

KLİNİKTE BİYOFİLMLEİN ÖNLENMESİ İÇİN ANTİBİYOFİLM STRATEJİLERİ

ANTIBIOFILM STRATEGIES FOR PREVENTION OF BIOFILMS IN THE CLINIC

Nur CEYHAN

Muğla Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Muğla

Anahtar Sözcükler: Biyofilm, biyofilm önlenmesi, antibiyofilm stratejileri

Keywords: Biofilm, biofilm prevention, antibiofilm strategies

Geliş: 23 Mayıs 2008

Kabul: 16 Temmuz 2008

ÖZET

Biyofilm olarak bilinen tutunmuş çok-hücreli topluluklar tarafından birçok klinik alet ve ekipmanda sıklıkla kolonizasyon gerçekleşmektedir. Hatta, biyofilmlerin bugün için antibiyotik tedavisine direnç gösteren inatçı infeksiyonların kaynağı olabildiği ortaya konulmuştur. Bu inatçılığın bir sonucu olarak, klinik-ilişkili biyofilm oluşumunu önlemek amacıyla klasik antimikrobiyal ajan tedavi yaklaşımları dışında daha etkili ve komplike teknolojilere gereksinim vardır. Çalışmada, zararlı biyofilmlerin engellenmesi ve giderilmesi üzerinde geliştirilen yeni antibiyofilm yaklaşımlar sunulmuştur.

SUMMARY

Many clinical equipment and tools are frequently colonized by sessile multicellular communities known as biofilms. In addition, some persistent infections resistant to antibiotic treatment are caused by biofilms. In view of these persisting infections, beside antimicrobial therapy, more affective and sophisticated technologies are needed to prevent clinical biofilm formation. In this paper, the new antibiofilm strategies for the prevention and control of detrimental biofilms are reviewed.

Klinikte, antimikrobiyal ajanların kullanımıyla ilgili sorunlar, daha hızlı etki eden ve bilinmeyen yan ürünler üretmeyen yeni dezenfektanlara ihtiyacın ortaya çıkmasını sağlamıştır. Dezenfeksiyon patojenik mikroorganizmaların defedilmesi ya da kimyasallarla (örneğin, klorinasyon) ya da fiziksel (örneğin; filtreleme, UV radyasyonu) yollarla etkinliğinin yok edilmesi, böylece infeksiyon riskinin azaltılmasıdır. İdeal bir dezenfektanın geniş bir antimikrobiyal etkinliğinin olması gerekmektedir, bununla beraber nontoksik olmalı ve iritasyon yaratmamalıdır (1). Ayrıca dezenfeksiyon yüzeyiyle uyumlu, hazırlanması ve kullanımı kolay olmalı, stabil, ucuz, kolay bulunabilir olmalı ve kötü kokmamalıdır. Yine de hiçbir antiseptik veya dezenfektan ideal değildir ve belirtilen kriterler bakımından uygun olmayabilir.

Dezenfektanları üç farklı kategoriye ayırmıştır: (a) uzun süre maruz kalmalarda endosporlara karşı etkili, yüksek etkili dezenfektanlar; (b) tüberkülosidal olan ama sporidal olmayan orta etkili dezenfektanlar; (c) bakteriyal endosporları, tüberküloz ya da küçük, lipit olmayan RNA viruslarını (örneğin, enterovirus) tamamen yok etmeyen düşük etkili dezenfektanlar (2). Varolan dezenfektanların etkilerinin artırılması ya da yenilerinin tasarlanması üzerine sürekli çalışmalar yapılmaktadır. Aynı etkideki antimikrobiyal ürünlerin farklı etkinlik dereceleri gösterecek şekilde ürün formüllerinin değiştirilmesiyle, antimikrobiyal maddelerin etkinliği, yüksek oranda artırılabilir. Etkinlik pH'dan, deterjan doğasından, emuliyantlar ve hümeektantlardan, iyonik doğasından ve sürfaktant çeşidinden etkilenebilmektedir (1).

Bakteriler çoğu yerde yaşayabilen organizmalardır ve bunların her yerde bulunmaları insanların onlarla sürekli temas halinde olmasını gerektirmektedir. Klinik açıdan önemli patojenlerin son 10-15 yıl içinde, antibiyotik direnci giderek artmıştır. Antibiyotiklerin insanlarda fazla kullanımı çoklu direnç geliştiren bakterilere yol açmıştır. Bu durum günümüzdeki bakteri kontrol yöntemlerini zora sokmaktadır. Bu nedenle gelecek için yeni ve daha etkili antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç olduğu, bakterilerin kontrolü ve yok edilmesi için yeni teknikler gerektiği açıktır (1).

Biyofilmler yeterli nemin bulunduğu yüzeylerdeki hücre dışı matriks (EPS)'de bulunan mikro-organizma topluluklarıdır. Klinik biyofilmlerin büyümesi sonucunda sağlıkla ilgili ciddi problemler ortaya çıkabilmektedir. Yüzeydeki biyofilmler nedeniyle ortaya çıkan bakteri gelişiminin antimikrobiyallerle tedavisi daha zordur ve tehlikeli infeksiyonların oluşmasına yol açar. Biyofilmlerin büyüme paternleri, boyutu ve oluşumu substrat yapısına, kompozisyona, mikro-organizma türüne ve diğer faktörlere bağlıdır (1).

Biyofilm içindeki bakterilerin dirençliliğini arttıran birçok neden vardır. Bunlar (a) biyofilm içindeki hücelere dezenfektanın nüfuzunun engellenmesi, (b) dezenfektan ve biyofilm arasındaki kimyasal etkileşim, (c) mikroçevrenin kurulumu, (d) parçalayıcı enzimlerin (ve nötralize eden kimyasalların) üretimi, ya da (e) hücreler ve biyofilm arasında genetik değiş tokuştur. Fakat biyofilmden alınan ve sıvı kültürde tekrar kültür edilen bakteriler, genelde o türün "normal" planktonik hücrelerinden daha dayanıksızdır (1).

Klinik ekipman ve implantlarda oluşan özellikle *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus* gibi organizmaların oluşturduğu biyofilmler, infeksiyonların ana nedenlerinden biridir (3). İstenmeyen biyofilmleri temizlemek için belirgin sistemlere uygulanabilen bazı teknikler vardır (4, 5). Bunlar arasında (a) mekanik temizleme, (b) antimikrobiyal ajanların kullanımı, (c) önemli besinlerin kaldırılması ile biyofilm gelişimini engellemek, (d) mikrobiyal yapışmaları engellemek, ve (e) biyokütle çıkarımının desteklenmesi bulunmaktadır. Mekanik temizleme ve antimikrobiyal ajanlar en çok kullanılan yöntemlerdir. Mekanik temizleme pahalı olabilir, çünkü genelde alet kullanımı ve ciddi miktarda iş gücü gerektirir. Kirlenmiş bölgeye ulaşılamaması gibi bazı durumlarda da kullanılamaz. Biosit ve dezenfektanların kullanımı, biyofilmdeki mikro-organizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı direnç oluşturması duru-

munda etkisiz kalabilir (5, 6). Biyofilmin gerekli besinlerden mahrum bırakılması yoluyla temizlenmesi ve bu stratejinin etkinliğini belirleme üzerine çalışmalar devam etmektedir (6). Bu strateji ortamdaki besinlerin kontrol edilemediği durumlarda ve ortamlarda kullanılamamaktadır.

Biyofilmin ayrılmasını destekleyen stratejiler, üzerinde en az durulanlardır (5). Biyofilm temizliğinde biyofilm matriksinin fiziksel bütünlüğünü bozmak, biyofilm temizliğinin önemli olduğu tıbbi ve endüstriyel işlemler için çekici bir alternatiftir. Bu yaklaşım, ekolojik dengeyi bozma eğiliminde olan toksik antimikrobiyal ajanların kullanılmasının azalması ile bir avantaj sağlayacaktır (7).

Biyofilmlerin önlenmesinde bugün konvensiyonel uygulamalara alternatif olarak daha yüksek EPS parçalama kapasitesine ve verimine sahip mikro-organizmaların keşfi üzerinde bazı çalışmalar vardır. Böylece, EPS'leri parçalayabilme yeteneğine sahip bakterilerin, istenmeyen biyofilmlere karşı potansiyel-biyoparçalama ajanları olarak kullanılabilirliği mümkün olacaktır. Bununla beraber, EPS'yi parçalayan bakteriyel polisakkarazlar ve proteazların daha detaylı taranmasıyla, zararlı biyofilmler için dezenfektan ve temizleme ajanı olarak kullanılabilirleri şüphesizdir (8). Hatta silikon kateterler üzerindeki birkaç *Candida* türü ve *Saccharomyces cerevisiae* biyofilmini inhibe edici ajanın yine *Candida* hücrelerinin oluşturduğu bir biyofilm olduğu bildirilmiştir (9).

Leroy ve ark. (10) tarafından, biyofilm oluşturucu deniz mikro-organizma veya makro-organizmalarının dirençliliklerinden dolayı, öldürülmesinden ziyade enzimatik olarak biyofilm matriksin (EPS'nin) parçalanması ile adhezyonun inhibisyonu önerilmiştir. Hücre dışı polimerik matriksin yapışkanlığının enzimatik olarak giderilmesiyle biyofilm kontrol stratejilerinin mümkün olabileceği kinetik bir modelin önerildiği modelleme çalışmasıyla da ortaya konulmuştur (11).

Biyofilm matriksi çok sayıda heteropolisakkarit içerir. Bu nedenle EPS'lerin şeker içeriğinin tayini ve tüm şekerler için ayrı enzimatik aktivitenin eklenmesi önemlidir. Zararlı biyofilmlerle mücadelede EPS'nin parçalanması için spesifik polisakkarazların proteazlar, lipazlar ve glikoproteazlar ile uygulanmasının avantajı daha fazladır. Yine proteazların kullanımıyla yüzeylere sıvı akışı ile taşınan organik biyofauling de önenebilecektir (12).

Günümüzde yeni antimikrobiyal hedeflerin saptanmasına yönelik araştırmalar arasında, bir bakteri topluluğu

içindeki hücrelerin birbirleri arasındaki iletişimin engellenmesi konusundaki çalışmalar, henüz pratiğe yansımamış olsa da, gelecek için umut vaatmektedir. Quorum Sensing (QS) adıyla bilinen ve bakteri hücrelerinin aynı topluluk içindeki türdeşlerinin yoğunluğunu algılaması ve bunun sonucunda topluluk içindeki tüm bireylerin ko-ordine biçimde davranış değişikliği göstermesi olarak tanımlanabilecek bu özellik çok sayıda Gram-pozitif ve Gram-negatif mikro-organizmada saptanmıştır. Bu mekanizmanın farklı biçimlerde inhibisyonunun antibak-teriyal etki gösterebileceğine dair gözlem ve kanıtlar vardır (13).

Bakterilerde slime üretimi ve/veya biyofilm oluşumu gibi virulans faktörlerde etkili genlerin ekspresyonunun engellenmesinin klinik açıdan önemli bir strateji olabileceği kabul edilmektedir (14). Bu amaçla, örneğin. *Pseudomonas aeruginosa*'da AHL sinyal moleküllerinin tahrip edilmesi veya sentezlerinin inhibisyonu veya LuxR/AHLkompleksinin oluşumunun blokajı ile QS inhibisyonu yeni bir tedavi şekli oluşturabilecektir (14-16). Quorum-Quenching (QQ) olarak ifade edilen bu yaklaşım, mikro-organizmalar arası sinyal iletişimini bozarak mikro-organizma topluluklarının kontrol altında tutulmasını hedefler (17-19). Bu amaçla üzerinde çalışılan moleküllerden halojenlenmiş furanon türevleri en çok umut vaadedenler arasındadır. *Delisea pulchra* adı verilen bir deniz yosunu tarafından üretilen doğal maddeler olan halojenlenmiş furanonlar, bu yosunların bakteriler tarafından kolonize edilmesini önlemektedir. Bu tipte furanon türevlerinin çeşitli bakterilerde biyofilm üretimi dahil çeşitli AHL-aracılığı ile gelişen virulans faktörlerinin sentezini engelleyebildiği gösterilmiştir. Bu moleküllerin temel etki mekanizması LuxR proteininin parçalanmasını artırması olarak saptanmıştır. Ne yazık ki furanon türevleri insan ve diğer memelilerde toksik etki göstermektedir. Ancak temel etki mekanizmalarından hareketle toksik olmayan yeni türevlerin elde edilebilmesi için çalışmalar sürmektedir. Bazı çalışmalarda makrolit antibiyotiklerin *P. aeruginosa*'da AHL sentezini baskıladıkları gösterilmiştir. Örneğin, eritromisin *P. aeruginosa*'da hemaglütininlerin, proteaz, hemolizin sentezini ve AHL sinyallerini baskılamaktadır (14). Ancak bu antibiyotiklerin QS mekanizmasının hangi aşamasında etkili oldukları henüz bilinmemektedir. Benzer şekilde, bu antibiyotiklere karşı gelişen direncin, antibiyotiğin QS inhibe edici etkisi üzerinde yaratacağı etki de bilinmeyenler arasındadır. Henüz pratiğe yansımamış olsa da QS regülasyonu ve QQ çalışmaları aracılığıyla antibak-teriyal etki elde edilmesi biyofilmlerin engellenmesinde düşünülmektedir (19).

Biyofilm matriksinin polisakkarit içeriği biyofilmin stabilitesini belirleyen önemli faktörlerden biridir. Örneğin, polianyonik EPS'ler metal iyonlarıyla etkileşime girebilir. Demir gibi bazı metaller biyofilm matriksi içerisine dahil edilerek matriksin stabilizasyonunda katkıda bulunabilirler (20). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada (21), memeli bağışıklık sistemi tarafından üretilen ve demir bağlayıcı özelliği bulunan laktoferrinin *P. aeruginosa*'nın biyofilm yapabilme yeteneğini ortadan kaldıracı gösterilmiştir. Bazı su bitkileri biyofilm oluşmasını engelleyen bileşikler salgılamaktadır (22, 23).

Biyofilmin parçalanması için enzimler de kullanılabilir. Fakat biyofilmdeki hücre dışı polisakkaritlerin çeşitliliği nedeniyle biyofilmlerin parçalanması amacıyla birden fazla enzim etkinliği gerekebilir. Yüzeydeki ve kapalı borularda biyofilm bakterilerinin kontrolü bilinen bir yöntemdir. Aslında, borularda ve proteinin kontakt lenslerden çıkarılması için proteazlar kullanılmaktadır. Enzimlerin bakteriyal biyofilmler üzerinde kullanılması yine de sınırlıdır, bu biraz da kullanımı sınırlılık göstermektedir. Enzimler üzerindeki etkiyi ölçen kantitatif yöntemlerin eksikliği ve farklı enzim etkinliklerine ulaşımın zorluğu da kullanımlarını kısıtlamaktadır. Monokomponent enzimlerin biyofilmler üzerinde kullanılabildiği bilinmektedir. Yine de biyofilm matriksindeki heterojenite monobleşik enzimlerde kullanımını sınırlamaktadır (24).

Klinik açıdan önemli mikrobiyal biyofilmler olan dental plakların iki ticari enzim preparasyonu ile *in vitro* muamelesi sonucu parçalanması ve önlenmesi sağlanmıştır. Çalışma, yapışmayı sağlayıcı glukozların sentezinin engellenmesi, sentezlenen polisakkaritlerin yapışkan özelliğinin giderilmesi ve enzimlerin dental plak kontrol ajanı olarak kullanılabilirliğinin tayini açısından önemlidir (25).

Uygulamada enzimlerin; ultrasonik uygulamalar, şelatlayıcı ajanlar, sürfaktanlar gibi yüzey aktif maddeleri ve enzim stabilize edici diğer antibiyofilm etkenlerle kombine halde kullanılmaları önerilmektedir (26, 27). Biyofilm parçalanmasını arttırıcı antibiyofilm ajanlar Tablo 1'de listelenmiştir. Yapılan bir çalışmada (27), 10 sn 40 kHz'lik ultrason uygulaması tek başına *Escherichia coli* ve *S. aureus* civık matriksleri üzerinde sırasıyla %49±5 ve %39±5'lik, enzim solüsyonları ve şelatlayıcı ajan (EDTA) ilavesiyle ise sırasıyla %75±4 ve %100±15'lik daha yüksek giderim sağlamıştır. Özellikle metal, cam paslanmaz çelik, plastikten yapılmış endüstriyel yüzeylerdeki tutunucu bakteri EPS'lerinin bu

Tablo 1. Biyofilm parçalanmasını arttırıcı antibiyofilm ajanlar (11, 24, 29)

Ajan	Orijin	Substrat	Bilgi
<u>Enzimler</u> Ham selüloz preparasyonu	<i>Trichoderma viride</i> (Maxazyme CL2000)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> B40'ın defosforillenmiş ve kısmi deramnozillenmiş EPS'si	EPS çeşitli enzim preparasyonları ile inkübe edilip parçalanma için analize alınmıştır. Ham enzim-hazırlama testlerinde, tek bir enzim spesifik etki göstermiştir.
Polisakkarit depolimeraz	Bakteriyofaj	Tek bakteriyal türden oluşan <i>Enterobacter agglomerans</i> GFP biyo-filmli ve <i>K. pneumoniae</i> G1'in de bulunduğu iki-türden oluşan biyo-filmli	Faj glikanazlar çok spesifiktir. Enzim aktivitesi faj-duyarlı tek türden oluşan biyo-filmliye ilave edildiği zaman gözlemlenmiştir. Bir polisakkarit ile 60 dk muamele 2 türden oluşan biyo-filmli adhezyonunda %20'lik azalma meydana getirmiştir.
Aljinat liyaz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i> aljinatı	<i>P. aeruginosa</i> strainlerinin aljinat liyazı aşırı üretimi yabancı tipten daha yüksek bulunmuştur. Bunun yanında diğer çalışmalar; <i>P. aeruginosa</i> filminin yapılanması için aljinat liyazın ilavesinin kopmalara neden olmadığını göstermiştir.
Agregasyon engelleyici enzim	<i>Methanosarcina mazei</i>	Hücre agregasyonu aracılığıyla <i>Methanosarcina mazei</i> heteropolisakkarit kapsülü	Büyüme için genellikle çok elverişli olmayan koşullar disagregataz aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir.
Geniş spesifiteye sahip esterazlar	Çok çeşitli bakteriler	Bakteri polimerlerinden gelen açıl parçacıkları ve diğer esterler.	<i>Arthrobacter viscosus</i> 'dan izole edilmiş hücre içi karboksilesteraz (EC 3.1.1.1)'dan gelen asetil kalıntıları; ksantandan, aljinattan, glikoz pentaasetattan, sellobiyoz oktaasetattan, <i>A. viscosus</i> tarafından üretilen hücre dışı polisakkaritten, deasetillenmiş p-nitrofenil propiyonattan, naftil asetatından, izopropenil asetatından ve triasetinden gelen asetil kalıntılarını ortadan kaldırmıştır. Esterazlar bir biyo-film yapısının fiziksel özelliklerini değiştirebilmektedir.
Dispersin B (veya DspB)	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	Değişik bakteriyal türlerin biyo-filmli için bir adhezyon faktörü olarak poli-b-1,6-GlcNAc	Solüsyondaki <i>A. actinomycetemcomitans</i> biyo-filmli hücrelerin kopmasına ve <i>A. actinomycetemcomitans</i> yığılıklarının disagregasyonuna neden olabilmektedir. Dispersin B ile <i>S. epidermidis</i> biyo-filmli muamelesi; EPS matriksin disolüsyonunu ve yüzeyden biyo-filmli hücrelerinin kopmasına neden olmaktadır. <i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Yersinia pestis</i> ve <i>P. fluorescens</i> tarafından biyo-filmli oluşumunu bozmaktadır.
DNaz I	Ticari (Sigma-Aldrich)	<i>P. aeruginosa</i> biyo-filmli hücre dışı DNA'lar	DNaz ilk üreme fazındaki biyo-filmli oluşumu için <i>P. aeruginosa</i> 'nın kapasitesini etkilemiştir. Oluşan biyo-filmli DNaz'ın varlığından oldukça az etkilenmişlerdir.
Enzim karışımı	Ticari	Çelik ve polipropilen substrat yüzeyindeki <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>P. fluorescens</i> ve <i>P. aeruginosa</i> biyo-filmli Tükürük kaplı hidroksiapatit substrat yüzeyindeki <i>S. mutans</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> ve <i>Fusobacterium nucleatum</i> biyo-filmli	Pektineks UltraSP (Novo Nordisk A/S, bir çoklu enzim preparasyonu) herhangi bir belirli bakteriyal aktivitesiz paslanmaz çelik üzerindeki biyo-filmli bakteriyal hücrelerin sayısını azaltmıştır. Pektineks Ultra'nın aktivitesi; başlıca hücre dışı polisakkaritlerin parçalanmasıdır.

Ajan	Orijin	Substrat	Bilgi
<u>Diğer ajanlar</u> Şelatlayıcı ajanlar		<i>P. aeruginosa</i> biyofilmi veya mukoid <i>P. aeruginosa</i> 'dan aljinat	Mutanaz ve dekstranaz hidroksiapatit'ten ağız içi plağı uzaklaştırmada kullanılmıştır, fakat bakterisidal değildir (Novo Nordisk A/S)
NaCl, CaCl ² veya MgCl ²		<i>P. aeruginosa</i> biyofilmi veya mukoid <i>P. aeruginosa</i> 'dan aljinat	Bir kalsiyum-spesifik şelatlayıcı ajan olan EDTA; <i>P. aeruginosa</i> biyofilminin mikrobiyal aktiviteyi etkilemeksizin hızlı ve büyük parçalar olarak kopmasını sağlamaktadır. EDTA ve diğer şelatlayıcı ajanlar aljinat jel dayanıklılığının azalmasını sağlamaktadır. EDTA, <i>P. aeruginosa</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin (heriki türü içeren) biyofilmlerinin süspansiyonunun viskozitesini azaltmıştır.
Biyosür-faktanlar		<i>P. aeruginosa</i> ve <i>K. pneumoniae</i> 'nin iki türden oluşmuş biyofilmleri	Sodyum tuzları ve şelatlayıcı ajanları içeren çeşitli slime dispartantlarının kullanıldığı denemeler, aljinat jel dayanıklılığının sodyum tuzları tarafından şelatlayıcı ajanların kullanımı ile gözlenen daha az da olsa azaltıldığı saptanmıştır. Zarar görmemiş biyofilmin NaCl, CaCl ₂ veya MgCl ₂ ile muamelesi; toplam biyofilm proteininin belirli bir yüzdesinin hızla kopması ile sonuçlanmıştır. Ortamın iyonik dayanıklılığını artırarak biyofilm yapışkanlığı azaltılmaktadır.
Üre		<i>P. aeruginosa</i> ve <i>K. pneumoniae</i> 'nin iki türden oluşmuş biyofilmleri	Toplam biyofilm proteininde azalma gözlenmiştir. Muhtemelen biyofilm matrisin çapraz bağlanması ile ilişkili hidrofobik ilişkileri bozmaktadır. Üre ile muamele; biyofilm süspansiyonunun viskozitesinde %46'lık bir azalma sağlamıştır. Hidrojen bağının biyofilme çapraz bağlanmasında rol oynadığı düşünülmektedir.

İdrar yolu infeksiyonları, Kuzey Amerika'da yılda 10 milyon olgu ile gözlenen, çok yaygın hastalıklardır. Üretra kateter ve stentleri gibi tıbbi malzemelerle kombine olduğunda, bu infeksiyonlar ciddi sorunlara yol açabilir, hatta ölüme kadar gidebilirler (31). İnfeksiyon işlemleri patojenlerin cihaz yüzeyine yapışması ve biyofilmlerin oluşmasıyla gelişir, bunlar da antibiyotik tedavisine karşı dirençlidirler (32).

Son yıllar içinde klinik ekipmanda biyofilm büyümesinin engellenmesi için bazı stratejiler önerilmiştir; bunlar arasında topik antibiyotik kaplamaları, kateterizasyon süresinin kısaltılması, cerrahi olarak içine manşet yerleştirilmiş kateter kullanılması ve kateteri antimikrobiyal ajanlarla kaplamak gelmektedir (33). Yine bakteriyel hücre duvarı sentezinde etkisi olan enzimler, antibiyofilm ajanların tasarlanmasında kullanılabilir. Bu enzimlerden birisi de peptidoglikanların ve lipopolisakkaritlerin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerde bir prekürsör olan etkin nükleotit şeker UDP-GlcNAc asetiltransferazın biosentezinde etkisi olan N-asetil-D-glukozamin-1-fosfat (GlmU)'tır. Dahası, UDP-GlcNAc *E. coli* ve *S. epidermidis* biyofilm oluşumunda etkili olan B-1,5-N-asetil-D-glukozamin polisakkaritinin sentezinde de iş

görmektedir. GlmU asetiltransferaz ve üridiltransferaz etkinliklerine sahip, bifonksiyonel bir enzimdir. Asetiltransferaz etkinliği tirole özel reaktiflerin varlığında durur, örneğin, iyodoasetamit ve N-yerine gelen maleimitletler gibi. Yakın tarihte, tirole özel reaktif grubundan olan GlmU enzim inhibitörlerinin bakteriyel patojenleri etkisiz hale getirdiği saptanmıştır (33).

N-yerine gelen maleimitletlerin antibiyofilm etkinliği üzerine yayınlanmış bir bilgi bulunmamaktadır. Bugün, iodoasetamit, N-etilmaleimit ve maleimit analogları gibi GlmU inhibitörlerinin kateterlerle ilişkili üropatojen antibiyofilmlere karşı etkin olduğu belirlenmiştir (34).

İntravasküler ve üriner kateterler gibi klinik ekipmanlar, kemoterapötik ajanlarla muamele, hemodiyaliz ve üriner inkontinans gibi bazı sağlık işlemlerinde kullanılmaktadırlar. Bu aparatlar modern tıpın önemli parçaları olsalar da, bunlar aynı zamanda mikrobiyal bulaşmaya son derece açıktırlar. Mikrobiyal patojenler kateter yüzeyine bulaşarak genelde yüksek dozda geleneksel antimikrobiyal ajanlara dayanıklı olan çok hücreli biyofilm toplulukları oluştururlar (33, 34).

Kateter implantlar bazı faktörler nedeniyle mikrobiyal bulaşma açıktırlar. Öncelikle, kateter implantasyonu

Tablo 2. İmplant kateterlerin mikrobiyal kontaminasyonları ve infeksiyon sıklıkları (13, 35)

İnfeksiyon	Kateter-ilişkili mikrobiyal kontaminasyonlar	Kateter-ilişkili infeksiyon oran aralığı
Kateter-ilişkili üriner sistem infeksiyonları (üretra kateterleri)	<i>Candida</i> spp. (%31) <i>E. coli</i> (%19) <i>Enterococcus</i> spp. (%14). <i>P. aeruginosa</i> (%10) ve diğer Gram-negatif basiller (%10) <i>Klebsiella</i> spp. (%9) Koagülaz-negatif <i>Staphylococcus</i> (%3) <i>S. aureus</i> (%1)	%10-%50
Periton-diyaliz ilişkili peritonit (peritoneal diyaliz kateterler)	Koagülaz-negatif <i>Staphylococcus</i> (%30-%40) <i>S. aureus</i> (%10-%20) <i>Streptococcus</i> spp. (%10-%15) <i>E. coli</i> (%5-%10) ve diğer Gram-negatif basiller (%7-16) <i>Pseudomonas</i> spp. (%5-10) <i>Funguslar</i> (özellikle <i>Candida</i> spp.) (%2-%10) <i>Enterococcus</i> spp. (%3-%6) Anaeroplara (%2-%5) Diğer (%3-%7) Negatif kültür (%10-%20)	%20-%50
İntravasküler alet-ilişkili kan infeksiyonları (periferik damar kateterler, arteriyel kateterler, santral venöz kateterler, hemodiyaliz kateterleri)	Koagülaz-negatif <i>Staphylococcus</i> (%31) <i>S. aureus</i> (%18) <i>P. aeruginosa</i> (%18) Enterik Gram-negatif basiller (%14) <i>Candida</i> spp. (%6) <i>Corynebacterium</i> spp. (%5) <i>Enterococcus</i> sp. (%4) Diğerleri (%14)	%0.2-%0.4 (periferik venöz kateterler için) %18-%22 (uzun-dönem santral venöz kateterler için)

genelde derinin koruyucu bariyerini bozar, bu da vücudun ilk savunmasının aşılması demektir. Ayrıca, konak canlıya yerleştirildikten sonra, kateterin dış yüzeyi mikrobiyal yapışmayı destekleyen proteinlerle kaplanır. Yerleştirilmiş abiyotik malzemelerin antimikrobiyal bağışıklık tepkilerini durdurarak mikrobiyal biyofilm oluşumu için uygun bir ortam hazırladığını dair kanıtlar da vardır. Klinik implantlarla yaşayan hastaların bağışıklığı genelde zayıftır ve bu nedenle bakteriyel oluşumlara uygundur (13).

Kateterlerin kendileri de birkaç yoldan, genelde kateterin vücuda sokulduğu bölgedeki doğal florayı bozan mikroorganizmalar ile infeksiyon oluşturabilirler (Tablo 2). Mikro-organizmaların kateterin dış yüzeyine bulaş kateteri vücuda sokarken tüneli takip ederek hedefe ulaştıkları düşünülür. Kateterlerin ayrıca sıvının hastalıklı infüzyon solüsyonlarının aktığı lumen kısımlarına bulaşabilir, bu da patojen mikropların damarlara kadar hızlı bir şekilde ulaşmasına yol açacaktır. Bu senaryolarda, kateterle ilgili biyofilmler ilk kolonizasyonun doğal gelişim adımlarındandır. Hastalıklı biyofilm bundan sonra,

genelde antibiyotiklere dirençli olan rezervuarın büyümesine ve hastada infeksiyon yaratmasına yol açacaktır (13, 35).

Kateterle ilişkili kan infeksiyonlarının bilinen antibiyotiklerle tedavi edilmesi oldukça zordur, ölüm oranları %12 ila %25 arasındadır. Nitekim, mikropların infekte kateterlerin çıkarılması genelde tek olası tedavidir. Antibiyotiklerle yapılan etkisiz tedavi; yatalıklık süresini uzatmakta, sağlık çalışanlarının etkin müdahalesini zorunlu kılmakta ve genelde yıllık hastane harcamalarına dokuz milyar dolardan fazla ek masraf yaratmaktadır (35). Bu sorunu gidermek için çok sayıda teknoloji geliştirilmektedir; bu teknolojiler klinik aparatlarda biyofilm oluşumunu engellemek üzere her biri kendi avantaj ve taktiklerini kullanarak çalışmaktadırlar. Bu çalışmalar genel olarak iki kola ayrılabilirler: bakteriyel ya da bakteriyostatik ajanlar bulunduran biyofilm oluşumunu engellemek, ve (36) mikrobiyal yapışma işlemini engelleyen nonbakteriyel antibiyofilm ajanlarla biyofilm oluşumunu engellemektir (13).

Tedaviler: Bakterisidal ve bakteriyostatik yaklaşımlar

Mantıksal olarak, kateterlerdeki bakteri kolonilerini ve bunların biyofilm oluşturmalarını engellemenin en basit yöntemi, kateteri geniş spektrumlu antimikrobiyal ajanlarla kaplayarak bakteri üremesini bakterisidal ya da bakteriyostatik mekanizmalarla durdurmaktır. Burada, antimikrobiyaller profilaktik olarak kullanılırlar, aparat üzerindeki biyofilm oluşumunu ilk mikrobiyal patojene kadar temizlerler. Bu genel yaklaşım klinikte en gelişen yöntemdir. Bazı antimikrobiyal ajan taşıyan aparatlar günümüzde klinik ve diğer alanlarda kullanılmaktadırlar (37).

Yine de bu yaklaşım teknik sorunlar içermektedir. Kaplayıcı ajan medikal ekipmanların fizikokimyasal özellikleri bozmamalıdır. Kateterler istenilen kayganlık, uzunluk ve konuk dokuya uygunluk özelliklerine sahiptirler ve bunlar işlevini değiştirmeden ciddi şekillerde değiştirilemezler. Ayrıca, her cihazın yeterli antimikrobiyal ajanla kaplanması, böylece malzemenin kullanımı boyunca bakterisidal ya da bakteriyostatik özelliklerini koruması sağlanmalıdır (38).

Bu yaklaşımlar farklı derecelerde kolay olmayan bir uygulamadır. Örneğin, satıştaki bir santral damar kateterin (CVC) poliüretan duvarları minosiklin ve rifampinle kaplanarak mikrobiyal kontaminasyon önlenmek istenmiştir (38). Kaplanmamış kateterlere göre daha etkin olduğu, kateter kolonizasyonunun %26'dan %8'e düştüğü ve kateterle ilişkili kan enfeksiyonları sıklığının azaldığı belirtilmiştir. Bununla ilgili bir endişe de antibiyotiklerin bu şekilde profilaktik kullanımının nozomikal ortamdaki bakterilerde antibiyotik direncini artırma olasılığıdır. Antibiyotiklere dirençli mikropların ticari kullanımındaki antibiyotikleri içeren kateterlerden dolayı direnç kazanmaları üzerine henüz bir çalışma yapılmamışsa da, bu olgu CVC ve diğer implantlarda topik antibiyotiklerin kullanılması durumlarında gözlemlenmiştir (39).

Bu aşılama tekniği dışında, DiTizio ve ark. (40) siprofloksasinin lipozomal hidrojele yüklendiği, bunun da Foley kateterlerinin dış (nonlumenal) yüzeyine bağlandığı bir yöntem açıklamışlardır. Bu antibiyotik yüklü hidrojeller yedi gün *in vitro* bakterisidal salınım yapmış, fakat tavşan modellerinde çok etkili olmamış ve bakteri oluşumunu sadece 1.8 gün engelleyebilmişlerdir (40).

Diğer çalışmalar farklı iç ve dış yüzeyi olan ve yaklaşık bir yıl boyunca etkili olabilen bir antimikrobiyal salgılayan

bir minosiklina/rifamoin rezervuarına sahip silikon kateterler üzerine yapılmıştır (37). Bu kateter tasarımı da sadece *in vitro* olarak test edilmiştir (37).

Ramoplanin, dikloksasilin, klindamisin ve triklosan gibi diğer bazı antibiyotikler de kateter kolonizasyonuna karşı denenmişler, ancak kateterlerin antimikrobiyal kaplamaları sadece klasik antibiyotiklerle sınırlandırılmamıştır. Bu amaçla kullanılan nonspesifik antimikrobiyal maddeler de bulunmakta, örneğin, gümüş suüfadyazin, nitrofurazon, klorheksidin ve kuaterner amonyum türü benzalkonyum klorit gibi. Antibiyotik bazlı yaklaşımlar gibi, genel hedef bu antiseptiklerin geniş spektrumlu antimikrobiyal etkileri ile kateterlerde biyofilm oluşumunu engellemektir. Bu yaklaşımların teorik avantajlarından biri, derin prokaryotik çevrelere ulaşabilmeleri ve klinik aparatlarda fungal biyofilm oluşumunu da engelleyebilecek olabilmeleridir (41). Genelde bu yaklaşımlar gelişim bazında antibiyotik bazlı yaklaşımlara benzerler; nitrofurazon, gümüş, klorheksidin ve benzalkonyum kaplanmış kateterler de satılmaktadırlar. Yine de, nonspesifik antiseptik yaklaşımlar fikir olarak gelecek vaat etseler de, en iyi sonuçlar bile kateterlerde antiseptiklerin antibiyofilm ajanları olarak kullanılmalarının sınırlılığını ortaya koymuştur. Konu ile ilgili olarak, Darouiche ve ark. (42) yaptıkları bir araştırmada, CVC'ler gümüş, sülfadiazin ve klorheksidin kombinasyonu ile kaplanmışlar ve kateterle ilişkili kan enfeksiyonlarını engellemekte benzer antibiyotik kaplılardan daha az etkili olmuşlardır. Ayrıca, gümüş-oksit kaplı kateterlerin bazı hasta gruplarında kateterle ilişkili enfeksiyonlarda (CAUTI) etkili olduğunu gösteren bazı küçük klinik çalışmalar olsa da, daha büyük araştırmalarda CAUTI gümüş kaplamanın kaplanmamış implantlardan daha etkili olduğu istatistiksel olarak ortaya konulamamıştır (42).

İkinci yaklaşım, kateter yüzeyinin bakterilerin kolonizasyonuna elverişsiz olması için kovalent yüzey düzenlemeleri yapılması üzerinedir. Bu kovalent modifikasyon teknolojilerinin birçoğu kateter yüzeyinin sonsuza kadar antimikrobiyal ajanlarla kaplanması, böylece diğer kateterlerden ayrılan antimikrobiyal bileşiklerin geçici etkinliğinin dezavantajlarının yaşanmaması düşünülmüştür (13). Antimikrobiyal etkinliği çözünen amonyum türevlerinin membran bozucu etkisine benzeyen 3-(trime-toksisil)-propildimetilokta-desilamonyum klorit (QAS) ile kullanılan silikon plastik yüzeyler buna örnektir. Biyofilm inhibe eden etkiler *in vitro* olarak gözlenmiş olsa da, QAS kaplı silikonların antimikrobiyal etkileri geniş spektrumlu değildir, sadece yapışık Gram- negatif organizmalarda orta derecede azalma sağlamış ve *in vivo*

incelemelerde etkinliği düşmüştür. Bu gözlemler klinik aparatlarda *in vivo* değişiklikler yapıldığında beklenen sonuçlar göstermiştir. İnsan dokusuna yerleştirildiğinde, klinik aparatlar hızlı bir şekilde hücre dışı matriks proteinleriyle ve diğer bipolimerlerle kaplanırlar. Bu nedenle kovalent kaplanmış amonyum fonksiyonel grupları *in vivo* koşullarda hızlı bir şekilde kaplanacaklardır, bu da antimikrobiyal fonksiyonları durdurarak yüzeyi biyofilm oluşumuna açık hale getirecektir. Bundan ötürü, kovalent bağlı antimikrobiyal ajanların konunun matriks kaplamasının dışında etkili olmasını sağlayan bir teknoloji çıkmadığı sürece, elüsyon bazlı antimikrobiyal teknolojinin üstünlüğünü koruyacağı kesindir (43).

Antimikrobiyal kaplı kateterler, kateterlere bağlı infeksiyon oranlarını düşürseler de mikrobiyal biyofilm oluşumunu engelleme kapasiteleri şu anda kısıtlıdır. Gelecek çalışmalar, büyük olasılıkla, lokal konsantrasyonları arttırmaya ve kullanılan antimikrobiyal ajanların kullanım süresini uzatmak üzerine olacaktır. Bu çalışmalar bir dereceye kadar başarılı olsalar da, geleneksel bakterisidal ve bakteriyostatik yaklaşımların yerine geçecek alternatif teknolojiler üzerinde çalışmalar devam etmektedir (13). Bu yaklaşımlar, temel olarak nonbakterisidal olup mikrobiyal bağlanma ve fenotipik hiperdirenç değişimleri üzerine yoğunlaşmıştır.

Olası gelecek teknolojileri: Nonbakterisidal antibiyofilm yaklaşımlar

Mikrobiyal biyofilmlerin EPS'si, antimikrobiyal ajanların penetrasyonunu ve fagositik bağışıklık hücrelerinin fonksiyonlarını etkileyebilmektedir (44). Ayrıca, biyofilm toplulukları genelde yavaş büyürler ve bu nedenle etkinlik için hızlı büyümeye ihtiyaç duyan hücreler kadar antibiyotiklere karşı savunmasız değildirler. Son yıllarda, biyofilm ve planktonik hücreleri karşılaştıran proteomik ve genomik çalışmalar, bakterinin biyofilm büyüme fazına girmeleri durumunda prokaryotik fizyolojik programda oluşan değişiklikleri incelemiştir. Bu değişimlerin de bahsedilen hiperdirenç katkısı olduğu düşünülmektedir (13).

Bu bilgiler ışığında, kateter kolonizasyonunu ve kateterle ilişkili sistemik infeksiyonları engellemek için diğer bir yöntem de difüze olabilen kateteri kaplayan antibiyotik bileşiklerle patojenik mikro-organizmaların kateter yüzeyine yapışmalarını engellemektir. Bu tür bileşiklerle kaplanan klinik ekipmanlar ve cihazlar normalde kalıcı sistemik infeksiyon yaratan biyofilm rezervuarlarını temizleyecek, istilacı bakterilerin hem bağışıklık siste-

mine hem de geleneksel antibiyotik tedavilerine karşı savunmasız bırakacaktır. Bu teknolojinin geliştirilmesi için yapılan çalışmalar henüz yenidir (13).

Antibiyofilm ajanların üretilmesi üzerine genel yaklaşımlardan biri bu adhezinlerin düzgün yapısını bozmak üzerine bileşiklerin bulunmasıdır. *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* gibi Gram-pozitifler tarafından vasküler kateterlerde sık görülen kontaminasyonlar için, bağlanmada önemli olan bileşiklerden biri de, sentezi *ica* gen yığını tarafından kontrol edilen hücreler arası adhezin olan polisakarittir (PIA). Tekrarlı N-sükkinil-B-1-6-glukozamin alt ünitelerinden oluşan bu polisakarit *in vitro* olduğu kadar infekte-CVC hayvan modellerinde de biyofilm oluşumu için önemlidir (45). Önceden açıklanan anti-infeksiyon çalışmalar PIA'nın aşı bazlı terapilerde antijen olarak kullanılmasına yönelik olsalar da, PIA biyosentetik enzimleri *Staphylococcus* kökeli kateter enfeksiyonları yok eden küçük moleküler antibiyofilmler olarak kullanılabilirler (13).

Gram-negatif patojenler durumunda, biyofilm oluşumu ile ilgili toksisite fonksiyonlarını düzenleyen adhezinler, Tip I ve Pap pilusları olarak isimlendirilen multimerik proteinlerdir. Bu pilusları oluşturan pilin alt üniteleri Gram-negatif türler arasında farklılık gösterse de, yapımları aynı olup PapD düzgün pilus oluşumu için önemlidir. Bu nedenle antibiyofilm ajan dizaynı için olası diğer bir yöntem de yapım aşamasını hedeflemektir. Bu durum Tip I ve Pap pilin alt ünitelerinin karboksil uçlarının tüm PapD homologlarında bulunan ve değişmez bir bölgeye bağlanıyor olması ile kuvvet kazanmaktadır. Bu bilgi kullanılarak, pilisitler olarak adlandırılan, pilin karboksil ucu gibi davranarak PapD ve pilin alt üniteleri arasındaki etkileşimi bozan, bir seri pisinon türevi üretilmiştir. Pilisit mimetikleri henüz *in vivo* incelenmişlerse de, bunların Gram-negatif biyofilm oluşumuna karşı kullanılabileceği de düşünülmektedir (46).

Bakteriyal biyofilmin geleneksel tanımı genelde bu toplulukların mikroskopik görünümünden alınmıştır, bu da biyofilmlerin genelde besinleri ve atıkları taşıyan sıvı kanallarındaki hücrelerde bulunan biyopolimer içerikli mikrokolonilerden oluştuklarını göstermektedir. Bu yüksek derece mikroskopik yapıyı düşünürsek, biyofilm oluşum işleminde hücreler arası sinyallerin etkisini araştıran çalışmaların sayısının bu kadar fazla olması şaşırtıcı değildir. Örneğin, *P. aeruginosa* biyofilmleri las yeterlilik-algılayan bir sinyalleme sistemi ile dağılılabilen hücreler arası sinyal molekülü N-(3-oksododekanol)-L-homoserin laktonun sentezini kontrol ederek uygun

biyofilm yapısını oluştururlar, bu da benzer bir mekanizmanın diğer Gram- negatif patojenlerde de olabileceği fikrini ortaya koymaktadır. İlas sistemi hücre yoğunluğu, toksisite gibi bazı fizyolojik fonksiyonları kontrol edebilen bakteriyal yeterlilik-algılayan sistemlerden biridir. Bu sinyal sistemlerine etki edebilen, böylece biyofilm oluşum işlemini etkileyebilen bileşiklerin bulunması ve tanımlanması üzerine bazı çalışmalar yapılmaktadır (47).

Bazı yeterlilik-algılayan sistemleri bozduğu saptanan bir bileşik sınıfı da mikrobiyal kolonileri uzak tutmasıyla ünlü bir deniz algi olan *Delisea pulchra*'nın doğal furanonlarıdır. Bu doğal furanonlar *B. subtilis*, *E. coli*, ve *P. aeruginosa*'ya karşı *in vitro* antibiyofilm işlevi görmektedirler. Bu bileşikler antibiyofilm etkilerini prokaryotik spektrumda genişçe kullanabiliyorlarsa, bunlar biyofilmlere karşı klinik implantlara yerleştirilebilirler (48).

Artık tek hücreli bakterilerin aralarında iletişim kurabildiklerini ve değişen ortama birlikte ayak uydurabildiklerini biliyoruz. Çoğunluk-yeterlilik algılaması olarak da bilinen QS, birçok durumda, gen ekspresyonu ve bakteri toplulukları arası fonksiyonel koordinasyonda önemli bir rol oynamaktadır (49). QS bakterileri gözlemler ve küçük sinyal moleküllerinin konsantrasyonuna göre salınırlar. Bu hücre yoğunluğuna bağlıdır ve böylece hedef genlerin ekspresyonu düzenlenir. Son yıllarda birçok bakteriyal hücre-hücre iletişim sinyali keşfedilmiştir, bunlardan başlıcaları açilhomoserin lakton (AHL), siklik tiyolakton (AIP), hidroksil-palmitik asit metil ester (PAME), furanosilborat (AI-2) ve metil dodesenoik asit olup (DSF) bunlar bakteriyal toksisiteyi etkilerler (50). QS fenomeni sadece prokaryotik aleme özgü değildir; tek hücreli ökaryotik mantar patojenleri de QS sinyalleri kullanarak biyolojik fonksiyonlarını düzenlemektedirler. Yakın zamanda patojen mantar *Candida albicans*'ın farnezoik asit (FA) üreterek mantar toksisitesi için önemli olan miselyum oluşumunu düzenlediği keşfedilmiştir (51). Bu QS sinyalleri arasında, AHL'ler en belirgin hücre-hücre iletişim sinyalleridir. Her biri akil yan zincirinin yedeği olan veya uzunlukları değişen bir düzineden fazla AHL türevi, Gram-negatif bazı bakterilerde görülmüştür. Genelde bu bakteriler kendilerine ait bir QS sistemine sahiptirler. Bu sistemlerin iki merkezi parçası vardır, LuxR-tip (R) regülatör ve LuxI-tip (I) proteinler sinyal reseptörü ve AHL sentazı olarak iş görürler. Düşük populasyon yoğunluğunda, bakteriler temel seviyede AHL sinyali üretirler ve bunlar hücrelerden salınırlar. Yeterli bir AHL konsantrasyonuna erişildiğinde, sinyal veren moleküller R-AHL kompleksinin R proteini ile etkileşime girerler; bu hedef ileleticiyle etkileşim

sağlar, hedef genlerin ekspresyonu uyarılır. AHL sinyallerinin bazı biyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde etkisi olduğu bulunmuştur; örneğin biyoluminesans, antibiyotik üretimi, plazmit transferi, toksisite ve biyofilm oluşumu. AHL sinyali ürettiği bilinen birçok bakteri türü bulunmaktadır ancak bunların biyolojik fonksiyonları henüz aydınlatılamamıştır (50).

Prokaryot-prokaryot ve prokaryot-ökaryot etkileşimler, doğal ekosistemde yaygın olarak görülürler. Birçok bakteri türünün, toksisite gibi, QS koordine toplumsal biyolojik etkinlikleri kullanarak rekabet avantajlarını arttırdığını düşünürsek bu rekabetçilerin mikropların QS sistemini devre dışı bırakarak avantaj sağlama üzerine bazı mekanizmaları olması da mantıklıdır. Son yıllarda hem prokaryot hem de ökaryot taraftan, farklı kaynaklarda yeterliliği bozan enzim ve inhibitörler görülmüştür. Bu enzim ve inhibitörler yeterlilik bozma, antipatojenik ve sinyalleşmede anahtar moleküllerdir (50).

Prokaryotlardaki yeterlilik bastıran (QQ) enzimler

Bulaşıcı bakteri hastalıklarından korunmak için QS'in uygun bir hedef olup olmadığı araştırılırken, *Erwinia carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia stewartii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Xenorhabdus nematophilus* gibi bitki ve insan (ve hayvan) patojen bakterilerinin toksisite için AHL QS sinyallerine bağımlı olduğu bulunmuştur. Bir AHL sinyali konsantrasyonu toksisite gen ekspresyonu için anahtar rol oynadığı için, patojen bakterilerin ürettiği AHL sinyallerinin azaltılması üzerine bir strateji geliştirilmektedir. *aiiA* geni tarafından kodlanan yeterlilik bastıran bir enzim ilk defa Gram-pozitif *Bacillus* türüne ait bir toprak bakterisinde görülmüştür, bunun bir AHL-laktonaz olduğu sonradan belirlenmiştir (17). *aiiA*'nın tanımlanmasından kısa bir süre sonra, Leadbetter ve Greenberg (52) *Variovorax paradoxus*'a (VAI-C) ait tek enerji ve azot kaynağı olarak AHL moleküllerini kullanan bir tür bulmuşlardır. *Variovorax paradoxus*'un AHL metabolik karışımında homoserin lakton bulunması bakterinin AHL-açılaz üretilmediğini düşündürmüştür (52), fakat AHL-açılaz gen kodlaması klonlanmış ve tanımlanmış durumdadır (50).

Benzer şekilde, AHL-parçalayıcı enzimler ürettiği bilinen diğer bakteril izolatları ve türleri toprak, bitki ve biyofilm örnekleri ile laboratuvarında bakteri kültürlerinde saptanmıştır (53, 54). QQ (yeterlilik bastıran) enzim etkinliği şimdiye kadar en az 10 bakteri türünde gösterilmiş ve kaydedilmiştir, bunlar arasında dört *Bacillus* türü, *Agrobacterium tumefaciens*, *Arthrobacter* türleri ve *V. paradoxus* da bulunmaktadır (Tablo 3). AHL-

parçalayıcı enzimleri kodlayan genler birçok durumda klonlanmış ve tanımlanmışlardır. Bu bakteri cinsleri, (*Arthrobacter* sp.), *Firmicute* (*Bacillus* sp.) ve *Proteobacteria* (*A. tumefaciens*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Ralstonia* sp. ve *V. paradoxus*)'dir. Belirtilen bu geniş dağılım, AHL-parçalama genlerini kodlayan enzimlerin birçok prokaryot organizmada bulunabileceği olasılığını doğurmuştur (50).

Bu bakteriyal türlerin taksonomik dağılımı ayrıca ürettikleri AHL-parçalayıcı enzimlerdeki sıra farklılıklarını da ortaya çıkarmaktadır. *Ralstonia* sp. XJ12B ve *P. aeruginosa* PAO1 AHL-açılazları sadece ortalama bir homolojiye sahip olup peptit seviyesinde %39 benzerlikleri bulunmaktadır (53). Benzer şekilde, farklı bakterilerin AHL-laktonazlarının amino asit kompozisyonları da büyük değişiklikler göstermektedir. Filogenik analizler bu prokaryotik AHL-laktonazlarının iki gruba ayrılabilirliğini göstermiştir. *aiiA* grubu *Bacillus* sp. türünden tüm AHL-laktonazları içerir, bunlar arasında %90 peptit sırası homojisi vardır (54). *attM* grubu *A. tumefaciens*, *K. pneumoniae* ve *Arthrobacter* sp. enzimlerini içerir ve bunlar peptit sıralamalarında %30-58 benzerlik gösterirler. Şaşırtıcı şekilde, iki gruptaki AHL-laktonazları %25'ten az homolojiye sahiptir, örneğin, *aiiA* ve *attM*, ama hepsi AHL etkinliği için önemli olduğu bilinen en yüksek derecede korunmuş HXDH~H~D motifini içerirler. Bulgular, AHL-laktonazları arasında olan yüksek derecede korunmuş katalitik bir mekanizmaya işaret etmektedir (17).

Ökaryotlardaki AHL-parçalayıcı enzimler

Ökaryot konuklar da düzenli olarak mikrobiyal patojenlerle karşılaştığı için, daha yüksek organizmaların da patojenik istilacıların QS sinyal sistemlerini etkisiz hale getirmek için mekanizmalar ürettiği ya da düzenlediğini düşünebiliriz. Şimdiye kadar ökaryotik olan sadece iki tür AHL-parçalayıcı enzim bulunabilmiştir (Tablo 3). Yeni bir çalışma, ortak porsin böbrek açılaz l'in (EC 3.5.14) C4-HSL ve C8-HSL deaçilazı yaparak L-homoserini üretebildiğini göstermiştir. Enzim kısa zincir molekülleri tercih etmekte, nitekim C8-HSL deaçilasyonu C4-HSL'ninkinin 6 katı zaman almaktadır. Enzimin genelde açıl zincirinin 3. pozisyonunda bulunan diğer doğal AHL sinyallerine karşı etkin olup olmadığı bilinmemektedir. Dahası, bunun AHL'lere karşı biyolojik etkinliği şüpheli, nitekim bu enzim asidik ve nötr pH durumlarında C4-HSL'ye karşı çok yavaş bir etkinlik göstermektedir (55). Yine de, bir BLAST araması ile domuz böbreği açılaz I genelde ökaryotlarda korunduğu,

örneğin fare, sıçan ve zebra balığında bilinmektedir; fakat bu organizmalarda yeterlilik bastıran enzimin etkisi ise hala aydınlatılamamıştır. Greenberg ve ark. (56) tarafından değişik hayvan hücre gözlemleriyle ilgili bulgular elde edilmiştir. Hücre hatlarındaki *aiiA* geninin transgenik ekspresyonunu test ederken, kontrol hücre hatlarında yüksek bir AHL-inaktivasyonu fark edilmiştir (56). Sonraki çalışmalar, enzim etkinliğinin farklı çözüm yolu epitellerinde farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (57). Enzim; C6-HSL ve 3OC12-HSL'yi inaktive edebilmiş, fakat C4-HSL'yi edememiştir. 3OC12-HSL'yi inaktive edebilme özelliği hücre türüne göre farklılık göstermektedir; insan akciğerlerinden A549 ve insan kolonundan CaCo-2 hücreleri gibi patojenlere maruz kalma olasılığı yüksek olan dokuların en yüksek QS sinyali inaktivasyonu özelliği gösterdiği saptanmıştır. Daha yeni çalışmalar ise, 3OC12-HSL parçalama etkinliğinin en çok *PON* genlerinde kodlanan para-oksonazlara bağlı olduğunu göstermektedir (56). Bu bulgu şaşırtıcı olmayıp, insan para-oksonazlarının laktonaz etkinliği 30 farklı non-AHL tipi laktonla gösterilmiştir (58). Ayrıca, *PON* enzimleri ilaç metabolizması ve sinirlerin detoksifikasyonu gibi diğer bazı önemli fizyolojik hidrolik etkinlikleri de göstermektedir (59). QS sinyallerinin inaktivasyonu artık *PON* enzimlerinin bilinen biyolojik fonksiyonlarından biri olarak sayılmaktadır.

Tablo 3. Prokaryot ve ökaryotlarda AHL-parçalayıcı enzimler (50, 52, 53, 55-57)

Tür	Gen	Enzim
Prokaryotlar		
<i>Bacillus</i> sp. 240B1	<i>aiiA</i>	AHL laktonaz
<i>B. thuringiensis</i>	<i>aiiA</i> <i>homologları</i>	AHL laktonaz
<i>B. cereus</i>	<i>aiiA</i> <i>homologları</i>	AHL laktonaz
<i>mycoides</i>	<i>aiiA</i> <i>homologları</i>	AHL laktonaz
<i>B. anthracis</i>	<i>aiiA</i> <i>homologları</i>	AHL laktonaz
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>attM</i> , <i>aiiB</i>	AHL laktonaz
<i>Arthrobacter</i> sp. IBN110	<i>ahlD</i>	AHL laktonaz
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>ahlK</i>	AHL laktonaz
<i>Parivovirus paradoxus</i> VAI-C	-	AHL açılaz?
<i>Pseudomonas</i> strain PAI-A <i>P. aeruginosa</i> PAO1	<i>pvdQ</i>	AHL açılaz
<i>Ralstonia</i> strain XJ12B	<i>aiiD</i>	AHL açılaz
Ökaryotlar		
İnsan (dış epitel)	<i>PONs</i>	Laktonaz
Porsin (böbrek)	<i>ACY1</i>	Açılaz I

AHL-parçalayıcı enzimlerin biyoteknolojik ve farmasötik kullanımları

Patojen bakterilerin QS eksiği mutantların toksisite gen ekspresyonu bulunmadığı ve zararsız hale geldikleri (60) düşünülürse, bakteri infeksiyonlarının durdurulması için mikrobiyal patojenlerin QS sinyallerinin engellenmesi uygun bir yoldur (61). QQ enzimlerin ve yeterlilik bastırma inhibitörlerinin bulunması, bu değişik stratejinin kullanılabilirliğinin ölçülmesinde veri sağlamıştır. *E. carotovora* ve *P. aeruginosa*, yani insan ve bitki patojenlerindeki yeterlilik bastırma enzimlerin ekspresyonu, AHL-laktonaz veya AHL-açılazdan ayrı olarak, bunların toksisitelelerini büyük oranda azaltmıştır (53). Yapılan bir çalışmada (62), *aiiA* genini düzenleyen *E. carotovora* veya *P. aeruginosa* tütün ya da nematod *Caenorhabditis elegans*'a karşı toksisitelelerini yitirmişlerdir. Daha ilginç, AHL-laktonaz tanımlayan transgenik bitkiler etkin bir şekilde bakteriyal QS sinyallerini durdurabilir ve bakteri topluluğu yoğunluğuna bağlı infeksiyonları yok edebilirken kontrol bitkileri ciddi hastalık semptomları göstermektedirler (62). Bu sonuçlar dışarıdan tanımlanan AHL-parçalayıcı enzimin, fizyolojik olarak alakalı konsantrasyonlarda QS sinyalini engellemekte ve patojenlerin QS'ye bağlı toksisite gen ifadesinde etkili olduğunu göstermiştir. Hastalığa bağışık "R" genlerinin ekspresyonu ciddi ürün ve biyokütle sorunları çıkarsa da, yeterlilik bastırma mekanizmaları bitkinin savunma sistemlerinin entegrasyonu patojenik istilacılara karşı en mantıklı korunma mekanizması olacağı şüphesizdir (63). Bu nedenle, bu yeterlilik bastırma enzimleri kodlayan genler, bitkilerde hastalık direnci yaratma konusunda büyük umutlar vaatmektedir.

QQ enzimler mikrobiyal enfeksiyonların biyokontrolü için yeni bir antagonist olabilirler. *Bacillus thuringiensis*, *Arthrobacter* sp. ve *P. fluorescens* gibi bazı doğal ve yapay AHL-laktonaz üreticiler, *E. carotovora* patojeni ile karşılaştıklarında patateslerde yumuşaklık ya da ciddi çürüme semptomları gösterirler. Bunun tersine, AHL-laktonaz üretmeyen *B. thuringiensis* ve yabani-tür *P. fluorescens* biyokontrolde daha az etki göstermektedir. Antibiyotik üretimi bakteri ya da mantar hastalıklarının biyokontrolünde en fazla kullanılan mikrobiyal antagonizm mekanizmasıdır. QS'nin bulunması, biyokontrolde yeterlilik bastırma mekanizmasının toksisitesinin düzenlenmesi için kullanılacak yeni bir mekanizma ortaya atmıştır (54).

İlginçtir ki, AHL-parçalayıcı enzimler ayrıca AHL-bağımlı QS bakterilerinde de gözlenmiştir. Önceki bölümlerde

anlattığımız gibi, AHL-laktonaz ve AHL-açılazı kodlayan genler *A. tumefaciens* ve *P. aeruginosa*'da tanımlanmış ve incelenmiştir. *Agrobacterium tumefaciens*'in *attM*'si ile kodlanan AHL-laktonaz, sadece bakteriyal hücre büyümesinden durağan faza geçildiğinde görülmektedir (54). Gen ekspresyonunun moleküler mekanizmasının daha fazla incelenmesi, erken QS sinyali parçalayıcılarının etkinleştirilmesinde yeni yolların tanımlanması ve tasarlanması için kullanılmalıdır. QQ enzimlerin farmasötik kullanımında potansiyel uygulamalarının aydınlatılması için enzim gönderimi, stabilitesi, etkinliği, toksisitesi ve yan etkileri konularında bilinmeyen pek çok şey bulunmaktadır. Yine de AHL-parçalayıcı laktonazlar insan hücrelerinde de bulunduğu ve çalıştığından dolayı (Tablo 3), AHL-parçalayıcı insan vücuduna "yabancı" bir fonksiyon değildir. Dahası, AHL sinyallerinin parçalanması ile birlikte, PON enzimleri de koruyucu etkiler kazanmaktadır. *aiiA* ve *attM* yığınlarının oksidasyona karşı benzer koruyucu rolleri olup olmadığı ve bu QQ enzimlerin koruyucu terapötik proteinler olup olamayacaklarının belirlenmesi önemlidir (50).

Sonuç

Varolan bakterisidal-temelli teknolojilerin hiçbiri klinik biyofilmlerin oluşmasını tam olarak engelleyememektedir. Tabii varolan teknolojilerin birleştirilmesi ve özellikle implant temelli kateter kökenli bakteri infeksiyonları durduracak etkiye çıkarılması mümkündür. Örneğin, antiseptik ve antibiyotik yüklü kombine yaklaşımların kullanımı, yaklaşımların tek başına kullanılmasından daha etkilidir. Yine de bu yaklaşım mevcut teknolojinin sınırlamalarını tam olarak karşılayamamaktadır. Buradaki ilk konu, geleneksel antibiyotiklere karşı elde edilen, genetiksel bakteri direncidir; bu durum nonantibiyotik ekipmanlar için bir anti-enfektif teknoloji ihtiyacı doğurmaktadır. İkinci konu da mevcut antibiyotik tedavilerine direnci içermekte yani biyofilm bakterilerinin planktonik benzerlerine göre epigenetik antibiyotik dirençlerinin daha yüksek olmasıdır. Bu ikinci konu implantlarla ilişkili infeksiyonların düzeltilmesi karşısındaki en ciddi sorun olabilir.

Bu konuların çözümlenmesi için diğer bir yöntem de biyofilm mikro-organizmalarının bilinmeyen fizyolojilerinin araştırılması olabilir. Biyofilm fizyolojisinin anlaşılması, bakterilerin mikrobiyal yapışmalarını olduğu kadar bu toplulukların dış ortamdan korunarak nasıl hayatta kaldıklarını da ortaya koyacaktır. Bu tür çalışmalar nihayetinde biyofilm bakterilerinin çeşitli ortamlarda temizlenmesini sağlayan mekanizmalara sahip

bileşiklerin belirlenmesini hedeflemektedirler. Böyle bir antibiyofilm yaklaşım ile, mikrobiyal patojenler konuğun antimikrobiyal bağışıklık sistemine ve geleneksel antibiyotik tedavisine karşı korunmasız bırakılabilirler.

Biyofilm bakterilerinin konvensiyonel yöntemlerle (antibiyotikler, dezenfektalar, biyositler, antimikrobiyal ajanlar vb.) öldürülmesi genellikle etkili olamamaktadır. Antimikrobialerin yüksek dozları gerek çevresel (çevresel döngüleri olumsuz yönde etkiler) gerekse klinik açıdan (hastalar üzerinde toksik etki gösterirler) tercih edilmemektedir. Biyofilmi tamamen yok etmenin klasik yöntemlerle mümkün olamayacağı açıktır. Kontamine tüm klinik aparatlar ve implantlarda biyofilm oluşumunun kaçınılmaz olduğu, oluşan EPS'nin ve biyofilmin, bakterileri kalkan gibi koruyacağı ve bakterilerin biyofilm yapısına katıldığında genetik değişimlere uğrayabilecekleri şüphesizdir.

Klinik olarak antibiyotiklerin bilinçsiz ve gereksiz kullanımlarının patojenik biyofilm organizmalarının neden olduğu infeksiyonların inatçılıklarını artırıcı özellik gösterdiği kaçınılmazdır. Bu nedenle uzun vadede istenmeyen biyofilmlerden kaynaklanan sorunların önlenmesi ya da önemli ölçüde kontrol altına alınmasında: (a) klinik sistemler ve ekipmanda biyofilm oluşumuna izin vermemek için biyositlerin biyodispersanlar, biyosüfaktanlar gibi çeşitli antibiyofilm maddelerle ya

da fırçalama gibi mekaniksel işlemlerle birlikte uygulanması daha avantajlı olacaktır. Böylece mekanik temizlik yanında daha etkili mikrobisidal temizlik söz konusu olacaktır, (b) Çevresel sistemlere biyositler tarafından gelebilecek zarar, biyofilmin temel iskeleti olan EPS matriksini yani slime-tabakanın mikro-organizmalar tarafından kullanımı gibi biyolojik ve enzimatik yöntemler ile giderilmesiyle en aza indirilebilecektir, (c) Slime-tabakanın yapışkanlığı jel özelliğinin giderilmesi amacıyla enzimlerin şelatlayıcı maddelerle kombinasyonu biyofilmlerle mücadeleyi daha da etkin kılacaktır, (d) Gerek klinik gerek diğer biyofilmlerin oluşumunu engelleyebilmek amacıyla; bugün yeni bir yaklaşım olan QQ ile QS moleküllerinin üretimini önlenmesi, parçalanması veya inhibisyonu, QS sinyalinin alınmasının önlenmesi stratejileri üzerinde durmak önemlidir. Bu amaçla insan ve ekolojik açıdan toksik özellikte olmayan yeni QQ bileşiklerinin sentezi gerekmektedir, (e) Yüzeyle mikrobiyal çekimin azaltılması veya yok edilmesi amacıyla tesislerde mümkün olan en uygun ve önerilen kalitede ekipman ve implant malzemesi kullanmak yerinde olacaktır, (f) klinik sistemlerde düzenli aralıklarla iyi bir bakım hizmeti sağlamak, bakım programlarını aksatmamak mikrobiyal birikimin engellenmesi ve direncin gelişmemesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Augustin M, Vehmas A, Atroshi F. Assessment of enzymatic cleaning agents and disinfectants against bacterial biofilms. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2004; 7: 55-65.
2. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1995: 212.
3. Huebner J, Goldmann DA. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annu Rev Med* 1999; 50: 223-6.
4. Jass J, Walker JT. Biofilms and biofouling. In: *Industrial Biofouling: Detection, Prevention and Control*. New York: Wiley, 2000: 410.
5. Stewart PS, McFeters GA, Huang CT. Biofilms II: Process analysis and applications. New York: Wiley, 2000: 232.
6. Thormann KM, Saville RM, Shukla S, Spormann, AM. Induction of rapid detachment in *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms. *J Bacteriol* 2005; 187: 1014-21.
7. Chen X, Stewart PS. Biofilm removal caused by chemical treatments. *Water Res* 2000; 34: 4229-33.
8. Ceyhan N, Ozdemir G. Extracellular polysaccharides produced by cooling water tower biofilm bacteria and their possible degradation. *Biofouling* 2008; 24: 129-35.
9. Cateau E, Berjeaud JM, Rodier MH, Imbert C. Fungal biofilm inhibition by a component naturally produced by *Candida albicans* yeasts growing as a biofilm. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31: 166-70.
10. Leroy C, Delbarrea C, Ghillebaert F, Compere C, Combes D. Effects of commercial enzymes on the adhesion of a marine biofilm-forming bacterium. *Biofouling* 2008; 24: 11-22.
11. Xavier JB, Picioeanu C, Rani SA. Biofilm-control strategies based on enzymic disruption of the extracellular polymeric substance matrix—a modelling study. *Microbiology* 2005; 151: 3817-32.
12. Augustin M, Ali-Vehmas, Atroshi F. Assessment of enzymatic cleaning agents and disinfectants against bacterial biofilms. *J Pharmaceut Sci* 2004; 7: 55-65.
13. Akova M. Bakteriler arası iletişimin engellenmesi: umut vaadeden yeni bir aktibakteriyal tedavi yaklaşımı. *ANKEM Derg* 2005; 19: 126-8.
14. Hentzer M, Givskov M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003; 112: 1300-07.
15. Camara M., Williams P., Hardman A., Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 667-76.
16. Suga H, Smith KM. Molecular mechanism of bacterial quorum sensing as a new drug target. *Curr Opin Chem Biol* 2003; 7: 586-91.

17. Dong YH, Gusti AR, Zhang Q, Xu JL, Zhang LH. Identification of quorum-quenching *N*-acyl homoserine lactonases from *Bacillus* species. *Appl Environ Microbiol* **2002**; 68: 1754-9.
18. Molina L, Constantinescu F, Michel L, Reimann C, Duffy B, De'fago G. Degradation of pathogen quorum-sensing molecules by soil bacteria: a preventive and curative biological control mechanism. *FEMS Microbiol Ecol* **2003**; 45: 7181.
19. Danese PN. Antibiofilm approaches: prevention of catheter colonization. *Chemistry&Biology*. **2002**; 9: 873-80.
20. Yılmaz M, Çelik GY. Bakteriyal ekstraselüler polisakkaritler, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* **2007**; 5: 7-13.
21. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* **2002**; 417: 552-5.
22. Manefield M, De Nys R, Kumar N, et al. Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene Expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. *Microbiology* **1999**; 145: 283-91.
23. Rasmussen TB, Manefield M, Andersen JB, et al. How *Delisea pulchra* furanones affect quorum sensing and swarming motility in *Serratia liquefaciens* MG1. *Microbiology* **2000**; 146: 3237-44.
24. Johansen C, Falholt P, Gram, L. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilm. *Appl Environ Microbiol* **1997**; 63: 24-8.
25. Marotta M, Martino A, De Rosa A, Farina E. Degradation of dental plaque glucans and prevention of glucan formation using commercial enzymes. *Process Biochemistry* **2002**; 38: 101-08.
26. Turakhia MH, Cooksey KE, Characklis WG. Influence of a calcium-specific chelant on biofilm removal. *Appl Environ Microbiol* **1983**; 46: 1236-8.
27. Oulahal N, Martial-Gros A, Bonneau M, Blum LJ. Removal of meat biofilms from surfaces by ultrasounds combined with enzymes and/or a chelating agent. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **2007**; 8: 192-6.
28. Kaplan JB, Ragunath C, Velliyagounder K, Fine DH, Ramasubbu N. Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* **2004**; 48: 2633-6.
29. Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science* **2002**; 295: 1487.
30. Mayer C, Moritz R, Kirschner C, et al. The role of intermolecular interactions: studies on model systems for bacterial biofilms. *Int J Biol Macromol* **1999**; 26: 3-16.
31. Stamm WE. Catheter-associated urinary tract infections: epidemiology, pathogenesis, and prevention. *Am J Med* **1991**; 91: 65-71.
32. Brown MW, Allison DG, Gilbert P. Resistance of bacterial biofilms to antibiotics: a growth-related effect? *J Antimicrob Chemother* **1988**; 22: 777-83.
33. Flowers RH, Schwenzer KJ, Kopel RF, Fish MJ, Tucker SI, Farr BM. Efficacy of an attachable subcutaneous cuff for the prevention of intravascular catheter-related infection. A randomized controlled trial. *JAMA* **1989**; 261: 878-83.
34. Burton E, Gawande PV, Yakandawala N, Vetri KL, Zhanel GG. Antibiofilm activity of GImU enzyme inhibitors against catheter-associated antibiyofilm yaklaşımları: kateter kolonizasyonunun engellenmesi. *Uropathogens, Antimicrob Agents Chemother* **2006**; 50: 1835-40.
35. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am* **1987**; 1: 823-54.
36. Lee M, Donovan JF. Laparoscopic omentectomy for salvage of peritoneal dialysis catheters. *J Endourol* **2002**; 16: 241-4.
37. Darouiche RO, Raad II, Heard SO, et al. A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. Catheter Study Group. *N Engl J Med* **1999**; 340: 1-8.
38. Tcholakian RK, Raad, II. Durability of anti-infective effect of long-term silicone sheath catheters impregnated with antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother* **2001**; 45: 1990-3.
39. Raad I, Darouiche R, Dupuis J, Abi-Said D, Gabrielli A, Hachem R, Wall M, Harris R, Jones J, Buzaid A. Central venous catheters coated with minocycline and rifampin for the prevention of catheter-related colonization and bloodstream infections. A randomized, double-blind trial. *Ann Intern Med* **1997**; 127: 267-74.
40. DiTizio V, Ferguson GW, Mittelman MW, Khoury AE, Bruce AW, DiCosmo F. A liposomal hydrogel for the prevention of bacterial adhesion to catheters. *Biomaterials* **1998**; 19: 1877-84.
41. Sampath LA, Tambe SM, Modak SM. *In vitro* and *in vivo* efficacy of catheters impregnated with antiseptics or antibiotics: evaluation of the risk of bacterial resistance to the antimicrobials in the catheters. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2001**; 22: 640-6.
42. Raad I, Hachem R, Zermeno A, Dumo M, Bodey GP. *In vitro* antimicrobial efficacy of silver iontophoretic excatheter. *Biomaterials* **1996**; 17: 1055-9.
43. Chatzinikolaou I, Raad II. Intravascular catheter-related infections: a preventable challenge in the critically ill. *Semin Respir Infect* **2000**; 15: 264-71.
44. Yasuda H, Koga T, Fukuoka, T. *In vitro* and *in vivo* models of bacterial biofilms. *Methods Enzymol* **1999**; 310, 577-95.
45. Heilmann C, Schweitzer O, Gerke C, Vanittanakom N, Mack D, Gotz F. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Mol Microbiol* **1996**; 20: 1083-91.
46. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* **2002**; 417: 552-5.
47. Kjelleberg S, Molin S. Is there a role for quorum-sensing signals in bacterial biofilms? *Curr Opin Microbiol* **2002**; 5: 254-8.
48. Hentzer M, Riedel K, Rasmussen TB, Heydorn A, Andersen JB, Parsek MR. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology* **2002**; 148: 87-102.
49. Federle MJ, Bassler BL. Interspecies communication in bacteria. *J Clin Invest* **2003**; 112: 1291-9.
50. Dong YH, Zhang LH. Quorum sensing and quorum-quenching enzymes. *J Microbiol* **2005**; 43: 101-9.
51. Oh KB, Miyazawa H, Naito T, Matsuoka H. Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci* **2001**; 98: 4664-8.
52. Leadbetter JR, Greenberg EP. Metabolism of acylhomoserine lactone quorum-sensing signals by *Variovorax paradoxus*. *J Bacteriol* **2000**; 182: 6921-6.
53. Lin YH, Xu JL, Hu J, et al. Acyl-homoserine lactone acylase from *Ralstonia* strain XJ12B represents a novel and potent class of quorum-quenching enzymes. *Mol Microbiol* **2003**; 47: 849-60.

54. **Ulrich RL.** Quorum quenching: enzymatic disruption of N-acylhomoserine lactone-mediated bacterial communication in *Burkholderia thailandensis*. *Appl Environ Microbiol* **2004**; 70: 6173-80.
55. **Xu F, Byun T, Deussen HJ, Duke KR.** Degradation of N-acylhomoserine lactones, the bacterial quorum-sensing molecules, by acylase. *J Biotechnol* **2003**; 101: 89-96.
56. **Greenberg EP, Chun CK, Ozer EA, Welsh MJ, Zabner J.** Enzymatic inactivation of a *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal by human airway epithelia. Cell-cell communication in bacteria. *American Society for Microbiology Conferences* **2004**; 5: S1-18.
57. **Chun CK, Ozer EA, Welsh MJ, Zabner J, Greenberg EP.** Inactivation of a *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal by human airway epithelia. *Proc Natl Acad Sci* **2004**; 101: 3587-90.
58. **Teiber JF, Draganov DI, La Du BN.** Lactonase and lactonizing activities of human serum paraoxonase (PON1) and rabbit serum PON3. *Biochem Pharmacol* **2003**; 66: 887-96.
59. **Mackness MI, Durrington PN, Mackness B.** The role of paraoxonase 1 activity in cardiovascular disease: potential for therapeutic intervention. *Am J Cardiovasc Drugs* **2004**; 4: 211-7.
60. **Passador L, Cook JM, Gambello MJ, Rust L, Iglewski BH.** Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science* **1993**; 260: 1127-30.
61. **Zhang LH, Dong YH.** Quorum sensing and signal interference: diverse implications. *Mol Microbiol* **2004**; 53: 1563-71.
62. **Dong YH, Wang LH, Xu JL, Zhang HB, Zhang XF, Zhang LH.** Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. *Nature* **2001**; 411: 813-7.
63. **Zhang LH.** Quorum quenching and proactive host defense. *Trends Plant Sci* **2003**; 8: 238-44.

İLETİŞİM

Dr. Nur CEYHAN
Muğla Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
48100 Kötekli, MUĞLA
e-posta: nurceyhan@msn.com.tr, nurceyhan@mu.edu.tr