

GSBL Pozitif Üropatojen *Escherichia coli* İzolatlarının Plazma Polimerizasyon Tekniği ve Nanomalzemeler ile Modifiye Edilmiş (Mikroplak) Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi: Deneysel Model

Elvan HORTAÇ*, Gizem KALELİ**, Dilek ÇÖKELİLER***, Şükran YAVUZDEMİR****, Mehmet MUTLU**, Müge DEMİRBİLEK EKİCİ*, Jülide Sedef GÖÇMEN*

*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

**TOBB ETÜ Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendislik Bölümü

***Başkent Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendislik Bölümü

****Atatürk Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

ÖZET

Amaç: Kateter ilişkili üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan önemli etkenlerden biri GSBL pozitif üropatojen *Escherichia coli*'dir. Biyoteknoloji ile üretilen biyoyoumlu malzemenin katatere kaplanarak kolonizasyonun engellenmesi enfeksiyonun önlenmesinde önemli bir aşamadır. Sunulan araştırmada, GSBL pozitif üropatojen *E. coli* izolatlarının farklı biyoyoumlu nanomalzemelerle kaplanmış mikroplaklardaki biyofilm oluşumuna etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ankara TOBB ETÜ Hastanesi dâhili ve cerrahi polikliniklere başvuran ayaktan hastaların idrar kültüründen izole toplam 45 GSBL pozitif *E. coli* izolatının plazma polimerizasyon yöntemiyle iki farklı monomerle [2-hidroksietilmetakrilat (HEMA)] ve Etilen glikol dimetakrilat (EGDM)] kaplanmış mikroplaklarda biyofilm oluşumu araştırılmıştır.

Bulgular: Araştırmada kullanılan 45 GSBL pozitif *E. coli* suşunun 8 tanesi standart yöntemler ile boş plaklarda hafif düzeyde biyofilm oluştururken, EGDM ile kaplanmış mikroplakta 11, HEMA ile kaplanmış mikroplakta ise yalnızca 1 suş biyofilm tabaka oluşturmuştur.

Sonuç: Monomer yapılarla kaplanmış üriner kateterlerin kullanılmasının üriner sistemde kateter ilişkili enfeksiyonlarını ve buna bağlı morbidite ve mortalite oranlarını azaltabileceğini gösteren *in vitro* sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyofilm, nanomalzeme, üropatojen *E. coli*

SUMMARY

Investigation of Biofilm Formation of ESBL Positive Uropathogenic *Escherichia coli* Isolates on (Microplate) Surfaces Modified with Plasma Polymerization Technique and Nanomaterials: An Experimental Model

Objective: Extended spectrum beta lactamase (ESBL) positive urinary pathogen *Escherichia coli* is one of the major agents that lead to catheter-associated urinary tract infection. Prevention of colonization via coating the catheter with biocompatible materials produced by biotechnology is an important step in the prevention of infection. In the presented study, it was aimed to investigate the biofilm formation of ESBL positive urinary pathogen *E. coli* isolates on microplates which were coated with different bio-compatible nano-materials.

Materials and Methods: Biofilm formation of a total of 45 ESBL positive *E. coli* isolates identified at urine cultures of patients who attended to the medical and surgical outpatient clinics of Ankara TOBB ETU Hospital, on microplates coated with two different monomers [2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and ethylene glycol dimethacrylate (EGDM)] using plasma polymerization technique was examined.

Results: Out of 45 ESBL positive *E. coli* strains used in the study, 8 were observed to form a slight level of biofilm on uncoated plates whereas on EGDM coated microplates 11, and on HEMA coated microplate only 1 strain formed biofilm.

Conclusion: *In vitro* results showed that using urinary catheters coated with monomer material can reduce catheter associated urinary system infections and morbidity and mortality rates accordingly.

Key words: Biofilm, nanomaterial, uropathogenic *E. coli*

Alındığı tarih: 03.05.2016

Kabul tarihi: 16.06.2016

Yazışma adresi: Elvan Hortaç, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bağlıca Kampüsü, Etimesgut / Ankara
e-posta: elvanhortac@gmail.com

GİRİŞ

Üriner sistem enfeksiyonu (ÜSE) erişkin hastaların hastaneye başvurma nedenleri arasında en yaygın olanıdır⁽¹⁾. Komplike ÜSE’de etken patojen kişiden kişiye ve hastaneden hastaneye farklılıklar göstermekle birlikte, en sık neden gram negatif bakterilerdir. Bunlar içinde de *Escherichia coli* en sık izole edilen mikroorganizmadır⁽²⁾. Biyofilm tabaka bakterilerin antibakteriyel ajanlardan ve vücudun savunma sistemlerinden korunmasını sağlayan ve yüzeye sıkıca tutunmalarına olanak veren ekstraselüler polimerlerden oluşan bir yapıdır⁽³⁾. Bu tabaka bakteri, bakteriyel glikokaliks, Tamm-Horsfall proteini ve tuzlardan meydana gelir⁽⁴⁾.

Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL); sefalosporin grubundaki oksiiimino-sefalosporinleri hidroliz edebilen ve genellikle klavulanik asit, sulbaktam veya tazobaktam gibi beta laktamaz inhibitörleri ile inhibe olan enzimlerdir. GSBL’ler *Klebsiella* spp. ve *E. coli* türlerinde daha sık olmakla birlikte, *Salmonella* spp. ve *Shigella flexneri*’nin de dahil olduğu enterik bakterilerde de bildirilmiştir⁽⁵⁾. Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten mikroorganizmalar başlıca sepsis, üriner sistem enfeksiyonu ve solunum yolu enfeksiyonlarına neden olur. GSBL’lerin aynı ve farklı cins bakterilere taşınabilmesi hastanelerde özellikle yoğun bakım ünitelerinde salgınlara neden olabilir. Bu suşlarla gelişen enfeksiyonlarda komplikasyon gelişme ve mortalite riski yüksektir. GSBL üreten suşlar üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinlere in vitro duyarlı olsa bile tedavide başarısızlık görülebilir^(6,7). Bu nedenle enfeksiyon gelişiminden önce alınacak koruyucu önlemler, tedavi seçeneğinden önde yer almalıdır. Biyoteknoloji ile üretilen biyoyumlu malzemenin katatere kaplanarak kolonizasyonun engellenmesi enfeksiyonun önlenmesinde önemli bir aşamadır⁽⁸⁾.

Sunulan çalışmada, plazma ışması ortamı

oluşturularak, bu ortamda iki farklı tipte monomerin katı yüzey üzerinde film tabakası formunda polimerleşmesi gerçekleştirilerek GSBL pozitif üropatojen *E. coli* izolatının biyofilm yapmaları üzerine etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmada Ankara TOBB ETÜ Hastanesi Dahili ve Cerrahi Poliklinikler’e başvuran hastaların idrar kültüründen izole toplam 45 GSBL pozitif *E. coli* izolatu kullanıldı. İzolatların tanımlanmasında konvansiyonel yöntemler kullanıldı. GSBL varlığı, konvansiyonel yöntem ve otomatize sistemler tarafından belirlenen minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) düzeyleri ile belirlendi⁽⁹⁾. *E. coli* (ATCC 25922) ve GSBL pozitif *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) suşları kontrol kökenler olarak kullanıldı.

Slime oluşumu Christensen ve ark.⁽¹⁰⁾ tarafından tanımlanmış olan “Kantitatif plak test” yöntemi ile belirlendi. Bakteriler MacFarland 0.5 bulanıklık derecesinde Triptik Soy Buyyon (Becton Dickinson, ABD) besiyerinde 24 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra bakterilerin 1/100 dilüsyonları yapıldı. Düz tabanlı mikropaklarda bakteri içermeyen deney ortamları negatif kontrol olarak kullanılırken deney kuyucuklarına 20 µl bakteri, 180 µl deney ortamı konuldu ve böylece 1/100 dilüsyona ulaşıldı. Her bir bakteri için ikişer kuyucuk kullanıldı.

Hazırlanan mikropaklar 37°C’de 24 saat inkübe edildikten sonra kuyucuklar boşaltılıp steril fosfat tampon solüsyonu (pH:7.2) ile 4 kez yıkandı. Fiksasyon için her bir kuyucuk metanol ile muamele edildi. Yüzde 2’lik kristal viyole ile boyama işleminden sonra etanol konuldu. Mikropakların 540 nm dalga boyunda optik dansite ölçüldü.

Her bir bakteri için hazırlanmış olan ikişer kuyucuktan elde edilen optik dansite (OD) değerleri

nin ortalamaları alındı. Negatif kontrol kuyucuklarından elde edilen OD değerlerinin 3 SD üstü sınır değer “cut-off” olarak belirlendi. Buna göre sınır değer üzerinde olan suşlar slime pozitif olarak kabul edildi. OD değeri sınır değerle bunun 2 katı arasında olanlar hafif, 2-4 katı arasında olanlar orta, 4 katı üzerinde olanlar ise kuvvetli pozitif olarak sınıflandırıldı⁽¹¹⁾.

Plazma polimerizasyon plazmadaki organik moleküllerin polimerize olduğu ve bir malzeme üzerine çöktüğü kaplama yöntemidir. Plazma yüksek sıcaklıklarda kuvvetli elektrik veya manyetik alanların etkisi ile oluşur⁽¹²⁾. Bu yöntem ile plazma ortamında tüm organik bileşiklerin katı malzeme yüzeylere kaplanabilmesi ve böylece yüzeyin biyoyumluluğunun artırılması olasıdır⁽¹³⁾. Plazma ışıması başlıca iki türdür: “Sıcak plazma” ve “soğuk plazma”⁽¹⁴⁾. Çalışmada kullandığımız mikroplak yüzeylerin kaplanmasında vakum ortamında çalışan plazma sistemi kullanılarak soğuk plazma yöntemiyle iki farklı monomer [2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ve Etilen glikol dimetakrilat (EGDM)] kullanıldı.

Plazma polimerizasyon tekniği ile 2 farklı monomerle kaplanan mikroplaklar ve kaplanmamış mikroplakta tüm suşların biyofilm oluşturması deneyi eşzamanlı olarak yukarıda anlatıldığı şekilde yinelenmiştir.

Standart yöntem ve polimer ile kaplı plakların kullanıldığı yöntem arasındaki birliktelik SPSS (ver.16.0, Chicago, IL, ABD) bilgisayar programında Cohen kappa (κ) testi ve buna bağlı Landis Koch sınıflandırması ile değerlendirildi⁽¹⁵⁾.

BULGULAR

Araştırmada kullanılan 45 GSBL pozitif *E. coli* suşunun 8'inin (%18) kaplanmamış mikroplakta hafif (1 SD) biyofilm oluşturduğu gözlemlendi. Pozitif kontrol olarak kullanılan *K. pneumoniae*

ATCC 700603 suşu da hafif derecede biyofilm oluşturdu. Kontrol suşları da dâhil olmak üzere test edilen mikroorganizmaların %19'u kaplanmamış mikroplakta biyofilm oluşturdu.

EGDM ile kaplanmış mikroplakta ise kaplanmamış mikroplakta biyofilm oluşturan 8 suştan 7 tanesinin hafif, bir tanesinin ise orta derecede (2 SD); aynı zamanda *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *E. coli* ATCC 25922 kontrol suşlarının da hafif derecede biyofilm oluşturduğu görüldü. Ayrıca kaplanmamış plakta biyofilm oluşturmayan 4 suşun EGDM kaplı plakta hafif düzeyde biyofilm yaptığı gözlemlendi. Kontrol suşları da dâhil olmak üzere test edilen mikroorganizmaların %30'unun EGDM ile kaplanmış mikroplakta biyofilm yapısı meydana getirdiği gözlemlendi. Bu noktada EGDM'nin GSBL üreten gram negatif bakterilerin biyofilm oluşumuna etkisi anlamsız olarak değerlendirildi.

HEMA ile kaplanmış mikroplakta ise pozitif kontrol suşu da dâhil olmak üzere kaplanmamış plakta biyofilm oluşturan 8 klinik izolatın 7'sinin biyofilm oluşumunun baskılandığı, yalnızca tek bir biyofilm pozitif suşun (%2) hafif düzeyde biyofilm oluşturduğu gözlemlendi. Bunun sonucunda, HEMA'nın GSBL üreten gram negatif bakterilerin biyofilm oluşumuna negatif yönlü bir etkisi olduğu tespit edildi.

Tablo 1'de kaplanmamış ve sırasıyla EGDM ve HEMA ile kaplanmış mikroplaklardaki biyofilm pozitiflik ve negatiflik sayıları gösterilmektedir. Standart köken yöntem ile karşılaştırıldığında Cohen κ değerleri; EGDM için 0.671 (önemli

Tablo 1. Kullanılan mikroorganizmaların kaplanmamış, EGDM ve HEMA ile kaplanmış mikroplaklardaki (OD değerine göre) biyofilm düzeyleri.

Biyofilm pozitiflik dereceleri	0	1+	2+	3+
Kaplanmamış plak	38	9	-	-
EGDM kaplı plak	33	13	1	-
HEMA kaplı plak	46	1	-	-

derece uyuşma) ve HEMA için 0.168 (önemsiz derecede uyuşma) olarak bulundu.

TARTIŞMA

Günümüzde giderek artan bir sağlık sorunu olan yoğun bakım kökenli nozokomiyal enfeksiyonlar artmış mortalite, morbidite ve maliyetin en önemli nedenlerinden biridir. Bu enfeksiyonların en sık görülenleri ventilatör ilişkili pnömoni, katetere bağlı kan dolaşımı enfeksiyonları ve kateter ilişkili üriner sistem enfeksiyonlarıdır (Kİ-ÜSE). Bu enfeksiyonların önlenmesi ile maliyet, hastanede yatış süresi ve mortalitenin azaltılabildiği bildirilmiştir⁽¹⁶⁾.

Kİ-ÜSE hastane enfeksiyonlarının %40-60'ını oluşturur. Ürosepsis de kan dolaşımı enfeksiyonlarının en sık ikinci nedenidir. Üriner sistemde bulunan kateterler çoklu ilaç direnci gösteren bakteriler için bir rezervuar ve Kİ-ÜSE için en büyük risk faktörüdür⁽¹⁷⁾. Üriner sistem kateteri bulunan hastalarda bakterüri etkeni genellikle tek bir organizmadır ve en sık izole edilen mikroorganizma *E. coli*'dir. Hastanede yatan hastaların %15-25'inde üriner sistem kateterleri vardır ve bu kateterlerin sistemde kalma süresi 2-4 gündür. Diğer sistemlerdeki enfeksiyon, uzamış hastanede yatış süresi ve altta yatan hastalıklar nedeniyle kateter takılı gün sayısı uzadıkça Kİ-ÜSE riski artmaktadır⁽¹⁸⁾.

Kateter yüzeyi bakteri adezyonuna ve bakterinin biyofilm oluşturarak konak savunmasından kaçmasına neden olur⁽¹⁹⁾. Bakterilerin katı yüzeylere tutunması serbest yüzey enerjisi, hidrofobisite, yüzey kimyasal yapısı ve yükü ile yüzeyin pürüzlülüğü gibi faktörlere bağlıdır⁽¹²⁾. Yüksek yüzey enerjisine sahip materyallerin bakteriyel tutunmaya daha elverişli olduğu bilinmektedir⁽²⁰⁾. Bu gibi katı yüzeylere tutunan bakteri çoğalırken hücre dışına bakteriyel glikokaliks salgılar. İdrar içeriğindeki tuz ve proteinler polisakarit yapıdaki bu glikokaliks ile kompleks bir yapı

oluşturarak bakteriyi antimikrobiyal ajanlardan, konak savunmasından ve idrarın mekanik temizleyici özelliğinden korur⁽²¹⁾.

İdrar kateterleri doğal kauçuk, polisopren ya da silikondan olabilir. Kateterlerinin yapıldığı madde ile enfeksiyon oluşumunun sıklığı arasındaki bağlantı belirlenememiştir⁽²²⁾.

Kateter hangi maddeden yapılmış olursa olsun, kateter yüzeyi üropatojen bakterilerin tutunması ve biyofilm oluşturarak konak savunmasından kaçışı sonucu enfeksiyon gelişimi için uygun ortam sağlar. Bu enfeksiyonların önüne geçmek amacıyla son yıllarda bazı antimikrobiyal ajanlar ve biyofilm oluşumunu inhibe edici maddelerle kaplanmış kateterler kullanıma girmiştir⁽²³⁻²⁵⁾. Gümüş kaplı kateter kullanıldığında üriner enfeksiyon gelişme oranı %30'luk bir azalma göstermiştir⁽²⁶⁾. Heparinle kaplanmış kateterler ile tıkanıklığın ve biyofilm oluşumunun engellenebileceği gösterilmiştir⁽²⁷⁾. Nitrofurazon kaplı kateterlerin üriner enfeksiyon gelişmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda kısa süreli kateterizasyonda enfeksiyon oranlarının düştüğü fakat uzun süreli kateterizasyonda fark görülmediği bildirilmiştir⁽²⁸⁾.

Çalışmamızda, plazma polimerizasyon yöntemi kullanılarak iki farklı monomer ile kapladığımız plaklarda üropatojen *E. coli* suşlarının biyofilm yapılıp yapmadıkları invitro olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar kaplı olmayan plaktaki sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Plakları kaplamada kullandığımız HEMA monomerinin test ettiğimiz gram negatif bakterilerin biyofilm oluşumunu %88.8 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. HEMA biyokimyasal ve mekanik karakteristiğinden ötürü özellikle diş hekimliğinde, dental restoratif materyaller içerisinde kullanılan ana komponentlerden biridir⁽²⁹⁾. HEMA monomerinin streptokok türlerinde biyofilm oluşumu üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, biyofilm oluşumuna direk etkisi bulunamamış, fakat artan kon-

santrasyonların planktonik hücre miktarının düşürerek biyofilm formasyonunu indirek olarak azalttığı gözlemlenmiştir⁽³⁰⁾. Yine HEMA monomeri içeren gümüş nanopartiküllerin *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* biyofilm formasyonu üzerindeki inhibitör etkisini inceleyen bir çalışmada HEMA'nın anlamlı derecede inhibitör etkinliği olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada *P. aeruginosa* biyofilmlerinin bu nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisine *S. aureus* biyofilmlerinden çok daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir⁽³¹⁾. Değişen oranlarda HEMA içeren polimerlerle yapılan çalışmalarda, içerdiği hidroksil ucu sayesinde HEMA oranı arttıkça hidrofobisitenin azaldığı, dolayısıyla bakteri adezyonunun da azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur^(32,33). HEMA monomerinin özellikle *Enterobacteriaceae* üyesi gram negatif bakterilere etkinliği üzerinde yapılan çalışmalar kısıtlı sayıda olup, bu konuda daha fazla invitro ve invivo çalışmaya gereksinim vardır.

EGDM monomeri genellikle polimer üretiminde çapraz bağlayıcı olarak kullanılan bir monomerdır⁽³⁴⁾. Çalışmamızda EGDM monomerinin biyofilm oluşumunu inhibe etmediği, hatta bazı suşlarda biyofilm oluşumunu pozitif yönde desteklediği sonucuna varılmıştır. Bunun nedeni monomerin kimyasal yapısının gram negatif bakterilerle oluşturduğu elektrostatik etkileşim olabilir. EGDM'nin gram pozitif bakteriler üzerinde inhibitör etkinliği olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur^(35,36).

Plazma polimerizasyon yöntemiyle adezyon, sürtünme katsayısı, yüzey enerjisi ve iletkenliği gibi modifiye edilmemiş yüzeylerden tamamen farklı özelliklere sahip yeni yüzeyler elde etmek olasıdır⁽³⁷⁾. Bu yönteminin en önemli avantajlarından biri homojen ve ince kaplamalar elde edilebilmesidir. Plazma polimerizasyon yöntemiyle plazma ortamında bir ön koşul olmaksızın tüm organik bileşiklerin (monomer), katı malzeme yüzeylerin üzerinde polimerleşebilmesi

(kaplama) ve böylece yüzeyin biyoyumluğunun artırılması olasıdır. Bu şekilde üriner sistemde kullanılacak kateterlerin yüzeylerinin kaplanması da olasıdır.

Sonuç olarak, sunulan araştırmada monomer yapılarla kaplanmış üriner kateterlerin kullanımının üriner sistemde kateter ilişkili enfeksiyonların oranını azaltabileceğini gösteren invitro sonuçlar elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. **Foxman B.** Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med* 2002; 113(Suppl 1):S5-13. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343\(02\)01054-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9343(02)01054-9)
2. **Bennett CJ, Young MN, Darrington H.** Differences in urinary tract infections in male and female spinal cord injury patients on intermittent catheterization. *Paraplegia* 1995; 33:69-72. <http://dx.doi.org/10.1038/sc.1995.17>
3. **Donlan RM, Costerton JW.** Biofilms; survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:167-93. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>
4. **Darouiche RO.** Device-associated infections; a macroproblem that starts with microadherence. *Clin Infect Dis* 2001; 33:1567-72. <http://dx.doi.org/10.1086/323130>
5. **Gür D.** Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar. Ulusoy S.(Editör). Beta-laktamazlar ve klinik önemi. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2005;70-88.
6. **Esen Ş.** GSBL ve IBL yapan enterik bakteriler; klinik önemi, tedavi. *ANKEM Derg* 2008; 22(Ek2):E28-35.
7. **Leblebicioğlu H.** ESBL'lerin klinik önemi ve tedavi yaklaşımları. Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ, (Eds). Yeni ve yeniden gündeme gelen enfeksiyonlar; genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlarda. 1. Baskı. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004;30-4.
8. **Doğanlı GA.** Medikal İmplantlarda Biyofilm Oluşumu. Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi Kitabı; 15-18 Ekim 2015; Muğla: Türkiye 2015;459-62.
9. **CLSI.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 24th Informational Supplement M100-S24, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
10. **Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, et al.** Adherence of coagulase-negative staphylococci to

- plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol* 1985; 22:996-1006.
11. **Stepanović S, Vuković D, Hola V, et al.** Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS* 2007; 115:891-9.
http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x
 12. **Özkan A.** Plazma polimerizasyon tekniği ile farklı yüzey kararlılığı oluşturulan tip 4 titanyum implant materyaline 2 farklı yüzey enerjisine sahip oral streptokokların in vitro adezyonunun incelenmesi. Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı [Doktora Tezi] 2011.
 13. **Jiang B, Zheng J, Qiu S, et al.** Review on electrical discharge plasma technology for wastewater remediation. *Chem Eng J* 2014; 236:348-68.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2013.09.090>
 14. **Çökeliler D, Erkut S, Zemek J, Biederman H, Mutlu M.** Modification of glass fibers to improve reinforcement: A plasma polymerization technique. *Dent Mater* 2007; 23:335-42.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2006.01.023>
 15. **Landis JR, Koch GG.** The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33:159-74.
<http://dx.doi.org/10.2307/2529310>
 16. **Kundakçı A, Özkalaycı Ö, Zeyneloğlu P, Arslan H, Pirat A.** Bir cerrahi yoğun bakım ünitesinde nozokomiyal enfeksiyonların risk faktörleri. *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi* 2014; 12:25-35.
<http://dx.doi.org/10.4274/tybdd.80299>
 17. **Paradisi F, Corti G, Mangani V.** Urosepsis in the critical care unit. *Crit Care Clin* 1998; 14:165-80.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0704\(05\)70390-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0704(05)70390-0)
 18. **Warren JW.** Catheter-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17:299-303.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(00\)00359-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00359-9)
 19. **Nickel JC, Costerton JW, McLean RJ, Olson M.** Bacterial biofilms: Influence on the pathogenesis, diagnosis and treatment of urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33(Suppl A):S31-41.
http://dx.doi.org/10.1093/jac/33.suppl_A.31
 20. **van Dijk J, Herkströter F, Busscher H, Weerkamp A, Jansen H, Arends J.** Surface-free energy and bacterial adhesion. An in vivo study in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 1987; 14:300-4.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.1987.tb01537.x>
 21. **Esen Ş.** Kateter ilişkili üriner sistem enfeksiyonlarının önlenmesi. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* 2005; 9: 129-35.
 22. **Lawrence EL, Turner IG.** Materials for urinary catheters: A review of their history and development in the UK. *Med Eng Phys* 2005; 27:443-53.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.medengphy.2004.12.013>
 23. **Ahearn DG, Grace DT, Jennings MJ, et al.** Effects of hydrogel/silver coatings on in vitro adhesion to catheters of bacteria associated with urinary tract infections. *Curr Microbiol* 2000; 41:120-5.
<http://dx.doi.org/10.1007/s002840010105>
 24. **Lai KK, Fontecchio SA.** Use of silver-hydrogel urinary catheters on the incidence of catheter-associated urinary tract infections in hospitalized patients. *Am J Infect Control* 2002; 30:221-5.
<http://dx.doi.org/10.1067/mic.2002.120128>
 25. **Wagner M, Dolan L, Steelman V, Boyd M.** Using existing databases for product evaluation: silver-treated catheter trial. *Reflect Nurs Leadersh* 2002; 28:32-45.
 26. **Karchmer TB, Giannetta ET, Muto CA, Strain BA, Farr BM.** A randomized crossover study of silver-coated urinary catheters in hospitalized patients. *Arch Intern Med* 2000; 160:3294-8.
<http://dx.doi.org/10.1001/archinte.160.21.3294>
 27. **Tenke P, Riedl CR, Jones GL, Williams GJ, Stickler D, Nagy E.** Bacterial biofilm formation on urologic devices and heparin coating as preventive strategy. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 23(Suppl 1):S67-74.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2003.12.007>
 28. **Lee SJ, Kim SW, Cho YH, et al.** A comparative multicentre study on the incidence of catheter-associated urinary tract infection between nitrofurazone-coated and silicone catheters. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 4(Suppl 1):S65-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2004.02.013>
 29. **Garcia FC, Wang L, Pereira LC, de Andrade e Silva SM, Júnior LM, Carrilho MR.** Influences of surface and solvent on retention of HEMA/mixture components after evaporation. *J Dent* 2010; 38:44-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2009.09.003>
 30. **D'Ercole S, Di Giulio M, Grande R, et al.** Effect of 2-hydroxyethyl methacrylate on *Streptococcus* spp. biofilms. *Lett Appl Microbiol* 2011; 52:193-200.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02985.x>
 31. **Fazly Bazzaz BS, Khameneh B, Jalili-Behabadi MM, Malaekheh-Nikouei B, Mohajeri SA.** Preparation, characterization and antimicrobial study of a hydrogel (soft contact lens) material impregnated with silver nanoparticles. *Cont Lens Anterior Eye* 2014; 37:149-52.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clae.2013.09.008>
 32. **Hogt AH, Dankert J, Feijen J.** Adhesion of coagulase-negative staphylococci to methacrylate polymers and copolymers. *J Biomed Mater Res* 1986; 20:533-45.
<http://dx.doi.org/10.1002/jbm.820200409>
 33. **Tunney MM, Jones DS, Gorman SP.** Methacrylate

- polymers and copolymers as urinary tract biomaterials: resistance to encrustation and microbial adhesion. *Int J Pharm* 1997; 151:121-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)04902-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(97)04902-8)
- 34. Ayhan H, Ayhan F.** Kontrollü ilaç salımı için fotoçapraz bağlı poli (Etilen glikol) hidrojeller. *Turk Biyokimya Derg* 2014; 39:403-15.
- 35. Ansari MA, Khan HM, Khan AA, Cameotra SS, Alzohairy MA.** Anti-biofilm efficacy of silver nanoparticles against MRSA and MRSE isolated from wounds in a tertiary care hospital. *Indian J Med Microbiol* 2015; 33:101-9.
<http://dx.doi.org/10.4103/0255-0857.148402>
- 36. Akhil K, Jayakumar J, Gayathri G, Khan SS.** Effect of various capping agents on photocatalytic, antibacterial and antibiofilm activities of ZnO nanoparticles. *J Photochem Photobiol B* 2016; 160:32-42.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.03.015>
- 37. Brunski JB, Puleo DA, Nanci A.** Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15:15-46.