MRSAs (83,3%; 5/6) is higher than MSSAs (70,0%; 7/10). However, there was no statistically significant difference between biofilm production and methicillin resistance ($p > 0.05$).

There was no statistically significant relationship between the presence of biofilm production and carbapenem resistance, too ($p > 0.05$). As the biofilm production level increased, the rate of MDR increased. However, no statistically significant difference was found between the presence of biofilm production and MDR ($p = 0.153$).

It is noteworthy that all seven biofilm negative isolates resulted in discharge, while the mortality rate increased with increasing biofilm production levels (10,3%, 11,1% and 37,5%, respectively, for weak, medium and strong biofim forming). Strong biofilm formation was seen in more than half (60,0%) of the patients who died but only 19,6% of the patients who were discharged and the difference was statistically significant ($p = 0.015$). However, there was no statistically significant relationship between the presence of biofilm production and mortality ($p = 0.587$).

Future studies on biofilm will also be useful in understanding the biofilm formation and finding solutions to biofilm infections.

Key Words: Catheter - related bloodstream infection, biofilm, microtiter plate method, biofilm gene, Real-time PCR.

KAYNAKLAR

1. Tünger Ö, Tireli M. İntravenöz Kateter İnfeksiyonları: Sorunlar ve Çözümler. ANKEM Derg. 2013;27(2):96-105.
2. Umscheid CA, Mitchell MD, Doshi JA, Agarwal R, Williams K, Brennan PJ. Estimating the proportion of healthcare-associated infections that are reasonably preventable and the related mortality and costs. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2011;32(2):101-14.
3. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. Critical care medicine. 1999;27(5):887-92.
4. Richards M, Edwards J, Culver D, Gaynes R, System NNIS. Nosocomial infections in coronary care units in the United States. The American journal of cardiology. 1998;82(6):789-93.
5. Ünal N, Ünal S. Ulusal Damar Erişimi Yönetimi Rehberi 2018 p. 1-95.
6. Gahlot R, Nigam C, Kumar V, Yadav G, Anupurba S. Catheter-related bloodstream infections. International journal of critical illness and injury science. 2014;4(2):162.
7. Moretti E, Ofstead C, Kristy R, Wetzler H. Impact of central venous catheter type and methods on catheter-related colonization and bacteraemia. Journal of Hospital Infection. 2005;61(2):139-45.
8. O'grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Clinical infectious diseases. 2011;52(9):162-93.
9. Bouza E, Guembe M, Munoz P. Selection of the vascular catheter: can it minimise the risk of infection? International journal of antimicrobial agents. 2010;36:22-5.
10. Yalçın AN. Kateter ile ilişkili Kan Dolaşımı İnfeksiyonları: Tanı ve Tedavi. Klimik Dergisi. 2007;20(2):40-2.
11. Oğuzkurt L. İntravenöz Kateter Uygulamalarında Enfeksiyon Dışı Komplikasyonlar. Türk Hematoloji Derneği 2006.29-32.

12. Maki DG, Kluger DM, Crnich CJ, editors. The risk of bloodstream infection in adults with different intravascular devices: a systematic review of 200 published prospective studies. Mayo Clinic Proceedings; 2006: Elsevier.

13. Rosenthal VD, Al-Abdely HM, El-Kholy AA, AlKhawaja SAA, Leblebicioglu H, Mehta Y, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium report, data summary of 50 countries for 2010-2015: Device-associated module. American journal of infection control. 2016;44(12):1495-504.

14. Tacconelli E, Smith G, Hieke K, Lafuma A, Bastide P. Epidemiology, medical outcomes and costs of catheter-related bloodstream infections in intensive care units of four European countries: literature-and registry-based estimates. Journal of Hospital Infection. 2009;72(2):97-103.

15. Ulusoy S, Akan H, Arat M, Baskan S, Bavbek S, Çakar N, et al. Damar İçi Kateter İnfeksiyonlarının Önlenmesi Kılavuzu Hastane İnfeksiyonları ve Kontrolü Derneği Damar İçi Kateter İnfeksiyonlarının Önlenmesi Çalışma Grubu. Hastane İnfeksiyonları Dergisi 2013;17(2):233-279.

16. Erol S. Hastane Enfeksiyonları Sürveyansı. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. 2008;60:43-51

17. O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, Heard SO, Maki DG, et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports. 2002;51(RR-10):1-29.

18. Dogru A, Sargin F, Celik M, Sagiroglu AE, Goksel MM, Sayhan H. The rate of device-associated nosocomial infections in a medical surgical intensive care unit of a training and research hospital in Turkey: one-year outcomes. Jpn J Infect Dis. 2010;63(2):95-8.

19. Tigen ET, Dogru A, Unlu C, Gura M. Device-associated nosocomial infection rates and distribution of antimicrobial resistance in a medical-surgical intensive care unit in Turkey. Japanese journal of infectious diseases. 2014;67(1):5-8.

20. Inan A, Ozgultekin A, Akcay SS, Engin DO, Turan G, Ceran N, et al. Alterations in Bacterial Spectrum and Increasing Resistance Rates in Isolated

Microorganisms from Device-Associated Infections in an Intensive Care Unit of a Teaching Hospital in Istanbul (2004-2010). Japanese journal of infectious diseases. 2012;65(2):146-51.

21. Rosenthal VD. Central line-associated bloodstream infections in limited-resource countries: a review of the literature. Clinical infectious diseases. 2009;49(12):1899-907.

22. System NNIS. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System report, data summary from January 1990-May 1999, issued June 1999. Am J Infect Control. 1999;27(6):520-32.

23. System NNIS. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control. 2004;32:470-85.

24. Centers for Disease Control and Prevention, Data summary of HAIs in the US: assessing progress 2006–2016. 2017, [cited 2019 Mar 28], https://www.cdc.gov/hai/data/archive/data-summary-assessing-progress.html.

25. Ertek M, Müezzinoğlu İA, Demet K, Tülay A, Aşçıoğlu S, Şardan YÇ. TC. Sağlık Bakanlığı Ulusal Hastane Enfeksiyonları Sürveyans Ağı (UHESA) Raporu Özet Veri, 2010, http://www.hscgp.org/upload/documents/UHESA_Raporu_2010.pdf 2011

26. Hekimoğlu CH, Batır E, Şardan YÇ, Gözel MG, Aydın A. T.C. Sağlık Bakanlığı Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Özet Raporu 2017. 2018.

27. Zürcher M, Tramèr MR, Walder B. Colonization and bloodstream infection with single-versus multi-lumen central venous catheters: a quantitative systematic review. Anesthesia & Analgesia. 2004;99(1):177-82.

28. Tokars JI, Cookson ST, McArthur MA, Boyer CL, McGeer AJ, Jarvis WR. Prospective evaluation of risk factors for bloodstream infection in patients receiving home infusion therapy. Annals of internal medicine. 1999;131(5):340-7.

29. Mollee P, Jones M, Stackelroth J, Van Kuilenburg R, Joubert W, Faoagali J, et al. Catheter-associated bloodstream infection incidence and risk

factors in adults with cancer: a prospective cohort study. Journal of Hospital Infection. 2011;78(1):26-30.

30. Bodey GP, Buckley M, Sathe Y, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. Annals of internal medicine. 1966;64(2):328-40.

31. Niedner MF, Huskins WC, Colantuoni E, Muschelli J, Harris JM, Rice TB, et al. Epidemiology of central line-associated bloodstream infections in the pediatric intensive care unit. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2011;32(12):1200-8.

32. Aygün G. Damar içi kateter enfeksiyonlarının önlenmesi ve kontrolü. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastane Enfeksiyonları Korunma ve Kontrol Sempozyumu. 2008(60):79-88.

33. Aygün G. Kateter ilişkili bakteremi yönetimi. Yoğun Bakım Dergisi. 2006;6(1):11-7.

34. Tercan F. Venöz kateterizasyon için girim yolları ve kateter tipleri. Türk Hematoloji Derneği - Hematoloji Pratiğinde Uygulamalı Kateterizasyon Kursu. 2006;16-22.

35. Başustaoğlu A. Kan Kültürü Uygulama Kılavuzu. Ankara: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti; 2013.

36. CDC. Bloodstream Infection Event (Central Line-Associated Bloodstream Infection and Non-central Line Associated Bloodstream Infection) Chapter: 4 CLABSI. 2019:1-45.

37. Heffner AC, Androes MP, Davidson I, Wolfson AB, Collins KA. Overview of central venous access: Uptodate; 2019 [updated 18.10.2019 https://www.uptodate.com/contents/overview-of-central-venous-access.

38. Zhang L, Gowardman J, Rickard CM. Impact of microbial attachment on intravascular catheter-related infections. International journal of antimicrobial agents. 2011;38(1):9-15.

39. Kojic EM, Darouiche RO. Candida infections of medical devices. Clinical microbiology reviews. 2004;17(2):255-67.

40. Wolska KI, Grudniak AM, Rudnicka Z, Markowska K. Genetic control of bacterial biofilms. Journal of applied genetics. 2016;57(2):225-38.

41. Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. Clinical Infectious Diseases. 2001;33(8):1387-92.
42. Høiby N. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. Apmis. 2017;125(4):272-5.
43. Henrici AT. Studies of freshwater bacteria: I. A direct microscopic technique. Journal of bacteriology. 1933;25(3):277-87.
44. Zobell CE, Allen EC. The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. Journal of bacteriology. 1935;29(3):239-51.
45. Henrici AT. Studies of freshwater bacteria: III. Quantitative aspects of the direct microscopic method 1. Journal of bacteriology. 1936;32(3):265-80.
46. Hotchkiss M, Waksman SA. Correlative studies of microscopic and plate methods for evaluating the bacterial population of the sea. Journal of bacteriology. 1936;32(4):423-32.
47. Zobell C. The influence of solid surface upon the physiological activities of bacteria in sea water. J Bacteriol. 1937;33:86.
48. Waksman SA, Vartiovaara U. The adsorption of bacteria by marine bottom. The Biological Bulletin. 1938;74(1):56-63.
49. Heukelekian H, Heller A. Relation between food concentration and surface for bacterial growth. Journal of bacteriology. 1940;40(4):547-58.
50. Jendresen MD, Glantz P-O, Baier RE, Eick JD. Microtopography and clinical adhesiveness of an acid etched tooth surface: an in-vivo study. Acta Odontologica Scandinavica. 1981;39(1):47-53.
51. Jendresen MD, Glantz P-O. Clinical adhesiveness of selected dental materials: an in-vivo study. Acta Odontologica Scandinavica. 1981;39(1):39-45.
52. McCoy W, Bryers J, Robbins J, Costerton J. Observations of fouling biofilm formation. Canadian Journal of Microbiology. 1981;27(9):910-7.
53. Nickel J, Ruseska I, Wright J, Costerton J. Tobramycin resistance of Pseudomonas aeruginosa cells growing as a biofilm on urinary catheter material. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1985;27(4):619-24.
54. Høiby N. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. Pathogens and disease. 2014;70(3):205-11.

55. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annual Reviews in Microbiology. 2000;54(1):49-79.

56. Pamp SJ, Gjermansen M, Johansen HK, Tolker-Nielsen T. Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes. Molecular microbiology. 2008;68(1):223-40.

57. Lawrence J, Korber D, Hoyle B, Costerton JW, Caldwell D. Optical sectioning of microbial biofilms. Journal of bacteriology. 1991;173(20):6558-67.

58. Jones H, Roth I, Sanders W. Electron microscopic study of a slime layer. Journal of bacteriology. 1969;99(1):316-25.

59. Toyofuku M, Inaba T, Kiyokawa T, Obana N, Yawata Y, Nomura N. Environmental factors that shape biofilm formation. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 2016;80(1):7-12.

60. Høiby N, Ciofu O, Johansen HK, Song Zj, Moser C, Jensen PØ, et al. The clinical impact of bacterial biofilms. International journal of oral science. 2011;3(2):55.

61. Ono K, Oka R, Toyofuku M, Sakaguchi A, Hamada M, Yoshida S, et al. cAMP signaling affects irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Microbes and environments. 2014;29(1):104-6.

62. Gjermansen M, Ragas P, Sternberg C, Molin S, Tolker-Nielsen T. Characterization of starvation-induced dispersion in *Pseudomonas putida* biofilms. Environmental microbiology. 2005;7(6):894-904.

63. Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerging infectious diseases. 2002;8(9):881-90.

64. Römling U, Galperin MY, Gomelsky M. Cyclic di-GMP: the first 25 years of a universal bacterial second messenger. Microbiol Mol Biol Rev. 2013;77(1):1-52.

65. Nealson KH, Platt T, Hastings JW. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. Journal of bacteriology. 1970;104(1):313-22.

66. Waters CM, Bassler BL. Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2005;21(1):319-46.

67. De Kievit TR, Iglewski BH. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. Infection and immunity. 2000;68(9):4839-49.

68. Abisado RG, Benomar S, Klaus JR, Dandekar AA, Chandler JR. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. MBio. 2018;9(3):e02331-17.

69. Vuong C, Gerke C, Somerville GA, Fischer ER, Otto M. Quorum-sensing control of biofilm factors in *Staphylococcus epidermidis*. The Journal of infectious diseases. 2003;188(5):706-18.

70. Federle MJ, Bassler BL. Interspecies communication in bacteria. The Journal of clinical investigation. 2003;112(9):1291-9.

71. Li Y-H, Tian X. Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. Sensors. 2012;12(3):2519-38.

72. Karaboz İ, Sukatar A. Bakterilerde sosyal davranışlar (Bakterilerde iletişim mekanizmaları). Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi. 2004;2(5):23-32.

73. Coulthurst SJ, Whitehead NA, Welch M, Salmond GP. Can boron get bacteria talking? Trends in biochemical sciences. 2002;27(5):217-9.

74. Tarkka MT, Sarniguet A, Frey-Klett P. Inter-kingdom encounters: recent advances in molecular bacterium–fungus interactions. Current genetics. 2009;55(3):233-43.

75. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL. *Candida* biofilms: an update. Eukaryotic cell. 2005;4(4):633-8.

76. Albuquerque P, Casadevall A. Quorum sensing in fungi–a review. Medical mycology. 2012;50(4):337-45.

77. Kebaara BW, Langford ML, Navarathna DH, Dumitru R, Nickerson KW, Atkin AL. *Candida albicans* Tup1 is involved in farnesol-mediated inhibition of filamentous-growth induction. Eukaryotic cell. 2008;7(6):980-7.

78. Chen H, Fujita M, Feng Q, Clardy J, Fink GR. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2004;101(14):5048-52.

79. Lindsay AK, Deveau A, Piispanen AE, Hogan DA. Farnesol and cAMP signaling effects on the hypha-to-yeast transition in *Candida albicans*. Eukaryotic cell. 2012:EC. 00144-12.

80. Wang X, Wang Y, Zhou Y, Wei X. Farnesol induces apoptosis-like cell death in the pathogenic fungus Aspergillus flavus. Mycologia. 2014;106(5):881-8.

81. Léger T, Garcia C, Ounissi M, Lelandais G, Camadro J-M. The metacaspase (Mca1p) has a dual role in farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans*. Molecular & cellular proteomics. 2015;14(1):93-108.

82. Ghosh S, Howe N, Volk K, Tati S, Nickerson KW, Petro TM. *Candida albicans* cell wall components and farnesol stimulate the expression of both inflammatory and regulatory cytokines in the murine RAW264. 7 macrophage cell line. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2010;60(1):63-73.

83. Nickerson KW, Atkin AL, Hornby JM. Quorum sensing in dimorphic fungi: farnesol and beyond. Applied and environmental microbiology. 2006;72(6):3805-13.

84. Yüksekdağ ZN, Baltacı N. *Staphylococcus aureus* Türlerinde Biyofilm ve Biyofilm Oluşumundan Sorumlu Genler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2013;43:77-83.

85. Schembri MA, Kjærgaard K, Klemm P. Global gene expression in *Escherichia coli* biofilms. Molecular microbiology. 2003;48(1):253-67.

86. Beloin C, Ghigo J-M. Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms. Trends in microbiology. 2005;13(1):16-9.

87. Fitzpatrick F, Humphreys H, O'gara J. The genetics of staphylococcal biofilm formation—will a greater understanding of pathogenesis lead to better management of device-related infection? Clinical Microbiology and Infection. 2005;11(12):967-73.

88. Szweda P, Schielmann M, Milewski S, Frankowska A, Jakubczak A. Biofilm production and presence of ica and bap genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with mastitis in the eastern Poland. Pol J Microbiol. 2012;61(1):65-9.

89. Nourbakhsh F, Namvar AE. Detection of genes involved in biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates. GMS hygiene and infection control. 2016;11.

90. Seng R, Kitti T, Thummeepak R, Kongthai P, Leungtongkam U, Wannalerdsakun S, et al. Biofilm formation of methicillin-resistant coagulase negative staphylococci (MR-CoNS) isolated from community and hospital environments. PloS one. 2017;12(8):e0184172.

91. Azizi O, Shahcheraghi F, Salimizand H, Modarresi F, Shakibaie MR, Mansouri S, et al. Molecular analysis and expression of bap gene in biofilm-forming multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Reports of biochemistry & molecular biology. 2016;5(1):62-72.

92. Thummeepak R, Kongthai P, Leungtongkam U, Sitthisak S. Distribution of virulence genes involved in biofilm formation in multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. Int Microbiol. 2016;19(2):121-9.

93. Lee HW, Koh Y, Kim J, Lee JC, Lee YC, Seol SY, et al. Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. Clinical microbiology and infection. 2008;14(1):49-54.

94. Liou M-L, Soo P-C, Ling S-R, Kuo H-Y, Tang CY, Chang K-C. The sensor kinase BfmS mediates virulence in *Acinetobacter baumannii*. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2014;47(4):275-81.

95. Weinstein RA, Darouiche RO. Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. Clinical Infectious Diseases. 2001;33(9):1567-72.

96. Aydemir DH. The Biological Significance of Bacterial Biofilms and Effective Control Strategies. Türk Yaşam Bilimleri Dergisi.3(1):218-30.

97. Lindsay D, Von Holy A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. Journal of Hospital Infection. 2006;64(4):313-25.

98. Gupta P, Sarkar S, Das B, Bhattacharjee S, Tribedi P. Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: a review. Archives of microbiology. 2016;198(1):1-15.

99. Römling U, Kjelleberg S, Normark S, Nyman L, Uhlin BE, Åkerlund B. Microbial biofilm formation: a need to act. Journal of internal medicine. 2014;276(2):98-110.

100. Gaillard JL, Merlino R, Pajot N, Goulet O, Fauchere JL, Ricour C, et al. Conventional and nonconventional modes of vancomycin administration to decontaminate the internal surface of catheters colonized with coagulase-negative staphylococci. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition. 1990;14(6):593-7.

101. Simon VC, Simon M. Antibacterial activity of teicoplanin and vancomycin in combination with rifampicin, fusidic acid or fosfomycin against staphylococci on vein catheters. Scand J Infect Dis Suppl. 1990;72:14-9.

102. Aslam S. Effect of antibacterials on biofilms. AJIC: American Journal of Infection Control. 2008;10(36):S175. 9-11.

103. Miquel S, Lagrafeuille R, Souweine B, Forestier C. Anti-biofilm activity as a health issue. Frontiers in microbiology. 2016;7:592.

104. Azeredo J, Azevedo NF, Briandet R, Cerca N, Coenye T, Costa AR, et al. Critical review on biofilm methods. Critical reviews in microbiology. 2017;43(3):313-51.

105. Temel A, Bayrı E. Bakteriyel biyofilmler: saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2018;48(1):1-13.

106. Coffey BM, Anderson GG. Biofilm formation in the 96-well microtiter plate. *Pseudomonas* Methods and Protocols: Springer; 2014. p. 631-41.

107. Pantanella F, Valenti P, Natalizi T, Passeri D, Berlutti F. Analytical techniques to study microbial biofilm on abiotic surfaces: pros and cons of the main techniques currently in use. Ann Ig. 2013;25(1):31-42.

108. Ommen P, Zobek N, Meyer RL. Quantification of biofilm biomass by staining: Non-toxic safranin can replace the popular crystal violet. Journal of microbiological methods. 2017;141:87-9.

109. Parrino B, Diana P, Cirrincione G, Cascioferro S. Bacterial Biofilm Inhibition in the Development of Effective Anti-Virulence Strategy. The open medicinal chemistry journal. 2018;12:84.

110. Cavalheiro M, Teixeira MC. Candida biofilms: threats, challenges, and promising strategies. Frontiers in medicine. 2018;5:28.

111. Eggimann P, Pittet D. Overview of catheter-related infections with special emphasis on prevention based on educational programs. Clinical Microbiology and Infection. 2002;8(5):295-309.

112. Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, O'grady N, Harris JS, et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2001;22(4):222-42.

113. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. infection control & hospital epidemiology. 2016;37(11):1288-301.

114. Boktour M, Hanna H, Ansari S, Bahna B, Hachem R, Tarrand J, et al. Central venous catheter and *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia in cancer patients. Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society. 2006;106(9):1967-73.

115. Filler S, Kullberg B, Calderone R. *Candida* and candidiasis. . Washington DC: ASM Press. Emerg Infect Dis. 2002 Aug; 8(8): 876.

116. Choi JY, Kwak YG, Yoo H, Lee S-O, Kim HB, Han SH, et al. Trends in the distribution and antimicrobial susceptibility of causative pathogens of device-associated infection in Korean intensive care units from 2006 to 2013: results from the Korean Nosocomial Infections Surveillance System (KONIS). Journal of Hospital Infection. 2016;92(4):363-71.

117. Hekimoğlu CH, Batır E, Şardan YÇ, Kılıç S, Yıldız SS, Gözel G, et al. T.C. Sağlık Bakanlığı Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Etken Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Raporu 2017. 2018.

118. Hatipoğlu ÇA, İpekkan K, Oral B, Önde U, Bulut C, Demiröz AP. Yoğun Bakım Ünitelerinde Gelişen Kateter ile İlişkili Kan Dolaşımı Enfeksiyonlarının Tanısında Kullanılan Yöntemlerin Değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):75-85.

119. Aktaş E, Sarı E, Keskin Seremet A, Pişkin N, Külah C, Cömert F. Damar içi kateter ile ilişkili enfeksiyon etkenleri ve antibiyotik duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):86-92.

120. Nielsen XC, Chen M, Hellesøe A-MB, Jeppesen PB, Gyldenlykke J, Tvede M, et al. Etiology and epidemiology of catheter related bloodstream infections in patients receiving home parenteral nutrition in a gastromedical center at a tertiary hospital in denmark. The open microbiology journal. 2012;6:98.

121. Lorente L, Henry C, Martín MM, Jiménez A, Mora ML. Central venous catheter-related infection in a prospective and observational study of 2,595 catheters. Critical Care. 2005;9(6):631-5.

122. Kendirli T, Yaman A, Ödek Ç, Özdemir H, Karbuz A, Aldemir B, et al. Central Line-Associated Bloodstream Infections in Pediatric Intensive Care Unit. Cocuk Acil ve Yogun Bakım. 2017;4(2):42.

123. Atilla A, Doğanay Z, Çelik HK, Kılıç SS. Yoğun bakım ünitelerinde santral kateter ilişkili kan dolaşımı infeksiyon hızı, etken mikroorganizmaların dağılımı ve antibiyotik duyarlılık oranları: 5.5 yıllık sonuçlar. Flora 2015;20(1):22-29.

124. Parameswaran R, Sherchan JB, Varma M, Mukhopadhyay C, Vidyasagar S. Intravascular catheter-related infections in an Indian tertiary care hospital. The Journal of Infection in Developing Countries. 2011;5(06):452-8.

125. Santarpia L, Alfonsi L, Tiseo D, Creti R, Baldassarri L, Pasanisi F, et al. Central venous catheter infections and antibiotic therapy during long-term home parenteral nutrition: an 11-year follow-up study. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition. 2010;34(3):254-62.

126. Advani S, Reich NG, Sengupta A, Gosey L, Milstone AM. Central line–associated bloodstream infection in hospitalized children with peripherally inserted central venous catheters: extending risk analyses outside the intensive care unit. Clinical infectious diseases. 2011;52(9):1108-15.

127. Maki D, Mermel L. Infections due to infusion therapy. In. Bennett JV, Brachman, PS, eds. Hospital Infections. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998.

128. Safdar N, Maki DG. Inflammation at the insertion site is not predictive of catheter-related bloodstream infection with short-term, noncuffed central venous catheters. Critical care medicine. 2002;30(12):2632-5.

129. Miller L, Clark E, Dipchand C, Hiremath S, Kappel J, Kiaii M, et al. Hemodialysis tunneled catheter-related infections. Canadian Society of Nephrology Vascular Access Work Group. Can J Kidney Health Dis. 2016;3:1-11.

130. Chaves F, Garnacho-Montero J, Del Pozo J, Bouza E, Capdevila J, de Cueto M, et al. Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: Clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). Medicina intensiva. 2018;42(1):5-36.

131. Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'grady NP, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clinical infectious diseases. 2009;49(1):1-45.

132. Høiby N, Bjarnsholt T, Moser C, Bassi G, Coenye T, Donelli G, et al. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. Clinical microbiology and infection. 2015;21:S1-S25.

133. KLİMUD Kan Dolaşımı Örnekleri (Kan Kültürü) Rehberi 2017:30-40.

134. Bouza E, Alcalá L, Muñoz P, Martín-Rabadán P, Guembe M, Rodríguez-Créixems M. Can microbiologists help to assess catheter involvement

in candidaemic patients before removal? Clinical Microbiology and Infection. 2013;19(2):129-35.

135. Fernández-Cruz A, Martín-Rabadán P, Suárez-Salas M, Rojas-Wettig L, Pérez MJ, Guinea J, et al. Is it feasible to diagnose catheter-related candidemia without catheter withdrawal? Medical mycology. 2014;52(5):491-7.

136. Aktaş E, Sarı EN, Keskin AS, Pişkin N, Külah C, Cömert F. Damar içi kateter ile ilişkili enfeksiyon etkenleri ve antibiyotik duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul. 2011;45(1):86-92.

137. Dobbins BM, Wilcox MH, McMahon MJ. Rapid diagnosis of central-venous-catheter-related bloodstream infection without catheter removal. The Lancet. 1999;354(9189):1504-7.

138. Zufferey J, Rime B, Francioli P, Bille J. Simple method for rapid diagnosis of catheter-associated infection by direct acridine orange staining of catheter tips. Journal of clinical microbiology. 1988;26(2):175-7.

139. Bouza E, Burillo A, Munoz P. Catheter-related infections: diagnosis and intravascular treatment. Clinical Microbiology and Infection. 2002;8(5):265-74.

140. Centers for Disease Control and Prevention. Vital signs: central line–associated blood stream infections—United States, 2001, 2008, and 2009. Annals of Emergency Medicine. 2011;58(5):447-50.

141. Sherertz RJ, Ely EW, Westbrook DM, Gledhill KS, Streed SA, Kiger B, et al. Education of physicians-in-training can decrease the risk for vascular catheter infection. Annals of internal medicine. 2000;132(8):641-8.

142. Soifer NE, Borzak S, Edlin BR, Weinstein RA. Prevention of peripheral venous catheter complications with an intravenous therapy team: a randomized controlled trial. Archives of Internal Medicine. 1998;158(5):473-7.

143. Tomford JW, Hershey CO. The iv therapy team: impact on patient care and costs of hospitalization. Journal of Infusion Nursing. 1985;8(5):387-9.

144. Fridkin SK, Pear SM, Williamson TH, Galgiani JN, Jarvis WR. The role of understaffing in central venous catheter-associated bloodstream infection. Infection Control & Hospital Epidemiology. 1996;17(3):150-8.

145. Casey AL, Mermel LA, Nightingale P, Elliott TS. Antimicrobial central venous catheters in adults: a systematic review and meta-analysis. The Lancet infectious diseases. 2008;8(12):763-76.

146. Maki DG, Stolz SM, Wheeler S, Mermel LA. Prevention of Central Venous Catheter-Related Bloodstream Infection by Use of an Antiseptic-Impregnated Catheter: A Randomized, Controlled Trial. Annals of Internal Medicine. 1997;127(4):257-66.

147. Oda T, Hamasaki J, Kanda N, Mikami K. Anaphylactic shock induced by an antiseptic-coated central nervous catheter. Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists. 1997;87(5):1242-4.

148. Raad II, Luna M, Khalil S-AM, Costerton JW, Lam C, Bodey GP. The relationship between the thrombotic and infectious complications of central venous catheters. Jama. 1994;271(13):1014-6.

149. Timsit JF, Farkas JC, Boyer JM, Martin JB, Misset B, Renaud B, et al. Central vein catheter-related thrombosis in intensive care patients: incidence, risks factors, and relationship with catheter-related sepsis. Chest. 1998;114(1):207-13.

150. Marklein G, Josten M, Klanke U, Müller E, Horre R, Maier T, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. Journal of clinical microbiology. 2009;47(9):2912-7.

151. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier P-E, Rolain JM, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clinical Infectious Diseases. 2009;49(4):543-51.

152. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. Frontiers in microbiology. 2015;6:791.

153. Badave GK, Kulkarni D. Biofilm producing multidrug resistant Acinetobacter baumannii: an emerging challenge. Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. 2015;9(1):08-10.

154. Tayabali AF, Nguyen KC, Shwed PS, Crosthwait J, Coleman G, Seligy VL. Comparison of the virulence potential of *Acinetobacter* strains from clinical and environmental sources. PloS one. 2012;7(5):e37024:1-11.

155. Szczuka E, Jabłońska L, Kaznowski A. Effect of subinhibitory concentrations of tigecycline and ciprofloxacin on the expression of biofilm-associated genes and biofilm structure of *Staphylococcus epidermidis*. Microbiology. 2017;163(5):712-8.

156. Beriş FŞ, Budak EE, Gülek D, Uzun A, Çizmeci Z, Mengeloğlu FZ, et al. Türkiye'nin Farklı Bölgelerinden Toplanan Klinik *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Beta-Laktamaz Gen Sıklığı ve Dağılımının Araştırılması: Çok Merkezli Bir Çalışma. Mikrobiyol Bul. 2016;50(4):511-21.

157. Suetens C, Morales I, Savey A, Palomar M, Hiesmayr M, Lepape A, et al. European surveillance of ICU-acquired infections (HELICS-ICU): methods and main results. Journal of Hospital Infection. 2007;65:171-3.

158. Pittet D. Infection control and quality health care in the new millenium. American journal of infection control. 2005;33(5):258-67.

159. Rosenthal VD, Maki DG, Salomao R, Moreno CÁ, Mehta Y, Higuera F, et al. Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries. Annals of internal medicine. 2006;145(8):582-91.

160. Chen XX, Lo YC, Su LH, Chang CL. Investigation of the case numbers of catheter-related bloodstream infection overestimated by the central line-associated bloodstream infection surveillance definition. Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2015;48(6):625-31.

161. Buetti N, Priore EL, Atkinson A, Widmer AF, Kronenberg A, Marschall J. Catheter-related infections: does the spectrum of microbial causes change over time? A nationwide surveillance study. BMJ open. 2018;8(12):e023824.

162. Hebeisen UP, Atkinson A, Marschall J, Buetti N. Catheter-related bloodstream infections with coagulase-negative staphylococci: are antibiotics necessary if the catheter is removed? Antimicrobial Resistance & Infection Control. 2019;8(1):21.

163. Raad I, Hachem R, Hanna H, Bahna P, Chatzinikolaou I, Fang X, et al. Sources and outcome of bloodstream infections in cancer patients: the role of central venous catheters. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2007;26(8):549.

164. Rijnders BJ, Peetermans WE, Verwaest C, Wilmer A, Van Wijngaerden E. Watchful waiting versus immediate catheter removal in ICU patients with suspected catheter-related infection: a randomized trial. Intensive care medicine. 2004;30(6):1073-80.

165. Hakyemez İN. Santral Venöz Kateter İlişkili İnfeksiyonların Sıklığı ve Risk Faktörlerinin Analizi: Uzmanlık tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2008.

166. Wisplinghoff H, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Current trends in the epidemiology of nosocomial bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms in hospitals in the United States. Clinical Infectious Diseases. 2003;36(9):1103-10.

167. Tarpatzi A, Avlamis A, Papaparaskevas J, Daikos GL, Stefanou I, Katsandri A, et al. Incidence and risk factors for central vascular catheter-related bloodstream infections in a tertiary care hospital. Microbiologica-Quarterly Journal of Microbiological Sciences. 2012;35(4):429.

168. Lata C, Girard L, Parkins M, James MT. Catheter-related bloodstream infection in end-stage kidney disease: a Canadian narrative review. Canadian journal of kidney health and disease. 2016;3(1):24.

169. James MT, Laupland KB, Tonelli M, Manns BJ, Culleton BF, Hemmelgarn BR. Risk of bloodstream infection in patients with chronic kidney disease not treated with dialysis. Archives of internal medicine. 2008;168(21):2333-9.

170. Turken M, Toker AK, Zincirlioglu C, Kose S. Risk factors and Incidence of Catheter-Related Bloodstream Infections in a Tertiary Hospital ICU. 2019;3(1):32-6.

171. Yılmaz N, Köse Ş, Ağuş N, Ece G, Akkoçlu G, Kıraklı C. Yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan kültürlerinde üreyen mikroorganizmalar,

antibiyotik duyarlılıkları ve nozokomiyal bakteriyemi etkenleri. Ankem Derg. 2010;24(1):12-9.

172. Marschall J. Catheter-associated bloodstream infections: looking outside of the ICU. American journal of infection control. 2008;36(10):S172. e5-S. e8.

173. Hekimoğlu CH, Batır E. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Etken Dağılımı ve Antibiyotik Direnç Raporu 2017. 2018. p. 1-43.

174. Trilla A. Epidemiology of nosocomial infections in adult intensive care units. Intensive Care Medicine. 1994;20(3):S1-S4.

175. Trick WE, Vernon MO, Welbel SF, Wisniewski MF, Jernigan JA, Weinstein RA. Unnecessary use of central venous catheters: the need to look outside the intensive care unit. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2004;25(3):266-8.

176. Rogers KL, Fey PD, Rupp ME. Coagulase-negative staphylococcal infections. Infectious disease clinics of North America. 2009;23(1):73-98.

177. Inan D, Saba R, Yalcin AN, Yilmaz M, Ongut G, Ramazanoglu A, et al. Device-associated nosocomial infection rates in Turkish medical-surgical intensive care units. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2006;27(4):343-8.

178. Köse A, Mamıkoğlu L. An Evaluation of Catheter-Related Bloodstream Infections in Intensive Care Units. Journal of Turgut Ozal Medical Center. 2015;22(1).

179. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clinical infectious diseases. 2004;39(3):309-17.

180. Velasco E, Byington R, Martins C, Schirmet M, Dias L, Gonçalves V. Bloodstream infection surveillance in a cancer centre: a prospective look at clinical microbiology aspects. Clinical microbiology and infection. 2004;10(6):542-9.

181. Yousif A, Jamal MA, Raad I. Biofilm-based central line-associated bloodstream infections. Biofilm-based healthcare-associated infections: Springer; 2015. p. 157-79.

182. Hajjej Z, Nasri M, Sellami W, Gharsallah H, Labben I, Ferjani M. Incidence, risk factors and microbiology of central vascular catheter-related bloodstream infection in an intensive care unit. Journal of Infection and Chemotherapy. 2014;20(3):163-8.

183. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases. 2015;62(4):e1-e50.

184. Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. Clinical microbiology reviews. 1994;7(1):117-40.

185. Öcal D. Santral Venöz Kateterlerden İzole Edilen Koagülaz Negatif Stafilokokların Antimikrobiyal Direnç Profilleri ve Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması: Uzmanlık tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 2015.

186. Hashem AA, Metwally LA, El Islam HN, Elazab SZ, Islam HNE, Mansour MK. Biofilm Production and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus epidermidis* in Catheter Related Bloodstream Infections. Egyptian Journal of Medical Microbiology. 2017; 26 (4):73-80.

187. Kord M, Ardebili A, Jamalan M, Jahanbakhsh R, Behnampour N, Ghaemi EA. Evaluation of Biofilm Formation and Presence of Ica Genes in *Staphylococcus epidermidis* Clinical Isolates. Osong public health and research perspectives. 2018;9(4):160.

188. Hashem AA, Abd El Fadeal NMA, Shehata AS. In vitro activities of vancomycin and linezolid against biofilm-producing methicillin-resistant staphylococci species isolated from catheter-related bloodstream infections from an Egyptian tertiary hospital. Journal of medical microbiology. 2017;66(6):744-52.

189. Şahin R. *Staphylococcus aureus* suşlarında biyofilm üretimi, biyofilm pozitif ve negatif suşların genotipik ve fenotipik karakterlerinin karşılaştırılması: Uzmanlık tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli 2007.

190. Solmaz S. *Acinetobacter* İle İlişkili Kateter Enfeksiyonlarında Antibiyotik Kilit Tedavi Modelinin Değerlendirilmesi ve Biyofilm İlişkili Genlerin Araştırılması: Uzmanlık tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara; 2015.

191. Zeighami H, Valadkhani F, Shapouri R, Samadi E, Haghi F. Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients. BMC infectious diseases. 2019;19(1):629.

192. Yang CH, Su PW, Moi SH, Chuang LY. Biofilm Formation in *Acinetobacter Baumannii*: Genotype-Phenotype Correlation. Molecules. 2019;24(10):1849.

193. Olejnickova K, Hola V, Ruzicka F. Catheter-related infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: virulence factors involved and their relationships. Pathogens and disease. 2014;72(2):87-94.

194. Eze EC, Chenia HY, El Zowalaty ME. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. Infection and drug resistance. 2018;11:2277.

195. De Silva PM, Chong P, Fernando DM, Westmacott G, Kumar A. Effect of incubation temperature on antibiotic resistance and virulence factors of *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2018;62(1):e01514-17.

196. Babapour E, Haddadi A, Mirnejad R, Angaji S-A, Amirmozafari N. Biofilm formation in clinical isolates of nosocomial *Acinetobacter baumannii* and its relationship with multidrug resistance. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2016;6(6):528-33.

197. Pinheiro L, Brito CI, Pereira VC, Oliveira Ad, Camargo CH, Cunha MdLRd. Reduced susceptibility to vancomycin and biofilm formation in

methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from blood cultures. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 2014;109(7):871-8.

198. Arciola CR, Baldassarri L, Montanaro L. Presence of icaA and icaD genes and slime production in a collection of Staphylococcal strains from catheter-associated infections. Journal of clinical microbiology. 2001;39(6):2151-6.

199. Gad GFM, El Feky MA, El Rehewy MS, Hassan MA, Abolella H, El Baky RMA. Detection of icaA, icaD genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. The Journal of Infection in Developing Countries. 2009;3(05):342-51.

200. Zhou S, Chao X, Fei M, Dai Y, Liu B. Analysis of *S. epidermidis* icaA and icaD genes by polymerase chain reaction and slime production: a case control study. BMC infectious diseases. 2013;13(1):242.

201. Cafiso V, Bertuccio T, Santagati M, Campanile F, Amicosante G, Perilli M, et al. Presence of the ica operon in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* and its role in biofilm production. Clinical Microbiology and Infection. 2004;10(12):1081-8.

202. Nasr RA, AbuShady HM, Hussein HS. Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. Egyptian journal of medical human genetics. 2012;13(3):269-74.

203. Vandecasteele S, Peetermans W, R Merckx R, Rijnders B, Van Eldere J. Reliability of the ica, aap and atlE genes in the discrimination between invasive, colonizing and contaminant *Staphylococcus epidermidis* isolates in the diagnosis of catheter-related infections. Clinical microbiology and infection. 2003;9(2):114-9.

204. Fowler Jr VG, Fey PD, Reller LB, Chamis AL, Corey GR, Rupp ME. The intercellular adhesin locus ica is present in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from bacteremic patients with infected and uninfected prosthetic joints. Medical microbiology and immunology. 2001;189(3):127-31.

205. Rohde H, Knobloch JK, Horstkotte MA, Mack D. Correlation of *Staphylococcus aureus* icaADBC genotype and biofilm expression phenotype. Journal of Clinical Microbiology. 2001;39(12):4595-6.

206. Badmasti F, Siadat SD, Bouzari S, Ajdary S, Shahcheraghi F. Molecular detection of genes related to biofilm formation in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical settings. Journal of medical microbiology. 2015;64(5):559-64.

207. Bardbari AM, Arabestani MR, Karami M, Keramat F, Alikhani MY, Bagheri KP. Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and MDR patterns in clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates. Microbial pathogenesis. 2017;108:122-8.

208. Leblebicioglu H, Rosenthal V, Arıkan Ö, Özgültekin A, Yalcin A, Koksal I, et al. Device-associated hospital-acquired infection rates in Turkish intensive care units. Findings of the International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC). Journal of Hospital infection. 2007;65(3):251-7.

209. Ghasemian A, Peerayeh SN, Bakhshi B, Mirzaee M. Comparison of biofilm formation between Methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus aureus*. Iranian biomedical journal. 2016;20(3):175.

210. O'Neill E, Pozzi C, Houston P, Smyth D, Humphreys H, Robinson DA, et al. Association between methicillin susceptibility and biofilm regulation in *Staphylococcus aureus* isolates from device-related infections. Journal of clinical microbiology. 2007;45(5):1379-88.

211. O'Gara JP. ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. FEMS microbiology letters. 2007;270(2):179-88.

212. Pozzi C, Waters EM, Rudkin JK, Schaeffer CR, Lohan AJ, Tong P, et al. Methicillin resistance alters the biofilm phenotype and attenuates virulence in *Staphylococcus aureus* device-associated infections. PLoS pathogens. 2012;8(4):e1002626.

213. Eyigör M, Gümüş S, Togay A, Mutlu D, Gültekin M, Çolak D, et al. Klinik örneklerden izole edilen karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii*

suşlarında biyofilm üretiminin araştırılması, XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, Antalya, Türkiye, 16-20 Kasım 2016:374-.

214. Kumari AMS, Routray A, Yadav D, Madhavan R. Imipenem resistance and biofilm production in *Acinetobacter*. Drug invention today. 2013;5(3):256-8.

215. Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, et al. Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*. Frontiers in microbiology. 2016;7:483.

216. Rodríguez-Baño J, Marti S, Soto S, Fernández-Cuenca F, Cisneros JM, Pachón J, et al. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. Clinical microbiology and infection. 2008;14(3):276-8.

EKLER

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

2018

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Morfoloji Binası A Blok 1. Kat No: A1-05 Kampüs /ANTALYA
	TELEFON	0 (242) 249 69 54
	FAKS	0 (242) 249 69 03
	E-POSTA	etik@akdeniz.edu.tr
	ETİK KURUL KODU	2012-KAEK-20
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI		Prof.Dr.Mete EYİGÖR
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Kateter Kaynaklı Kan Dolaşımı Enfeksiyonu Etkenlerinin Belirlenmesi ve Biyofilm Oluşumunun Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması
KARAR BİLGİLERİ	**Karar No: 29**	**Tarih: 03.01.2018**
	Yukarıda bilgileri verilen çalışmanın bütçesinin Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açısından sakınca olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir. Araştırmacılara çalışmalarında başarılar dileriz.	

Prof.Dr. Ayda TAŞATARGİL
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Öğr.Gör.Dr.M.Levent ÖZGÖNÜL
Başkan Yardımcısı

Prof.Dr.Murat CANPOLAT
Üye

Prof.Dr.Dilara İNAN
Üye

Prof.Dr.Selahattin KUMRU
Üye

Prof.Dr.Bilge KARSLI
Üye

Prof.Dr.Veli YAZISIZ
Üye

Prof.Dr.Oğuz DURSUN
Üye

Doç.Dr.Gülsüm Özge BAYSAL
Üye (İzinli)

Doç.Dr.Dijle KİPMEN KORGUN
Üye (İzinli)

Doç.Dr.Banu NUR
Üye (İzinli)

Yrd.Doç.Dr. Mehtap TÜRKAY
Üye

Dr.Ünal HÜLÜR
Üye (İzinli)

Turgut ALTUN
Üye (İzinli)

Av.Mustafa AÇIKEL
Üye

Ek 1. Etik kurul belgesi