

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi Etkinliğinin
Kateter Modelinde İncelenmesi**

Proje No: TCD-2021-7005

Çok Disiplinli Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Ayşe Kalkancı
Tıp/Tıbbi Mikrobiyoloji

Dr. Öğr. Üyesi PINAR AYSERT YILDIZ (Gazi Üniv.)
Prof. Dr. KAYHAN ÇAĞLAR (Gazi Üniv.)
Prof. Dr. MURAT DİZBAY (Gazi Üniv.)
Arş. Gör. MERVE ERDOĞAN (Gaziantep Sanko Üniv.)
Doç. Dr. HASAN SELÇUK ÖZGER (Gazi Üniv.)
Dr. Öğr. Üyesi ALİ ÖZTÜRK (Niğde Ömer Halisdemir Üniv.)
Prof. Dr. ÖZLEM GÜZEL TUNÇCAN (Gazi Üniv.)

Kasım 2022

ANKARA

TEŞEKKÜR: “Antimikrobiyal Fotodinamik Tedavi Etkinliğinin Kateter Modelinde İncelenmesi” başlıklı bu çalışma “Proje No: TCD-2021-7005” kodu ile GÜ BAP Birimi tarafından desteklenmiştir.

Ayrıca çalışma 6-8 Ekim 2022 tarihinde Selanik, Yunanistan’da gerçekleştirilen uluslararası “2nd Balkan Conference on Medical Mycology and Mycotoxicology” toplantısında “FC8” numaralı sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
ABSTRACT	6
1. GİRİŞ	7
2. GEREÇ VE YÖNTEM	8-11
3. SONUÇLAR	12-14
4. TARTIŞMA	14-15
5. ÖNERİLER	15
6. KAYNAKLAR	16

ÖZET

Damar içi kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE) bakteri ve mantarların antimikrobiyal tedaviden kaçarak kateter lümenine adezyonu ve biyofilm oluşturmaları ile ilişkilidir. Düşük enerjili fotodinamik boyaların kullanıldığı antimikrobiyal fotodinamik tedavi (AFDT) kateter enfeksiyonlarında yeni bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilmektedir. Bu tedavi hücre ölümünü uyararak mikrobiyal temizliği ve biyofilmin ortadan kaldırılmasını içermektedir. Bu deneysel çalışmanın amacı Yeni Zelanda cinsi tavşanlarda kulak venine uygulanan kateterde biyofilm oluşumunun AFDT ile azaltılmasıdır.

Staphylococcus epidermidis ATCC 35984 ve *Candida parapsilosis* ATCC 96142 referans kökenleri ile kateter enfeksiyonu oluşturulmuş ve biyofilm gelişimi beklenmiştir. Fotosensitizör olarak metilen mavisi kullanılmış, ışık kaynağı olarak 660 nm dalga boyundaki kırmızı renkli “Light Emitting Diode (LED)” ışık seçilmiştir. AFDT ile bakteri ve mantar biyofilmlerine uygulama yapılmıştır. Kateter içindeki biyofilmin varlığı taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile gösterilmiş, canlılığı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

SEM ile varlığı doğrulanan, biyofilmin canlılığının AFDT sonrasında kontrole göre azaldığı gösterilmiştir. Üç günlük biyofilm ve beş günlük antimikrobiyal tedaviyi içeren toplam sekiz günlük deney sonrasında, *S.epidermidis* biyofilmi için OD600’de spektrofotometrik okuma değerleri kontrol grubunda 0,683 iken, AFDT grubunda 0,041’e inmiştir ($p=0.001$). Benzer şekilde, *C.parapsilosis* biyofilmi için kontrol grubunda canlılık 0,290 iken, tedavi grubunda 0,039’a inmiştir ($p=0.001$). İstatistiksel farklılık anlamlı bulunduğu için, AFDT’nin stafilokok ve *Candida* biyofilmlerinde azaltıcı etkisi olduğu ve bu sonucun da KİKDE’i önlemek için umut verici bir yeni yaklaşım sunduğu düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Kateter enfeksiyonları, biyofilm, *Candida*, *Staphylococcus*, antimikrobiyal fotodinamik tedavi

The effectiveness of antimicrobial photodynamic treatment on catheter infection model

ABSTRACT

Intraluminal catheter related bloodstream infections (CBIs) involve adherence of bacteria and fungi to the internal surface of the catheter to form a biofilm, which can reduce the effectiveness of the treatment. Application of a low-energy light source by activating a photodynamic dye is a new option named as antimicrobial photodynamic therapy (APDT), which induces apoptosis of the infecting microorganism and facilitates microbial eradication and biofilm clearance. This experimental study aimed to examine the effectiveness of APDT in the reduction of biofilms formed in the catheter positioned in the marginal ear vein of New Zealand white rabbits.

Staphylococcus epidermidis ATCC 35984 and *Candida parapsilosis* ATCC 96142 were used in this study as reference strains for catheter infection and biofilm production. Methylene blue dye as photosensitizer and red cloured Light Emitting Diode (LED and UVA) in 660 nm as the light source were used as APDT was carried out against staphylococcal and candidal biofilms. Intraluminal biofilm viability was measured and SEM analysis of the impact of APDT on bacterial and fungal biofilms was also performed.

Biofilm viability was reduced after APDT compared with the controls. OD600 of organism eluted from the catheter after 8 days of intervention; 0,683 versus 0,041 for *S.epidermidis* (p=0.001) and 0,290 versus 0,039 for *C.parapsilosis* (p=0.001). APDT was found to be effective on staphylococcal and candidal biofilms and may be a promising technique for the control of CBIs and biofilm growth within intravenous catheters.

Keywords: Catheter infections, biofilm, *Candida*, *Staphylococcus*, antimicrobial photodynamic treatment

GİRİŞ

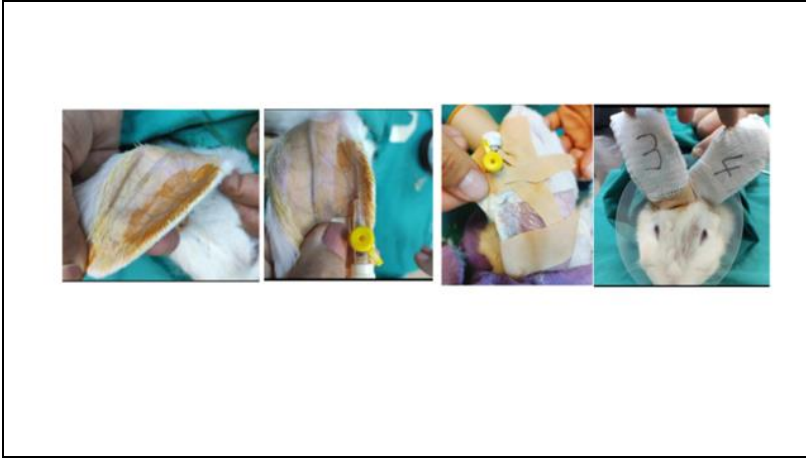
Sağlık hizmeti ile ilişkili olarak görülen kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları (KİKDE) önemli mortalite ve morbidite nedenlerindendir. Günümüz tıp uygulamalarında tedavi amaçlı çok çeşitli kateterler kullanılmaktadır. Bu kateterlerin enfekte olmadan kalabilmesi veya enfekte olduktan sonra, çıkarılmadan temizlenebilmesi sağlık hizmeti içinde önemli bir kalite standardıdır.

Kateteri enfekte eden mikroorganizmaların çoğu biyofilm oluşturmaktadır. Biyofilm, cansız ya da canlı yüzeylere tutunup çoğalan ekstrasellüler polimerik matriks içindeki mikroorganizma topluluğudur. Biyofilm oluşturma yeteneği virülans açısından önemlidir. Hastane kaynaklı kan dolaşımı enfeksiyonlarının büyük bir kısmını biyofilm ilişkili kateter enfeksiyonları oluşturmaktadır. Kateter enfeksiyonları bakteri ve mantar kaynaklı olabilmekte ve genel olarak antimikrobiyal ilaçlarla tedavi edilmektedir. Ancak, ilaçların etkisi biyofilm ile ilişkili olarak zayıflamaktadır. Antibiyotik ve antifungallerin biyofilm içerisine geçirgenliği sınırlıdır. İlacın katetere temas süresini arttıran “antimikrobiyal kilit tedavinin” etkinliği bile tartışmalıdır. Dolayısıyla, kateter enfeksiyonuna karşı alternatif tedaviler araştırılmaktadır (1).

Antimikrobiyal fotodinamik tedavinin (AFDT) *in vitro* etkinliğine ilişkin literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Fotodinamik tedavinin bakteriyel ve fungal biyofilme etkisi üzerine yapmış ve yayınlanmış olduğumuz *in vitro* modelleme çalışmamız mevcuttur (2). Mevcut tıbbi uygulamalar içinde biyofilm ilişkili kateter enfeksiyonuna yönelik antimikrobiyal fotodinamik uygulama bulunmamaktadır. Bu çalışmada *in vivo* kateter enfeksiyon modeli oluşturulması, bakteriyel ve fungal biyofilm üzerine fotosensitizörler ve LED (light emitting diode) görünür ışık kaynağının tek başına ve antimikrobiyal ilaçlarla (antibiyotik ve antifungal) birlikte antimikrobiyal fotodinamik etkinliğinin araştırılması ve karşılaştırılması amaçlanmıştır. Böylece kateter çıkarılmadan, yerinde biyofilm ilişkili kateter enfeksiyonunun oluşmasını önleyen veya oluşan biyofilmi azaltmayı/yok etmeyi amaçlayan bir yaklaşım geliştirilmesi amaçlanmıştır.

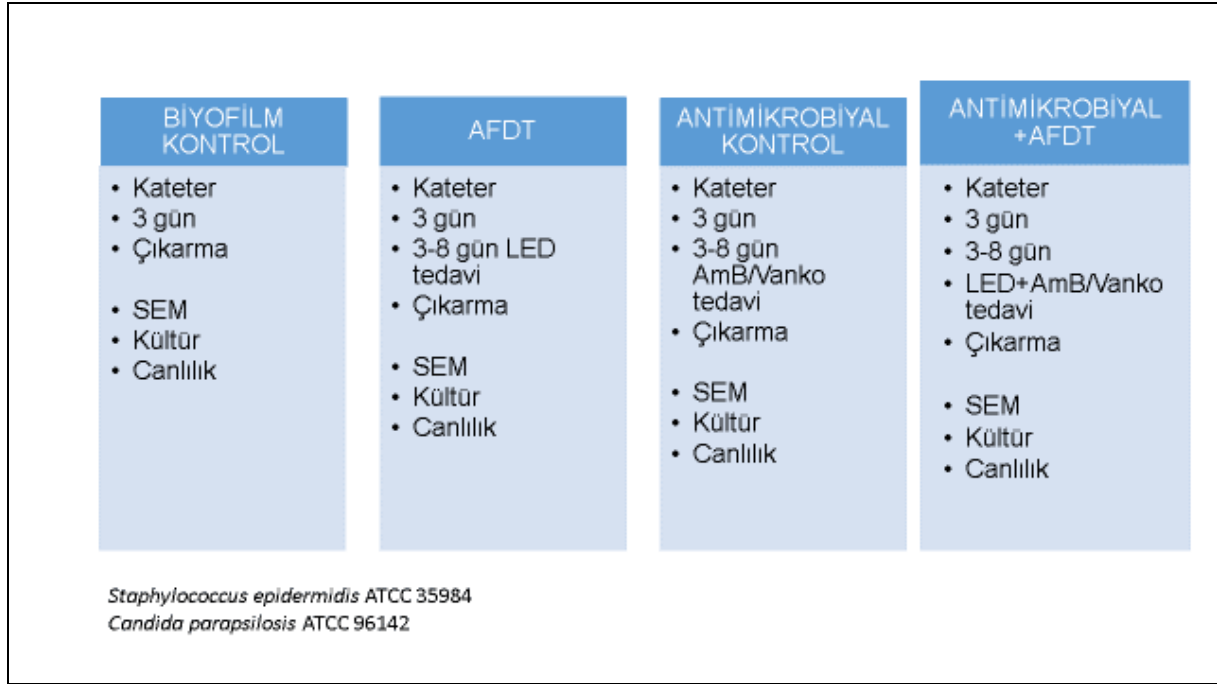
GEREÇ ve YÖNTEM

1. Kateter modeli: Bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın G.Ü.ET-20.006 kod numaralı etik onayı dahilinde 26 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Anestezi sonrası tüm tavşanların her iki kulağına da kalıcı intravenöz kateter takılmıştır. Tavşanların her iki kulağına da takılan kateterlerin tüm deney sürecinde yerinde kalması amacıyla “Elizabeth yakalık” olarak bilinen kısıtlayıcı boyunluk kullanılmıştır. Ayrıca her bir kateteri korumak amacıyla şeffaf kateter örtüsü yapıştırılmış, bunun üzerine pamuklu kumaştan dikilerek hazırlanan kulaklıklar geçirilmiştir (Fotoğraf 1). Kateterler sabitlendikten sonra, içerisinde 10×10^8 hücre/ml konsantrasyonda *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 süspansiyonu ile 10×10^6 hücre/ml konsantrasyonda *Candida orthopsilosis* ATCC 96142 (*C. parapsilosis* alt türü) süspansiyonu ile ayrı ayrı enfekte edilmiştir. Biyofilm oluşumu için 3.gün beklenmiştir.



Fotoğraf 1: Kateter modelinde kateter örtüsü, kumaş kılıf ve yakalık kullanımı.

2. Deney grupları: Toplam olarak 26 tavşan, 52 kateterin yarısında *Candida*, yarısında *Stafilokok* biyofilmi oluşturulmuştur. Bu aşamada deney grupları şu şekilde tasarlanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1: Deney gruplarının tasarımı

3. Antimikrobiyal fotodinamik tedavi: AFDT içeriğinde fotoaktivatör boya olarak metilen mavisi (25µg/mL) kullanılmıştır. Fotosensitizörün biyofilm tabakası ile bütünleşebilmesi amacıyla boya sonrası tavşanlar karanlıkta 5 dakika bekletilmiştir. Işık kaynağı olarak 660 nm dalga boyunda ışık veren kırmızı renkli “Light Emitting Diode” (LED) lamba kullanılmıştır. Lambanın ergonomik olarak objeye istenilen mesafede yaklaşmasını sağlamak ve sabitlemek için, LED ampulün monte edildiği bir yuva, ayak, adaptör ve elektrik kablosunu içeren bir lamba tasarımı hazırlanarak imalatı bir firmaya yaptırılmıştır. Tedavi etkinliğinin ölçümü güç ölçer ile kontrol edilmiştir. Bu amaçla güç ölçer (Optical Power Meter Kit, 843-R, 818-UV/DB Sensor, 200-1100nm, Optomek, Türkiye) kullanılmıştır. Güç ölçer ile 20 cm mesafeden, 1mW olarak ölçülen enerji, karanlık alanda 300 saniye (5 dk) boyunca uygulandığında 300 mJ/cm² olarak hesaplanmıştır. (Kullanılan formül mW (J/s) × s = mJ). Uygulama sırasında çekilen bir fotoğraf sunulmaktadır (Fotoğraf 2).



Fotoğraf 2: Tavşan kulağındaki katetere AFDT uygulama

4. İlaç tedavisi: Antibakteriyel ve antifungal tedavi uygulanacak olan gruplarda *S. epidermidis*'in etken olduğu bakteriyel biyofilme karşı antibiyotik olarak vankomisin, *C. orthopsilosis*'in etken olduğu fungal biyofilme karşı antifungal olarak lipozomal amfoterisin B ilaçları beş gün boyunca antikoagülan olan heparin ile birlikte kullanılmıştır. İlaçların seçiminde ve dozların belirlenmesinde Infection Diseases Society of America (IDSA)'nın yayınladığı kateter ilişkili kan dolaşımı enfeksiyonları rehberi baz alınmıştır.

5. Biyofilmin gösterilmesi: Proje kapsamında bulunmamasına rağmen bir firma tarafından tanıtım amaçlı sunulan “Bactiscan™” cihazı kullanılmıştır. Biyofilmin konumu cihaza ait UV ışık altında belirlenmiş, bundan sonraki basamaklarda kateterin bu parçası kullanılmıştır.

6. SEM analizi: Bu basamak hizmet alımı çerçevesinde ODTÜ Merkez Laboratuvarı ve Gazi Üniversitesi Teknoloji Fakültesi Laboratuvarında iki aşamada gerçekleştirilmiştir. SEM analizi öncesinde kateter parçalarına fiksasyon ve dehidratasyon uygulanmıştır. Bu amaçla, proksimal bölgeden alınan kateter parçası, steril koşullarda 2 eş parçaya kesilmiştir. Her biri 9 kuyucuklu steril hücre kültür plaklarına konulmuştur. Kateter parçasının bulunduğu kuyucuğa 2 ml, % 2.5 gluteraldehit solüsyonu eklenmiştir. Plagın kapağı kapatılmış ve hiç ışık almayacak şekilde alüminyum folyoya sarılmıştır. Plak, buzdolabında 4°C’de bir gece

bekletilmiştir. Ardından, kuyucuk içerisindeki glüteraldehit pipetle çekerek uzaklaştırılmıştır. Fikse edilen kateter parçası yeni bir kuyucuğa aktarılmıştır. Dehidrasyon için, beş farklı konsantrasyonda etil alkol solüsyonu hazırlanmıştır. Konsantrasyonlar : %25, %50, %75, %95 ve % 100 olarak kullanılmıştır. Fiksasyon sonrası yeni bir kuyucuğa aktarılan kateter parçası üzerine önce 2 ml, %25 etanol eklenip, 15 dakika bekletilmiş ve pipetle uzaklaştırılmıştır. Ardından her bir konsantrasyon için aynı işlem tekrar edilmiştir. En sondaki %100 etanol eklenmesi basamağı iki kez tekrar edilmiştir. Plak alkol uçana kadar 5-10 dakika kapak açık şekilde kurumaya bırakılmıştır. Kapak kapatıldıktan sonra SEM analizine kadar oda ısısında en az 24 saat kurutma işlemi uygulanmıştır.

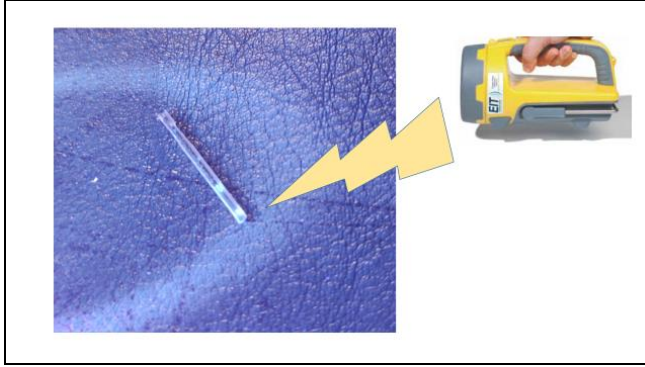
7. Biyofilm canlılık deneyi: Literatürden seçilen bir yöntem kullanılmıştır (3). Bu yöntemle göre, her bir kateter parçası ikiye bölünmüş bir parçası kültür için ayrılmıştır. İkinci parça 24'lük hücre kültür flaskı içindeki 2 ml triptik soy broth içinde 24 saat, 37°C'de inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak temiz triptik soy broth kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda her kuyucuktan 200µl besiyeri alınıp, düz tabanlı, 96'lık ELISA plağına aktarılmıştır. Plaklar 600 nm'de okunarak optik dansite değerleri (OD) ölçülmüştür. Kontrol OD değerini her örneğin OD değerinden çıkararak, test OD değerleri elde edilmiştir.

8. Mikrobiyolojik kültür: Biyofilm canlılık deneyinde kullanılmayan ikinci parça hem sıvı Mueller Hinton besiyerine, hem de katı koyun kanlı agara ekilmiştir. Sıvı besiyerinden ertesi gün kanlı agara pasaj yapılmıştır. Kanlı agarda 24 saat inkübe edilen koloniler sayılmıştır. Her bir 10µl örnek için üreyen koloni sayısı kayıt edilmiştir. Bakteri *S. epidermidis*'in kolonileri ve mantar *C. orthopsilosis*'in kolonileri sayılmıştır. *Candida orthopsilosis* ATCC 96142 esasen *C. parapsilosis* tür kompleksi üyesi bir kriptik türdür. Tam tür tanımı DNA düzeyinde yapılabilir. Bu nedenle proje sonuçlarında kültür tanımı fenotipik olarak yapıldığı için tanımlama sonucu *C. parapsilosis* olarak verilmiştir.

SONUÇLAR

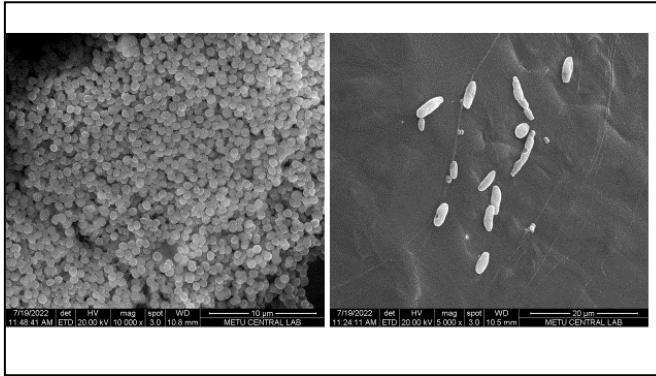
1. Biyofilmin gösterilmesi ve SEM sonuçları

Bactiscan™ ile kateter parçaları üzerinde biyofilmin pozisyonu belirlenmiştir (Fotoğraf 3).

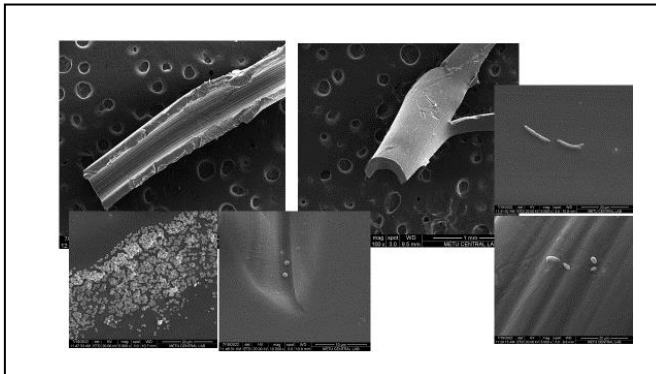


Fotoğraf 3: Kateter iç yüzeyinde biyofilmin bulunduğu alanlardaki UV yansıması

Bu alanların SEM analizinde bakteri ve mantar biyofilm alanları fotoğraflanmıştır. Aşağıda bazı SEM fotoğrafları bulunmaktadır. (Fotoğraf 4 ve 5)



Fotoğraf 4: Solda bakteri sağda mantar biyofilm kütlesi



Fotoğraf 5: Kateter kesitlerinin ve yüzeyde biyofilm alanlarının SEM görünümü

2. Koloni sayımı ve biyofilm canlılık ölçüm sonuçları:

Koloni sayımları yapılmış, antimikrobiyal kontrol grubunda üreme olmamıştır. AFDT uygulanan grupta *C. parapsilosis* üremesi olmuştur. Tüm koloni sayıları kontrol grubuna göre belirgin düşük bulunmuş, fark istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir. Koloni sonuçları tablo 1’de verilmiştir. Biyofilmin canlılığı spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Tüm gruplar için her bir kateterin OD değeri toplanmış ve ortalama OD değerleri kayıt edilmiştir. Bakteri grubunda *Staphylococcus* ile oluşturulan biyofilm kontrol grubunun ortalama OD değeri 0,683 iken, vankomisin ile tedavi verilen grubun ortalama OD değeri 0,069 ölçülmüştür. Tek başına AFDT uygulanan grupta bu değer 0,151 iken, AFDT ve vankomisin birlikte uygulanan grupta biyofilm canlılık değeri 0,128 olarak ölçülmüştür. Gruplar arasındaki fark anlamlıdır ($p<0,05$). Benzer şekilde *Candida* ile oluşturulan biyofilm grubunun kontrol OD değeri 0,351 iken, amfoterisin B uygulaması ile bu canlılık ortalama 0,092 olarak ölçülmüştür. AFDT tek başına uygulanan grupta ortalama OD değeri 0,104 bulunmuş, AFDT ve amfoterisin B birlikte uygulandığında 0,127 olarak ölçülmüştür. Gruplar arasındaki fark anlamlıdır ($p<0,05$). Tüm sonuçlar tablo 1’de verilmiştir.

	Biyofilm canlılık (Ortalama OD değerleri 600 nm okuma ile elde edilmiştir)				
	Kontrol	Amfoterisin B	AFDT	Amfoterisin B + AFDT	p
<i>C. parapsilosis</i>	0,351	0,092	0,104	0,227	<0,05
	Ortalama koloni sayıları				
<i>C. parapsilosis</i>	5	0	0	0	<0,05
	Biyofilm canlılık (Ortalama OD değerleri 600 nm okuma ile elde edilmiştir)				
	Kontrol	Vankomisin	AFDT	Vankomisin + AFDT	p
<i>C. epidermidis</i>	0,683	0,363	0,151	0,128	<0,05
	Ortalama koloni sayıları				
<i>C. epidermidis</i>	10	0	0	0	<0,05

Tablo 1: Biyofilm canlılık ölçüm sonuçları ve koloni sayıları

Sonuçlar değerlendirildiğinde, LED ışık uygulamasının kateterde oluşan biyofilm üzerinde baskılayıcı etki oluşturduğu, azalttığı ve canlılığını bozduğu gösterilmiştir. AFDT olarak tanımlanan tedavinin kateter uygulanması ile sağlık hizmeti ilişkili kateter enfeksiyonlarını engelleyebileceği değerlendirilmiştir.

TARTIŞMA

Biyofilmler ortopedik protez implantları, endotrakeal tüpler, vasküler kateterler, üriner kateterler, doku dolgu implantları gibi araç ilişkili enfeksiyonlara, kronik yara enfeksiyonlarına ve kistik fibrozisli hastalarda kronik akciğer enfeksiyonları gibi enfeksiyonlara neden olabilirler. Biyofilm enfeksiyonlarının tanı ve tedavisi genellikle güçtür. Tanıda biyofilmin yerinde tanımlanmasına yönelik görüntüleme yöntemleri ve biyofilmi oluşturan mikroorganizmanın tanımlanmasına yönelik mikrobiyolojik yöntemler bulunmaktadır. Günümüzde tanı ve tedavisinde yaşanan güçlükler ve özellikle antibiyotik direnç sorunları gibi problemlere yönelik farklı tedavi yaklaşımları araştırılmaktadır. Çeşitli antibiyotiklerle birlikte fotodinamik tedavi, antibiyotik kilit tedavisi ve çeşitli biyofilm etkili biyoaktif molekül/enzim tedavilerin yakın gelecekte daha yaygın kullanılacağı öngörülmektedir (1,4-8).

Bu çalışmada, 660 nm boyundaki kırmızı LED ışık ile metilen mavisi fotodinamik etkinlik için kullanılmıştır. Antimikrobiyal etkiyi ölçmek için biyofilm canlılığı ve koloni sayımları yapılmıştır. Çalışma sonucunda LED uygulamasının dokuya zararsız olduğu, tavşanlarda ek hasar oluşturmada antimikrobiyal ve antibiyofilm etkili olduğu gösterilmiştir.

LED düşük enerji veren ancak dokuda reaktif oksijen ara ürünlerinin (ROS) oluşmasına neden olarak antimikrobiyal etkinlik gösteren bir ışık kaynağıdır. U.V 'den farkı göze zararı olmadan, hastanın bulunduğu alanlarda kullanılabilmesidir. BU avantajı sayesinde kateterlerin çıkarılmadan, yerinde temizlenmesinde ve korunmasında etkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamız bir deney hayvanı modelidir. Sonuçlar deneysel olarak değerlendirilmiştir. Ancak, insanlarda uygulanabilmesi mümkündür. Gerekli izinler ve etik onaylar dahilinde insanlarda LED etkinliğinin bakılması sağlık hizmetinde yararlı olabilir.

Proje hedeflerimizde tavşan kulak veninde bir periferik venöz kateter modeli oluşturulması planlanmış ve bu hedef gerçekleştirilmiştir. Literatürde periferik venöz model bulunmamaktadır. Bu nedenle tasarladığımız deneysel modelin özgün değeri yüksektir.

Katetere uyguladığımız kırmızı ışık ve lamba modelimiz kendi tasarımıımız olduğu için özgün değeri yüksektir. Tasarladığımız LED uygulaması ile kateterde biyofilme etki yapılması hedeflenmiştir. Bu açıdan da projemiz hedefini gerçekleştirmiştir.

Biyofilmin değerlendirilmesinde literatürde SEM analizi sıklıkla kullanılmaktadır. Bizim proje kapsamında SEM analizi iki ayrı merkezde gerçekleştirilmiştir. Hedefimiz bu analizden karşılaştırılabilir sayısal veriler elde edilmesi olmasına rağmen, SEM sonucunda biyofilm kütlesi görüntülenmiş ancak, sayısal bir değer elde edilememiştir. Bu nedenle yeni bir literatür taramasına gidilmiştir. Proje döneminde yayınlanan bir çalışmaya rastlanmış ve bu çalışma yönteminde yer alan biyofilm kütle ölçümü ve biyofilm canlılık ölçümleri denenmiştir (4). Biyofilm kütlesinin ölçülmesinde başarı elde edilememiştir. Zira, literatürdeki kaynakta santral kateter kullanılmış olup, lümen içindeki biyofilm geniş bir alanı kaplamakta olup, kazınarak çıkarılabilmüş ve ölçülebilmştir. Ancak, bizim çalışmamızda periferik kateter kullanılmış olduğu için lümen çapı biyofilmin mekanik olarak kazınmasına uygun olmamıştır. Bu nedenle biyofilm kütlesi ölçülememiştir. Ancak, aynı yayında yer alan canlılık ölçümü gerçekleştirilebilmiştir. Biyofilm canlılığını ölçmek için kullandığımız yöntem, sıvı besiyerinde bir süre bekletilen kateterlerin yüzeylerinde yer alan biyofilme dahil organizmaların sıvı besiyerine aktarıldığı ve ürettiği esasına dayanmaktadır. Sıvı besiyerindeki bulanıklık spektrofotometrik olarak ölçülerek sayısal değerler elde edilmiş ve böylece gruplar arasında karşılaştırma ve istatistik yapılması mümkün olabilmştir.

ÖNERİLER

1. Sağlık kurumlarında UV uygulamaları gibi, günlük rutin LED uygulamaları yapılabilir.
2. LED ışığın uygun aktivatör ile oluşturduğu antimikrobiyal etki kateter bakımına eşlik edebilir.
3. İnsan deneylerinin etik onaylar çerçevesinde yapılması, kateter ilişkili enfeksiyonların tedavisinde yeni yaklaşımların oluşturulmasına olanak sağlayabilir.

KAYNAKLAR

1. Kalkancı A, Güzel Tunçcan Ö. Biofilm-Related Infection: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Mediterr J Infect Microb Antimicrob*. 2019;8:18.
2. Güzel Tunçcan Ö, Kalkancı A, Ünal EA, Abdulmajed O, Erdogan M, Dizbay M, Çağlar K. The in vitro effect of antimicrobial photodynamic therapy on *Candida* and *Staphylococcus* biofilms *Turk J Med Sci* 2018; 48: 873-879.
3. Austin PD, Stapleton P, Elia M. Comparative effect of seven prophylactic locks to prevent biofilm biomass and viability in intravenous catheters. *J Antimicrob Chemother*. 2022: dkac181.
4. Huang Z. A review of progress in clinical photodynamic therapy. *Technol Cancer Res Treat* 2005; 4: 283-293.
5. Wainwright M, Maisch T, Nonell S, Plaetzer K, Almeida A, Tegos GP, Hamblin MR. Photoantimicrobials-are we afraid of the light? *Lancet Infect Dis* 2017; 17: 49-55.
6. De Melo WC, Avci P, de Oliveira MN, Gupta A, Vecchio D, Sadasivam M, Chandran R, Huang YY, Yin R, Perussi LR et.al. Photodynamic inactivation of biofilm: taking a lightly colored approach to stubborn infection. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11: 669-693.
7. Řičicová M, Kucharíková S, Tournu H, Hendrix J, Bujdáková H, Van Eldere J, Lagrou K, Van Dijck P. *Candida albicans* biofilm formation in a new in vivo rat model. *Microbiology (Reading)*. 2010; 156 (Pt 3): 909-919.
8. Fernández-Hidalgo N, Gavalda J, Almirante B, Martín MT, Onrubia PL, Gomis X, Pahissa A. Evaluation of linezolid, vancomycin, gentamicin and ciprofloxacin in a rabbit model of antibiotic-lock technique for *Staphylococcus aureus* catheter-related infection. *J Antimicrob Chemother*. 2010; 65 (3): 525-30.