



Biyofilm tabakasının özellikleri ve protez enfeksiyonlarındaki yenilikçi yaklaşımlar

Features of biofilm and innovative strategies for prosthetic infections

Mehmet Batu Ertan¹, Bülent Erdemli²

¹Sağlık Bakanlığı Yozgat Şehir Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği, Yozgat

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Ana Bilim Dalı, Ankara

Periprotetik eklem enfeksiyonları (PEE), hastaların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen, tedavi masrafları da yüksek olan enfeksiyonlardır. Periprotetik eklem enfeksiyonları total eklem artroplastilerindeki en sık revizyon cerrahi sebeplerinden biridir. Mevcut PEE tablosu altında olgun biyofilm gelişimine bağlı olarak en sık uygulanan cerrahi yöntemler; implant korunarak debridman-antibiyoterapi (*Debridement, Antibiotics, and Implant Retention-DAIR*), tek basamaklı veya iki aşamalı revizyon cerrahileridir. İmplant edilen tüm bileşenlerin çıkarıldığı ya da değiştirildiği revizyon cerrahilerinde artroplasti materyallerinin üzerindeki biyofilmin tedavisi önemsiz hâle gelmektedir. Bu incelemenin odak noktası, implantın korunduğu tedavi stratejilerine yöneliktir. Periprotetik eklem enfeksiyonları tedavileri büyük ölçüde antibiyoterapi temellidir. Antibiyotiklerin daha etkili olması için, koruyucu biyofilm bariyerini bozmak amaçlı antibiyofilm tedavilerinin eklenmesi, böylece bakterilerin hareketsiz, metabolik olarak düşük aktivite durumundan çıkıp saldırıya açık hâle gelmesi gerekmektedir. Başarı oranını arttırmak amacıyla standart PEE stratejilerinin dışında yeni tedavi yöntemleri geliştirilmektedir. Bu yazıda biyofilm ile ilgili birçok yönden verilecek temel bilgilerin yanında yeni tedavi seçeneklerine odaklanılmıştır. Çalışmalarda tartışılan birçok teknik sadece in-vitro veya in-vivo koşullarda araştırılmış olsa da bu çalışmalar gelecekteki yeni tedavi stratejilerinin oluşmasına öncülük etmektedir.

Anahtar sözcükler: periprotetik eklem enfeksiyonu; biyofilm; total kalça artroplastisi; total diz artroplastisi; antibiyoterapi

Periprotetic joint infections (PJI) are the infections that negatively affect the quality of life of patients and have high treatment costs. Periprotetic joint infections are among the most common causes of revision surgery in total joint arthroplasty. The most frequently applied surgical methods for PJI are; Debridement, Antibiotics, and Implant Retention (DAIR) and one-stage or two-stage revision surgeries. Treatment of biofilm on arthroplasty materials becomes unimportant in revision surgeries where all implanted components are removed or replaced. The focus of this review is on implant-retaining treatment strategies all treatments are largely antibiotic-based. For antibiotics to be more effective, it is necessary to add antibiofilm treatments to disrupt the protective biofilm barrier so that the bacteria switched from their dormant, metabolically low-activity state and become vulnerable to attack. In order to increase the success rate, new treatment modalities are being developed apart from the standard PJI strategies. This article focuses on new treatment options as well as basic information about biofilm from many aspects. Although many of the techniques discussed in the studies have only been investigated in-vitro or in-vivo, these studies lead to the formation of new treatment strategies in the future.

Key words: periprotetic joint infection; biofilm; total hip arthroplasty; total knee arthroplasty; antibiotherapy

Mikroorganizmaların yaklaşık %99'u, birbirlerine yakın olmalarını sağlayan (ekzopolimerik) bir matriks yoluyla hücrelerin biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışmasıyla oluşan biyofilm olarak bilinen mikrobiyal topluluklarda yaşamaktadır.^[1] Biyofilm oluşumu, çok hücreli organizmalarda farklılaşmaya benzeyen gelişimsel bir süreçtir ve bakterile-

rin özel biyofilm genlerinin kontrolü altında iki tabaka oluşturarak büyüyüp bölünebilecekleri bir yüzeye bağlanmasıyla başlamaktadır.^[2] Bazı çalışmalar, biyofilmlerin, planktonik bir durumdaki aynı bakterilere kıyasla, antimikrobiyal maddelere karşı toleransta 100 kattan daha güçlü olabileceğini göstermektedir.^[3,4] Baskın olan mikroorganizmalar arasında intravaskü-

İletişim / Contact: Uzm. Dr. Mehmet Batu Ertan • E-posta / E-mail: mbatuertan@gmail.com

ORCID iD: Mehmet Batu Ertan, 0000-0001-6757-9967 • Bülent Erdemli, 0000-0003-3403-5140

Geliş / Received: 30 Ağustos 2022 • **Revizyon / Revised:** 14 Kasım 2022, 2 Aralık 2022 • **Kabul / Accepted:** 6 Aralık 2022

ler kataterlerde koagülaz-negatif stafilkoklar (KNS), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), enterokokkus, stenotrofomonas ve kandida; idrar sondalarında *Escherichia coli* (*E. coli*), enterokokkus, psödomonas, klebsiella, enterobakter, *Proteus mirabilis* ve kandida; kalça veya diz protez implantlarında ise stafilkokkus türleri, *Propionibacterium acnes* ve bazı gram-negatif basiller gösterilmektedir.^[5] Yirmi birinci yüzyılın en büyük mücadelesi, özellikle ortopedi ve travmatoloji alanında, mikrobiyal biyofilmlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için yeni ve etkili stratejilerin geliştirilmesidir.^[6,7]

Mikroorganizmaların yüzeylere yapışabilme yeteneği biyofilm üretimi için temeldir. Bakteriyel yapışma; *Van der Waals* çekim kuvvetleri, *Brown* hareketi, yer çekimi kuvvetleri, elektrostatik yükler ve hidrofobik etkileşimler aracılığıyla hücrelerin yüzeye doğru ilk çekimiyle gerçekleşmektedir.^[8] Biyofilm üretiminin bir sonraki fazı, serbest yüzen hücrelerin bir mikrokoloni düzenlemesi şeklinde yapılacaktır. Bu aşamada, hücre hareketliliği azalmakta ve ekzopolisakkarit üretimi, planktonik hücreleri ve besinleri çekmek için aktive edilmektedir. Bu sırada birkaç sinyal molekülü, “*quorum sensing*” olarak bilinen bir işlem ile hücre tepkileri koordine etmek üzere hücre yoğunluğuna bağlı bir şekilde salgılanmaktadır. Aynı zamanda da biyofilm içine gömülü mikroorganizmalar tarafından polisakkarit bir hücre dışı matriksin üretimi ile besinler ve planktonik hücreler yakalanmaktadır.^[9] Biyofilm oluşumunun son aşaması, tek veya kümelenmiş hücrelerin diğer bölgelere yayılması için gerekli bir işlem olan hücre saçılmasıdır. Saçılmış olan hücreler; artmış yapışma kabiliyeti, artan patojenite ve yeni enfeksiyon odakları oluşturmalarına izin veren filamentasyon göstermektedir.^[10]

Biyofilm yapısının özel içeriği ve biyofilme bulunan mikroorganizmaların fizyolojik özellikleri, antibiyotikler ve dezenfektanlar gibi antimikrobiyal maddelere karşı güçlü bir direnç sağlamaktadır. Dirençten sorumlu ana mekanizmalar, antimikrobiyal maddenin biyofilm matriksi boyunca geçmesini geciktirip biyofilm içine gömülü mikroorganizmaların büyüme hızını değiştirmektedir.

Enfeksiyonlar sırasında konak organizması; immün sistem hücreleri, reseptörler ve sayısız hümmoral faktör gibi araçlarla hızlı bir tepki oluşturmak için doğal bağışıklık savunmasını (*innate immune defense*) kullanmaktadır. Doğal öldürücü hücreler (*natural killer cell*) veya fagositler, mikroorganizmaların yüzeyinde bulunan patojene bağlı moleküler yapıyı tanıyarak fagositozu indüklerken, antimikrobiyal ürünlerin ve antiinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını ve adaptif immün yanıtı da başlatabilmektedir.^[11] Laktoferrin, biyofilm büyümesi için gerekli olan

demir kaynağını azaltıp hareketliliği artırırken,^[12] LL-37 ilk bağlama fazının azalmasına, yüzey hareketliliğinin artmasına ve “*quorum sensing*” sistemiyle etkileşime girilmesine neden olmaktadır.^[13] Polimorfonükleer nötrofiller mikrobiyal biyofilme ulaştığında fagositoz, laktoferrin ve elastazın hızlı degranülasyonu nedeniyle biyofilm kütlelerinde bir azalma ortaya çıkarmaktadır.^[14]

Lökositler, olgun biyofilme besin kanallarını kullanarak biyofilme nüfuz edebilmekte, ancak fagositoz fonksiyonundaki bozulma sebebiyle öldürme açısından azalmış bir yetenek sergilemektedirler.^[15] Ayrıca, bakteri kaynaklı pH değişimleriyle birlikte biyofilm mikro-ortamı makrofajların antibakteriyel etkinliğinin engellemektedir.

Periprotetik eklem enfeksiyonları (PEE) göz önüne alındığında, bakteri penetrasyonu ile ilişkili iki ana yol ve zaman dilimi vardır. Birincisi perioperatif dönemdir ve bu dönemde enfeksiyon kaynağı hastanın endojen bakterileri veya ameliyathane çevresi ya da bu ameliyatta bulunan personeller kaynaklı mikroorganizmalardır. İkincisi ise ameliyat sonrası dönemde meydana gelen hematogen yayılımdır.^[16] Bakteriyel yayılım enfeksiyonlarda önemli bir rol oynayarak kronik altta yatan bir sürecin alevlenmesi gibi görünen akut bulaşıcı olayları açıklayabilmektedir.^[17] Biyofilmin dış tarafında bulunan bakteriyel hücreler konağın savunmasına ve antibiyotiklerine en fazla maruz kalan bölgedir, ancak bu mikroorganizmalar birkaç koruyucu savunma geliştirmiştir. Biyofilm içindeki hücrelerin matriks katmanları, antibiyotiklerin difüzyonunu yavaşlatan fiziksel bir engel oluşturmaktadır. Dış biyofilme metabolik aktivite, antibiyotik bozulmasına katkıda bulunabilecek asidik veya anoreksik alanlar yaratabilmektedir.^[18] Ayrıca, biyofilm matriksinden salgılanan birkaç polimer, antibiyotiklere bağlanıp bunları pasif hâle getirerek bir antibiyotik batığı oluşturabilmektedir.^[19] Üstelik, matriks bileşenlerine bağlanan ve bakteriler tarafından difüzyonla alınan bu sınırlı taşıma sonucu daha az antibiyotik dozuna maruz bırakılmış olan bu bakteri grubuna karşı ölümcül seviyenin altında bir antibiyotik konsantrasyon gradyanıyla müdahale edilmiş olmaktadır. Sonuç olarak, bu ölümcül seviyenin altındaki maruz kalma, biyofilm oluşumuna katkıda bulunarak antibiyotik toleransı gelişiminde artışa yol açabilmektedir.^[20] Biyofilm, enfeksiyonun mikrobiyolojik tanısında da önemli bir problem teşkil eder, çünkü matriks bakterilerin örneklenmesini ve kültürlenmesini engelleyebilmektedir.

PROTEZ ENFEKSİYONLARINDA YENİLİKÇİ YAKLAŞIMLAR

Periprotetik eklem enfeksiyonları tedavisi için mevcut cerrahi stratejileri; implant korunarak debridman-antibiyoterapi (*Debridement, Antibiotics, and Implant Retention-DAIR*) ile enfekte protezin tek aşamalı veya iki

aşamalı revizyonda çıkarılması şeklindedir. İmplant bileşenlerinin korunduğu seçeneklerde daha yüksek olmakla birlikte genel başarısızlık oranları sebebiyle standart PEE stratejilerinin dışında yeni tedavi modaliteleri geliştirilmektedir. Tüm tedaviler büyük ölçüde antibiyoterapi temellidir. Antibiyotiklerin daha etkili olması için, koruyucu biyofilm bariyerini bozmak amaçlı antibiyofilm tedavilerinin eklenmesi, böylece bakterilerin hareketsiz, metabolik olarak düşük aktivite durumundan çıkması gerekmektedir. Bu çalışma güncel derlemeler ışığında yenilikçi olgun biyofilm tedavilerine odaklanmaktadır.^[21]

Biyolojik Ajanlar

Poliklonal ve monoklonal antikolar, başlangıçta romatolojik hastalıkların tedavisinde ön plana çıkmıştır. Çeşitli monoklonal/poliklonal antikolar kullanılarak biyofilm enfeksiyonlarına karşı korumanın etkinliği in-vitro ve hayvan modellerinde gösterilmiştir, ancak çok azı klinik tedavi olarak başarı elde etmiştir.^[22] Hücre duvarının çeşitli bileşenlerini veya bakteriyel ilişkili toksinleri hedef alan monoklonal antikoların klinik deneyleri, klinik öncesi çalışmalara dayalı olarak güvenli olsa da etkisiz kalmıştır.^[22]

Birçok farklı biyofilm üreten bakteri suşuyla ilişkili, ekstrasellüler DNA (eDNA) yapısal bütünlüğünde yer alan *lynchpin* proteinlerinden DNABII'ya karşı poliklonal antiserum, biyofilm dağılımı için umut verici bir hedef olarak kanıtlanmıştır. Bu antiserum serbest DNABII proteinlerini bağlayabilmiş ve onları eDNA birleşiminden uzaklaştırmıştır. *Haemophilus influenza* ile in-vitro test edildiğinde biyofilm matrisinin yapısal olarak çökmesine ve bakterilerin salınmasına yol açmıştır.^[23] DNABII'nin çeşitli epitoplarına karşı monoklonal antikoların üretildiği ve hem *S. aureus* hem de *P. aeruginosa*'da biyofilm yapısını bozabildiği başka çalışmalar mevcuttur.^[24]

Bir diğer grup olan antimikrobiyal peptitler (AMP), gram-pozitif ve gram-negatif bakterileri, virüsleri ve mantarları hedef alan farklı organizmalar tarafından üretilen moleküllerdir. Bu AMP'ler küçük, katyonik ve amfipatiktir ve son zamanlarda bakteriyel biyofilm için olası bir tedavi olarak düşünülmüştür. LL-37, yaygın bir ortopedik implant malzemesi olan krom kobalt üzerinde in-vivo büyütüldüğünde *S. aureus* biyofilmine karşı yüksek potens gösteren bir AMP'dir.^[25,26] Bakteriler tarafından salgılanan aureolysin ve V8 proteaz gibi enzimler LL-37'yi bozabilir.^[25,26] Bir başka sentetik AMP olan D-Bac8c ise düşük sitotoksositeye sahiptir ve genel olarak proenflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indüklemeyi engeller. Sıçan juguler ven kateteri enfeksiyon modelinde in-vivo kullanıldığında, *S. aureus* biyofilminden hiçbir canlı bakteri izole edilememesi ile sonuçlanmıştır.^[27] 1018-K6, gıda güvenliği bağlamında yerleşik biyofilmi hem

önlediği hem de ortadan kaldırdığı gösterilen sentetik olarak üretilmiş bir AMP'dir. Bu AMP, yalnızca gıda güvenliği ile ilişkili olarak bakteri biyofilmlerinin oluşabileceği alanların üzerinde test edilmiş olsa da, diğer kullanımlar için uygulanma potansiyeli vardır.^[28] PepR, in-vitro test edildiğinde hem gram-pozitif hem de gram-negatif planktonik bakterileri ve önceden oluşturulmuş *S. aureus* biyofilmini hedefleyebilen Dang virüsü kapsid proteinindeki 67-100 amino asit kalıntılarına karşılık gelen sentetik bir peptittir. Biyofilme uygun konsantrasyonlarla uygulandığında biyofilmin daha derin katmanlarına difüzyon da görülmüş, burada %95'in üzerinde biyofilm klirensi için ikili tedavi önerilmiştir.^[29] Son olarak PLG0206 ise, antibiyotiğe toleranslı biyofilmlere karşı aktif olan, geniş spektrumlu, hızlı hareket eden bir peptittir. Bir *ex vivo* çalışmada, iki aşamalı revizyonlardan alınan 17 eksplant, 1 mg/mL PLG0206 ile 15 dakika boyunca inkübe edilmiş ve 4 log azalma gözlemlenmiştir.^[30]

Küçük Molekül İnhibisyonu

Küçük moleküllerin kullanımı, biyofilm oluşumunu, "quorum sensing" mekanizmasını, ikincil haberci iletişimini ve tamamen olgun biyofilmi hedeflemektedir.^[31] Siklik adenosin monofosfat ve siklik guanozin monofosfat dâhil olmak üzere siklik nükleotitler, ökaryotlarda iyi bilinen sinyal molekülleridir ve bakterilerin sinyal yollarında da önemli oldukları gösterilmiştir.^[32-35]

Seviyeleri çevresel ve hücre içi sinyallere göre değişen ikincil bir haberci molekül olan C-di-GMP, GGDEF (Gly-Gly-Asp-Glu-Phe) alanına sahip bakterilerde her yerde bulunmaktadır. C-di-GMP ile yapılan çalışmaların çoğu, biyofilm oluşumundaki engelleyici etkilerine odaklanmış olsa da, klinik izolatu olan DK825, *S. aureus*'a ait in-vitro oluşturulmuş biyofilmlerde %75'lik bir azalma göstermiştir.^[32]

Nitrik oksit (NO), birçok gram-negatif ve gram-pozitif bakteride biyofilm oluşumunu engellediği ve biyofilm parçalanmasını hızlandırdığı gösterilmiştir.^[33,34] Ancak nitrik oksit gaz hâlinde reaktif durumu ve kısa yarı ömrü (0,1-5 s) tedavi geliştirmeyi zorlaştırmıştır. 4-karboksi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-iloksil (CTEMPO), NO'nun yapısal bir taklididir.^[35] CTEMPO'yu siprofloksasine bağlayan kombinasyon tedavisi, hem bakterileri biyofilmden dağıtmayı hem de artık biyofilm tarafından korunmadıkları için bakterileri öldürmeyi başarmıştır.^[35]

Bakterileri Hedef Alan Endojen Moleküller/Virüsler

Tüm türler, kendilerini özel olarak hedeflemek ve savunmak için yollar geliştirmiştir. Bu bölüm özellikle bakterileri hedef alan moleküller ve viral sistemlere odaklanmaktadır. *S. epidermidis* üretimi bir serin proteaz olan Esp,

S. aureus tarafından oluşturulan olgun biyofilmi zamana bağlı şekilde yok etmektedir. Kendi başına bakterisidal olmasa da, Esp ve keratinositler tarafından salgılanan antimikrobiyal peptit insan beta-defensin 2 (hBD2), *S. aureus* ile ilişkili biyofilmin bakteriyel sağ kalımını azaltmak için sinerjik olarak hareket edebilmektedir.^[36]

Glatthardt ve ark., *S. epidermidis* tarafından salgılanan 3-7 kDa büyüklüğünde bir molekül keşfetmiştir. Bu molekül, hem metisilin duyarlı *S. aureus* hem de metisilin dirençli *S. aureus* ait biyofilm oluşumunu engellemiş ve yerleşik biyofilmi de %7,2-%58,8 oranında azaltmıştır.^[37]

Hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerde biyofilm dağılımını işaret eden C2DA, orta zincirli bir kimyasal habercidir.^[38] Son zamanlarda, biyofilmlere daha kolay nüfuz etmek için C2DA lipid nanopartiküllerle birleştirilmiş ve nanopartiküllerin etkisinin olmadığı *S. aureus*'un aksine *S. epidermidis* biyofilmlerine karşı değişken sonuçlar elde edilmiştir. C2DA tedavisine rifampin eklenmesi *S. epidermidis* ve *S. aureus*'a karşı daha etkili sonuçlar göstermiştir.^[39]

Bakteriyofajlar, hücre içine yayılan ve komşu hücreleri enfekte etmek üzere fajları serbest bırakmak için konak bakteri hücrelerini parçalayan virüslerdir. Faj tedavisi hem planktonik hem de biyofilimle ilişkili enfeksiyonda olumlu sonuçlar vermiştir. İn-vivo olarak, hem tavşan osteomyelit modelinde, hem de fare mastit modelinde, enfeksiyon tedavilerden sonra önemli ölçüde azalmıştır.^[40-42]

PlySs2, hem in-vitro hem de in-vivo tedaviden sonra *S. aureus* biyofilm yükünü azalttığı gösterilen peptidoglikan hidrolize etme aktivitesine sahip bakteriyofajdan türetilmiş bir lizindir.^[43]

Elektrokimyasal Yöntemler

Bu tedavi prensibi, titanyum gibi elektriği ileten, hidrojen veya hidroksit gibi iyonların salındığı bir yüzeye elektrik akımı uygulanmasına dayanır.^[44] İyonların çeşitli gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkiler göstermesi sebebiyle bu strateji umut vericidir.

Bu başlık altında tanımlanacak ilk yöntem katodik voltaj kontrollü elektrik stimülasyonudur. Ortopedi ve travmatoloji ile dişçilik cihazları için yaygın olarak kullanılan bir metal olan titanyumun katodik voltaj kontrollü elektrik stimülasyonu, -1,8 V'ta in-vitro 24 saat şeklinde uygulanmaktadır. Sonuçlar implant enfeksiyonunu hem önlediği hem de ortadan kaldırdığını göstermiştir.^[44-46] Hem biyofilm içeriğindeki bakterilerin hem de planktonik bakterilerin canlılığındaki düşüşün, optimal bakteri büyümesinin pH 2-3 civarında olmasına rağmen tedavi sırasında oluşan pH'nın 14'e kadar yükseldiği bir alkalın

ortam nedeniyle olduğu düşünülmüştür. Ayrıca vankomisinle kombinasyon tedavisinin, in-vivo olarak implant, çevre doku ve sinovyal sıvı üzerindeki mikroorganizma yükünde %99,8 azalmayı sağlayan sinerjistik bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur.^[46] Bu yöntem kullanılarak bakteriyel eradikasyon görülmemiştir, ancak kombine tedavilerle PEE için yararlı bir tedavi stratejisi olduğu düşünülebilir.

Bir diğer teknik elektrokimyasal iskelelerdir (*e-scaffold*). Bu teknik, biyofilm ile enfekte olmuş yüzey üzerine iletken bir karbon kumaşın yerleştirildiği, -600 mV'de polarize edildiği ve oksijeni azaltarak biyofilm yüzeyinin yakınında sürekli düşük konsantrasyonda hidrojen peroksit üretilen bir tekniktir.^[47] Hidrojen peroksit, bakteri deoksiribonükleik asidine (DNA) zarar vermenin yanı sıra bakteri proteinlerine ve lipidlerine oksidatif hasar yaratarak da hücre zarı bütünlüğünde kusurlara yol açmaktadır.^[48] Hipokloröz asit (HOCl) üreten ikinci nesil bir e-iskele, üç saatlik in-vitro tedaviden sonra canlı *S. aureus*'ta 7 log'luk bir azalmayla verimli sonuçlar göstermiştir.^[49] Ayrıca eksojen HOCl'nin eklenmesi, biyofilm ile ilişkili bakteri canlılığının azalmasında benzer etkilere sahiptir. Hipokloröz asitinin bakteri hücre duvarı hasarına neden olduğu ve adozin trifosfat üretimini, DNA replikasyonunu ve protein translasyonunu inhibe ettiği düşünülmektedir. Bu çalışmalar umut vadetmesine karşın in-vivo hayvan modelinden başlayarak ileri incelemeler gerektirmektedir.

Elektrik akımları da bir tedavi stratejisi olarak önerilmektedir. *Van der Waals* kuvvetleri, asit-baz etkileşimleri ve elektrostatik kuvvetler dâhil olmak üzere biyofilm-biyomalzeme etkileşiminin kimyasal yapısının bozulması amaçlanmaktadır. Çoğu bakteri ve biyomateryal negatif yüklü olduğundan ve doğası gereği itici olduğundan, elektrik akımının itici kuvvetleri etkileyerek biyofilm-biyomateryal ara yüzünün dengesini değiştireceği öne sürülmüştür.^[50] *S. aureus* biyofilmi in-vitro olarak iki gün boyunca paslanmaz çelik elektrotlar aracılığıyla 2000 mA'ya maruz bırakıldığında, mikroorganizma yükünde 4-5 log'luk bir azalma gözlenmiştir. Bu durum diğer elektrokimyasal yöntemlerdeki gibi tedavi sırasında gözlenen alkali pH seviyeleri ile ilişkili olarak düşünülmüştür.^[50] Bu deneyler günlerce sürekli elektrik akımı tedavisi gerektirse de bu doğrultuda yapılacak ileri incelemelerin önünü açmıştır.

Hiperterminin de hem *P. aeruginosa* hem de *S. aureus* tarafından biyofilm yapışmasını azalttığı gösterilmiştir.^[51] Hipertermi, iletken nanopartiküllerin ısıtılması veya alternatif manyetik alanlar yoluyla elde edilmektedir. Antibiyotiklerle kombine edildiğinde daha da büyük etkinlikle biyofilm yükünün azalmasına yol açmıştır.^[52] Bu teknikten sonra antibiyotiklerle daha fazla hedef alınabilecek serbest mikroorganizma izlenmiştir.^[51,52]

SONUÇ

Bu derleme makalede ilk olarak biyofilm yapısı ve biyofilmin özellikleri genel hatlarıyla tanımlanmıştır. Daha sonra ise farklı başlıklar altında yenilikçi tedavilere odaklanılmıştır. Çalışmalarda tartışılan birçok teknik sadece in-vitro veya in-vivo koşullarda araştırılmış olsa da bu çalışmalar gelecekteki yeni tedavi stratejilerinin oluşmasına öncülük etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science* 1999;284(5418):1318-22. [Crossref](#)
2. Beikler T, Flemmig TF. Oral biofilm-associated diseases: Trends and implications for quality of life, systemic health and expenditures. *Periodontol* 2000 2011;55(1):87-103. [Crossref](#)
3. Ceri H, Olson M, Morck D, Storey D, Read R, Buret A, et al. The MBEC assay system: Multiple equivalent biofilms for antibiotic and biocide susceptibility testing. *Methods Enzymol* 2001;337:377-85. [Crossref](#)
4. Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR. Biofilm bacteria: Formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res* 2002;66(2):86-92.
5. Hung C-S, Henderson JP. Emerging concepts of biofilms in infectious diseases. *Mo Med* 2009;106(4):292-6.
6. Romano CL, Toscano M, Romano D, Drago L. Antibiofilm agents and implant-related infections in orthopaedics: Where are we? *J Chemother* 2013;25(2):67-80. [Crossref](#)
7. Drago L, Agrappi S, Bortolin M, Toscano M, Romanò CL, De Vecchi E. How to study biofilms after microbial colonization of materials used in orthopaedic implants. *Int J Mol Sci* 2016;17(3):293. [Crossref](#)
8. Gottenbos B, Busscher HJ, Van Der Mei HC, Nieuwenhuis P. Pathogenesis and prevention of biomaterial centered infections. *J Mater Sci Mater Med* 2002;13(8):717-22. [Crossref](#)
9. Roilides E, Simitsopoulou M, Katragkou A, Walsh TJ. How biofilms evade host defenses. *Microbiol Spectr* 2015;3(3). [Crossref](#)
10. Uppuluri P, Chaturvedi AK, Srinivasan A, Banerjee M, Ramasubramaniam AK, Köhler JR, et al. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS Pathog* 2010;6(3):1000828. [Crossref](#)
11. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2000;18(1):767-811. [Crossref](#)
12. Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature* 2002;417(6888):552-5. [Crossref](#)
13. Overhage J, Campisano A, Bains M, Torfs ECW, Rehm BHA, Hancock REW. Human host defense peptide LL-37 prevents bacterial biofilm formation. *Infect Immun* 2008;76(9):4176-82. [Crossref](#)
14. Günther F, Wabnitz GH, Stroth P, Prior B, Obst U, Samstag Y, et al. Host defence against *Staphylococcus aureus* biofilms infection: Phagocytosis of biofilms by polymorphonuclear neutrophils (PMN). *Mol Immunol* 2009;46(8-9):1805-13. [Crossref](#)
15. Leid JG, Shirliff ME, Costerton JW, Stoodley P. Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Infect Immun* 2002;70(11):6339-45. [Crossref](#)
16. Greene LR. Guide to the elimination of orthopedic surgery surgical site infections: An executive summary of the Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology elimination guide. *Am J Infect Control* 2012;40(4):384-6. [Crossref](#)
17. Boles BR, Horswill AR. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. *PLoS Pathog* 2008;4(4):1000052. [Crossref](#)
18. Huang C-T, Yu FP, McFeters GA, Stewart PS. Nonuniform spatial patterns of respiratory activity within biofilms during disinfection. *Appl Environ Microbiol* 1995;61(6):2252-6. [Crossref](#)
19. Høiby N. Recent advances in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *BMC Med* 2011;9(1):32. [Crossref](#)
20. Jefferson KK, Goldmann DA, Pier GB. Use of confocal microscopy to analyze the rate of vancomycin penetration through *Staphylococcus aureus* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(6):2467-73. [Crossref](#)
21. Visperas A, Santana D, Klika AK, Higuera-Rueda CA, Piuizzi NS. Current treatments for biofilm-associated periprosthetic joint infection and new potential strategies. *J Orthop Res* 2022;40(7):1477-91. [Crossref](#)
22. Raafat D, Otto M, Reppschläger K, Iqbal J, Holtfreter S. Fighting *Staphylococcus aureus* biofilms with monoclonal antibodies. *Trends Microbiol* 2019;27(4):303-22. [Crossref](#)
23. Brockson ME, Novotny LA, Mokrzan EM, Malhotra S, Jurcisek JA, Akbar R, et al. Evaluation of the kinetics and mechanism of action of anti-integration host factor-mediated disruption of bacterial biofilms. *Mol Microbiol* 2014;93(6):1246-58. [Crossref](#)
24. Novotny LA, Jurcisek JA, Goodman SD, Bakaletz LO. Monoclonal antibodies against DNA-binding tips of DNABII proteins disrupt biofilms in vitro and induce bacterial clearance in vivo. *EBioMedicine* 2016;10:33-44. [Crossref](#)
25. Kang J, Dietz MJ, Li B. Antimicrobial peptide LL-37 is bactericidal against *Staphylococcus aureus* biofilms. *PLoS One* 2019;14(6):0216676. [Crossref](#)
26. Dean SN, Bishop BM, Van Hoek ML. Natural and synthetic cathelicidin peptides with anti-microbial and anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol* 2011;11(1):114. [Crossref](#)
27. Zapotoczna M, Forde É, Hogan S, Humphreys H, O'Gara JP, Fitzgerald-Hughes D, et al. Eradication of *Staphylococcus aureus* biofilm infections using synthetic antimicrobial peptides. *J Infect Dis* 2017;215(6):975-83. [Crossref](#)
28. Colagiorgi A, Festa R, Di Ciccio PA, Gogliettino M, Balestrieri M, Palmieri G, et al. Rapid biofilm eradication of the antimicrobial peptide 1018-K6 against *Staphylococcus aureus*: A new potential tool to fight bacterial biofilms. *Food Control* 2020;107:106815. [Crossref](#)

29. Pinto SN, Dias SA, Cruz AF, Mil-Homens D, Fernandes F, Valle J, et al. The mechanism of action of pepR, a viral-derived peptide, against *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2019;74(9):2617-25. [Crossref](#)
30. Huang D, Parker DM, Mandell JB, Brothers KM, Gish CG, Koch JA, et al. Prospective activity of PLG0206, an engineered antimicrobial peptide, on chronic periprosthetic joint infection total knee arthroplasty components ex vivo: The knee explant analysis (KnEA) study. *Microbiol Spectr* 2021;9(3):0187921. [Crossref](#)
31. Worthington RJ, Richards JJ, Melander C. Small molecule control of bacterial biofilms. *Org Biomol Chem* 2012;10(37):7457-74. [Crossref](#)
32. Karaolis DKR, Rashid MH, Chythanya R, Luo W, Hyodo M, Hayakawa Y. c-di-GMP (3'-5'-cyclic diguanylic acid) inhibits *Staphylococcus aureus* cell-cell interactions and biofilm formation. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(3):1029-38. [Crossref](#)
33. Barraud N, Hassett DJ, Hwang S-H, Rice SA, Kjelleberg S, Webb JS. Involvement of nitric oxide in biofilm dispersal of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 2006;188(21):7344-53. [Crossref](#)
34. Jardeleza C, Foreman A, Baker L, Paramasivan S, Field J, Tan LW, et al. The effects of nitric oxide on *Staphylococcus aureus* biofilm growth and its implications in chronic rhinosinusitis. *Internl Forum Allergy Rhinol* 2011;1(6):438-44. [Crossref](#)
35. Verderosa AD, Dhoub R, Fairfull-Smith KE, Totsika M. Nitroxide functionalized antibiotics are promising eradication agents against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2019;64(1):01685-19. [Crossref](#)
36. Iwase T, Uehara Y, Shinji H, Tajima A, Seo H, Takada K, et al. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 2010;465(7296):346-9. [Crossref](#)
37. Glatthardt T, Campos JC de M, Chamon RC, de Sa Coimbra TF, de Almeida Rocha G, de Melo MAF, et al. Small molecules produced by commensal *Staphylococcus epidermidis* disrupt formation of biofilms by *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol* 2020;86(5):02539-19. [Crossref](#)
38. Marques CNH, Davies DG, Sauer K. Control of biofilms with the fatty acid signaling molecule cis-2-decenoic acid. *Pharmaceuticals* 2015;8(4):816-35. [Crossref](#)
39. Akhtari H, Fazly Bazzaz BS, Golmohammadzadeh S, Movaffagh J, Soheili V, Khameneh B. Rifampin and cis-2-decenoic acid co-entrapment in solid lipid nanoparticles as an efficient nano-system with potent anti-biofilm activities. *J Pharm Innov* 2021;16(2):293-301. [Crossref](#)
40. Breyne K, Honaker RW, Hobbs Z, Richter M, Zaczek M, Spangler T, et al. Efficacy and safety of a bovine-associated *Staphylococcus aureus* phage cocktail in a murine model of mastitis. *Front Microbiol* 2017;8:2348. [Crossref](#)
41. Kishor C, Mishra RR, Saraf SK, Kumar M, Srivastav AK, Nath G. Phage therapy of staphylococcal chronic osteomyelitis in experimental animal model. *Indian J Med Res* 2016;143(1):87. [Crossref](#)
42. Yilmaz C, Colak M, Yilmaz BC, Ersoz G, Kutateladze M, Gozlugol M. Bacteriophage therapy in implant-related infections: An experimental study. *J Bone Joint Surg Am* 2013;95(2):117-25. [Crossref](#)
43. Sosa BR, Niu Y, Turajane K, Staats K, Suhardi V, Carli A, et al. 2020 John Charnley award: The antimicrobial potential of bacteriophage-derived lysin in a murine debridement, antibiotics, and implant retention model of prosthetic joint infection. *Bone Joint J* 2020;102(7):3-10. [Crossref](#)
44. Ehrensberger MT, Tobias ME, Nodzo SR, Hansen LA, Luke-Marshall NR, Cole RF, et al. Cathodic voltage-controlled electrical stimulation of titanium implants as treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* periprosthetic infections. *Biomaterials* 2015;41:97-105. [Crossref](#)
45. Canty MK, Hansen LA, Tobias M, Spencer S, Henry T, Luke-Marshall NR, et al. Antibiotics enhance prevention and eradication efficacy of cathodic-voltage-controlled electrical stimulation against titanium-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *MSphere* 2019;4(3):00178-19. [Crossref](#)
46. Nodzo S, Tobias M, Hansen L, Luke-Marshall NR, Cole R, Wild L, et al. Cathodic electrical stimulation combined with vancomycin enhances treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* implant-associated infections. *Clin Orthop Relat Res* 2015;473(9):2856-64. [Crossref](#)
47. Raval YS, Mohamed A, Song J, Greenwood-Quaintance KE, Beyenal H, Patel R. Hydrogen peroxide-generating electrochemical scaffold activity against trispecies biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 2020;64(4):02332-19. [Crossref](#)
48. Sultana ST, Call DR, Beyenal H. Maltodextrin enhances biofilm elimination by electrochemical scaffold. *Sci Rep* 2016;6(1):36003. [Crossref](#)
49. Barrette Jr WC, Albrich JM, Hurst JK. Hypochlorous acid-promoted loss of metabolic energy in *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1987;55(10):2518-25. [Crossref](#)
50. Del Pozo JL, Rouse MS, Mandrekar JN, Steckelberg JM, Patel R. The electricidal effect: Reduction of *Staphylococcus* and *Pseudomonas* biofilms by prolonged exposure to low-intensity electrical current. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(1):41-5. [Crossref](#)
51. Nguyen T-K, Duong HTT, Selvanayagam R, Boyer C, Barraud N. Iron oxide nanoparticle-mediated hyperthermia stimulates dispersal in bacterial biofilms and enhances antibiotic efficacy. *Sci Rep* 2015;5(1):18385. [Crossref](#)
52. Wang Q, Vachon J, Prasad B, Pybus CA, Lapin N, Chopra R, et al. Alternating magnetic fields and antibiotics eradicate biofilm on metal in a synergistic fashion. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2021;7(1):68. [Crossref](#)