



BAKTERİYEL MİKROORGANİZMALARDA BİR SAVUNMA SİSTEMİ: “BİYOFİLM”

Ahmet KÖREMEZLİ^{1*}, Ergin KARIPTAŞ², Belgin ERDEM³

¹Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, 40200, Kırşehir, Türkiye

²Samsun Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 55080, Samsun, Türkiye

³Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, 40200, Kırşehir, Türkiye

Özet: Biyofilmler, 17. Yüzyılda Antonie van Leeuwenhoek'in keşfiyle ve sonrasında birçok bilim insanının çalışmalarıyla incelenmiş, gerek endüstri gerekse tıp alanındaki önemi son yıllarda ortaya konulmuştur. Bakteriyel mikroorganizmalar, biyofilm oluşumuyla kendilerini; antibakteriyel ajanlar, immün sistem elemanları ve çevresel tehditlere karşı savunurlar. Biyofilmler birçok hastalık oluşumuyla doğrudan ilişkilidir. Biyofilm içerisindeki mikroorganizmalar sinyal molekülleri aracılığıyla iletişim kurdukları “quorum sensing” denilen bir haberleşme sistemine sahiptirler. Bu mikroorganizmalar biyofilm üretmek yoluyla birçok avantaj elde ederler ve antimikrobiyal ajanlardan kendilerini korurlar. Günümüzde bakteriyel biyofilm oluşumu, Kongo kırmızılı agar yöntemi, Standart cam tüp yöntemi gibi farklı analiz yöntemleriyle incelenmektedir. Kolorimetrik yöntemler, mikroskopik yöntemler gibi farklı biyofilm kültür yöntemleri de mevcuttur.

Anahtar kelimeler: Biyofilm, Quorum Sensing, Bakteri, Analiz yöntemleri, Kültür yöntemleri


Defense System in Bacterial Microorganisms: “Biofilm”


Abstract: Biofilms were discovered by Antonie Van Leeuwenhoek in the 17th century and were later studied by many scientists. Its importance in industry and medicine has revealed in recent years. Bacterial microorganisms defend themselves against antibacterial agents, immune system elements and environmental threats by forming a biofilm. Biofilms are directly related in the formation of many diseases. Microorganisms in the biofilm have a communication system called “Quorum Sensing” with which they communicate through signal molecules. These microorganisms get many advantages by producing biofilms and protect themselves from antimicrobial agents. Today, bacterial biofilm formation is inspected with different analysis methods for instance Congo red agar method, standard glass tube method. There are also different biofilm culture methods such as colorimetric methods and microscopic methods.


Keywords: Biofilm, Quorum Sensing, Bacteria, Analysis methods, Culture methods

*Sorumlu yazar (Corresponding author): Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, 40200, Kırşehir, Türkiye

E mail: ahmetkoremezli401903@gmail.com (A. KÖREMEZLİ)

Ahmet KÖREMEZLİ  <https://orcid.org/0000-0002-5734-2867>

Ergin KARIPTAŞ  <https://orcid.org/0000-0001-6513-9589>

Belgin ERDEM  <https://orcid.org/0000-0001-9108-5561>

Gönderi: 17 Ağustos 2021

Kabul: 11 Kasım 2021

Yayınlanma: 01 Ocak 2022

Received: August 17, 2021

Accepted: November 11, 2021

Published: January 01, 2022

Cite as: Köremezli A, Kariptaş E, Erdem B. 2022. Defense system in bacterial microorganisms: “Biofilm”. BSJ Health Sci, 5(1): 153-161.

1. Giriş

Geçmişten günümüze kadar geçen süreçte, biyofilm terimi bilim insanları tarafından farklı biçimlerde tanımlanmıştır. Biyofilmin ilk keşfi, 17. yüzyılda Antonie van Leeuwenhoek'in canlı ve cansız cisimler üzerinde hayvanımsı yapıları gözlemlemesiyle başlamıştır. Antonie van Leeuwenhoek, kendi dişlerinden almış olduğu numuneleri, kendi düzenlemiş olduğu mikroskopunda incelemiş ve burada yaşayan mikroorganizmaların varlığını belirlemesiyle ortaya çıkmıştır (Milletli Sezgin, 2012). Biyofilm çalışmaları, daha çok 1970'li yıllarda şekillenmeye başlamıştır (Gebreyohannes ve ark., 2019). 1970'li yıllarda, Costerton akarsu yatakları içerisinde yaşam süren bakteri topluluklarının yaklaşık %99'unun yüzeylere tutunarak yaşam sürdürdüklerini ifade etmiştir. Costerton ve ark. 1978 yılında, yaptıkları çalışmalar sonucunda bu mikroorganizma topluluklarını açıklamak

için ilk defa “Biyofilm” tanımını kullanmışlardır. Yapılan çalışmalar, bu toplulukların buldukları ortamdan yararlandıklarını göstermiştir (Arar, 2015). Uygun şartlara sahip ortamlarda, bakteriyel mikroorganizmaların çoğunluğunun matriks yapıdaki biyofilm tabakasında çoğaldıkları ve biyofilm yapısına sahip bakterinin, biyofilm yapısına sahip olmayan yani planktonik formdaki bakteriye göre farklılıklarının olduğu tespit edilmiştir (Gebreyohannes ve ark., 2019). Costerton ve ark. (1999) biyofilmleri, bakteriyel mikroorganizmalar tarafından üretilen ve bakterilerin tüm yüzeylere tutunumunu sağlayan “Glikokaliks” de denilen polimer yapıda matriks bir yapı olarak tanımlamışlardır. Carpentier ve Cerf (1993) ise biyofilmleri; içerisinde bakterileri barındıran, yüzeylere yapışmış olarak bulunan polimerik matriks yapı olarak tanımlamışlardır. Biyofilmlerin, günümüzde en güncel tanımı ise şöyledir; mikroorganizmaların bir yüzeye,



arabirime veya birbirlerine tutunmalarını sağlayan ve gelişim oranları ile gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotip oluşturabilen kendi oluşturdukları polimer yapıdaki matriks içerisinde gömülmüş olarak yaşayan mikroorganizmalar topluluğudur (Donlan ve Costerton, 2002).

2. Biyofilmlerin Yapısı

Biyofilmler, yapısal olarak kendi ürettikleri matriks yapılarında yaşamlarını sürdürürler (Magana ve ark., 2018). Biyofilmlerin yaşamlarını sürdürdükleri matriks yapısının yoğunluğu ve yapısı ise matriks yapısının içerisinde bulunduğu mikroorganizma çeşitliliği ile doğru orantılıdır (Akyüz, 2019). Biyofilmlerin hem üretim hem içinde yaşam sürdüğü bu ekstrasellüler polimerik matriks yapı, biyofilmlerin spesifik bir özelliğidir. Jelimsi yapıda olan bu yapı içerisinde mikroorganizmalar, büyük ölçüde hareketsizdirler. Bu matriks yapı, bol sulu ve yüklü bir ortam olarak tarif edilmektedir (Chalabı, 2019). Biyofilm yapısı; %97 su, %2-5 mikroorganizma, %1-2 polisakkarid, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlardan oluşmaktadır. Biyofilmler, saf türde tek mikroorganizmadan oluşabileceği gibi heterojen yapıda pek çok türde mikroorganizmanın bir araya gelmesiyle de oluşabilirler. Heterojen yapıdaki biyofilmlerin, içerisinde aynı türden bakteriler bir araya toplanıp yaşam sürmektedir. Yani aynı türler biyofilm içerisinde küçük koloniler oluşturur. Bu oluşan farklı türlerin kolonileri arasında su kanalları bulunmaktadır. Bu koloniler ihtiyaç duydukları besin, oksijen difüzyonu gibi temel ihtiyaçlarını su kanalları aracılığı ile gerçekleştirirler (Akyüz, 2019). Özetle biyofilm yapısı şöyle açıklanabilir; bakteriyel mikroorganizmaların kendilerinin oluşturmuş oldukları matriks yapı içerisinde, bir türden bakteriyel koloniyi veya farklı türlerin oluşturduğu kolonileri barındıran, insan dolaşım sistemine benzer yapıda su kanalları sistemi ile yaşamları için gerekli gereksinimlerini karşılayan, bakteriyel organizmaların kendilerine özel oluşturduğu korunaklı yaşam alanıdır.

2.1. Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Durumları

Mikroorganizmalar, biyofilm oluşturduklarında planktonik formlarına göre daha üstün duruma geçerler. Çünkü biyofilmler, bakterileri zararlı olabilecek birçok çevresel etkenlerden (pH değişikliği, ısı, nem değişiklikleri immün sistem yanıtları, antibiyotik etkisi vb.) korurlar. Ayrıca biyofilm oluşturmuş mikroorganizmanın, fagosite edilmesi planktonik formdaki bir mikroorganizmaya göre oldukça zordur (Çiftci, 2005; Gebreyohannes ve ark., 2019).

2.2. Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma Nedenleri

Bu nedenler; savunma, adezyon ve kolonizasyon, yaşanabilir çevre geliştirmek ve topluluk oluşturmak olmak üzere 4 başlık altında açıklanabilir.

2.2.1. Savunma

Biyofilmler; vücut sıvıları, vücudun savunma elemanları ve dışarıdan gelebilecek fiziksel saldırılara karşı

dayanıklılıklarıdır. Serbest haldeki planktonik formda yaşam süren bakterilere karşı; besin maddelerinin eksikliği, pH değişimleri, temizlik ürünleri, antibiyotik etkisi ve fagositoz olayı gibi durumlarda biyofilm oluşturmuş bakteriler daha dayanıklılıklarıdır (Milletli Sezgin, 2012). Bu nedenle süregelen enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar, buldukları yerde çevreden gelebilecek strese cevap vermek için biyofilm oluştururlar (Costerton ve ark., 1999).

2.2.2. Adezyon ve kolonizasyon

Bakterilerin, bir ortamda yaşam sürebilmeleri ve üreyebilmeleri bakımından gerekli maddelerin ortamda bulunması şarttır. Ortam koşulları bakterilerin yaşamına elverişsiz de olabilir. Elverişsiz ortam koşullarına rağmen bakteriler yaşam sürebilmek için biyofilm oluştururlar (Akyüz, 2019). Canlı organizmalar, bakteriyel mikroorganizmaların yaşamlarını sürmeleri için seçtikleri birincil ortamlardır. (Arar, 2015). Seçtikleri konakçı üzerinde sabit kalmak istedikleri bölgede bakteriyel mikroorganizmalar kendi yüzey proteinleri ile konakçının ekstrasellüler matriks proteinlerine tutunurlar. (fibrinojen, fibronektin, vitronektin, elastin gibi). Bu bakteri, yüzey etkileşimleri yüzeylerin birbirine tutunmasında oldukça değerlidir (Whiteley ve ark., 2001; Akyüz, 2019).

2.2.3. Yaşanabilir çevre geliştirmek

Bakteriyel mikroorganizmaların; tutunup yaşamlarını sürdürdükleri çevrede glikoz kullanımları, hücre dışı polimerik madde(extracellular polymeric substance, EPS) üretimini ve biyofilm oluşumunu büyük miktarda artırmıştır. Bulduğu yüzeye tutunmuş bakteriyel mikroorganizmaların, biyofilm oluşturması için gerekli genetik hücresel iletiler ise karbon katabolitleri tarafından iletilir (O'Toole ve ark., 2000; Özkök, 2018).

2.2.4. Topluluk oluşturmak

Bakteriyel organizmaların, bulunduğu çevreye uyum sağlaması biyofilm yapımlarını da geliştirmekte ve yapımın süresini kısaltmaktadır. Biyofilm oluşturan bakterilerin çevresel tehditlere ve uyarılara tepkileri aynı olsa da fenotipik olarak birbirlerinden farklılık göstermeleri de toplu yaşamı göstermektedir (Akyüz, 2019). Yani biyofilm oluşturma yeteneğine sahip farklı bakteriyel mikroorganizmalar aynı ortamda bir topluluk oluşturarak ve birbirleriyle ihtiyaçları doğrultusunda yardımlaşarak yaşarlar.

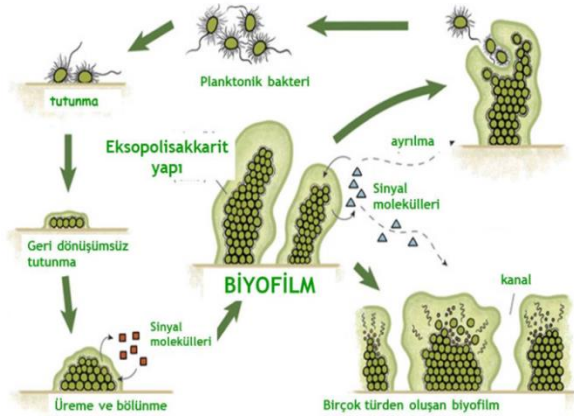
2.3. Bakteriyel Mikroorganizmalarda Biyofilm Oluşum Aşamaları

Bakteriyel mikroorganizmalarda, biyofilm oluşum aşamaları beş şekilde açıklanmaktadır (Şekil 1).

1. Dönüşümlü tutunma,
2. Dönüşümsüz tutunma,
3. Koloni oluşumu,
4. Olgun biyofilm oluşumu,
5. Biyofilm hücrelerinde kopma ve ayrılma.

Bakteriyel mikroorganizmaların, biyofilm oluşumunun başlaması uygun ortam koşullarıyla doğrudan ilişkilidir. Ortamdaki besin maddeleri, gerekli pH düzeyi ve uygun sıcaklık gibi çevre faktörlerinin mevcudiyetine göre

biyofilm oluşum ve gelişim aşamaları devam eder. Ancak uygun şartlar sağlanamazsa biyofilm oluşturan mikroorganizmalar yüzeylerden ayrılarak planktonik yaşamlarına geri dönerler. Biyofilm oluşum aşamalarından birincisi tutunma olayıdır. Ancak bundan önce mikroorganizmanın tutunacağı yüzey hazır hale gelmelidir. Tutunma öncesi su içerisindeki partiküller, elementler, organik ve inorganik maddeler yüzeylere yapışıp ince bir film tabaka meydana getirirler. Bununla birlikte biyofilm oluşumu için hem yüzey hazır hale gelmiş olur hem de mikroorganizmaların tutunumu kolaylaşmış olur (Çalı, 2017).



Şekil 1. Biyofilm oluşum aşamaları (İnci, 2016).

2.3.1. Dönüşümlü tutunma

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmaların bir yüzeye tutunmasıyla başlayan hareketli bir süreçtir. Tutunum sonucunda, biyofilm fenotipinin ortaya çıkmasına neden olan genetik işlemler dizisi başlar. Mikroorganizmaların, bir yüzeye tutunabilmeleri için yüzeye temas geçtiklerini anlamaları gerekir. Bakteriyel mikroorganizmalar bu uyarıları fenotipik farklılıklara dönüştürebilmek amacıyla, bir verici ve alıcıdan oluşan sisteme sahiptirler. Tutunmadan sonra biyofilm oluşumunun başlaması "Quorum Sensing" denilen diğer bir haberleşme sisteminden gelecek sinyallere bağlıdır. Bu sistem ile bakteriyel mikroorganizmalar, bulunduğu ortamdaki bakteri yoğunluğunu tespit ederler. Bulduğu yüzeye tutunan her bakteriyel mikroorganizma ortama sinyal moleküller göndererek adeta "ben buradayım" mesajı gönderir. Ortamda yüzeye tutunmuş bakterilerin, miktarı çoğaldıkça bölgesel sinyal yoğunluğu da artacaktır. Sinyal molekül trafiğindeki artış sonrası, biyofilm oluşumuna yönelik işlemler dizisi başlamış olur. Biyofilm içerisindeki bakteriler, hücre içi düşük molekül ağırlığına sahip haberciler aracılığı ile iletişim sağlayarak biyofilm gelişiminde etkin rol oynarlar (Milletli Sezgin, 2012). Bu aşamada EPS miktarı bakteriyel mikroorganizmalarda oldukça azdır. Biyofilm oluşumu tam gerçekleşmediğinden bağımsız hareket edebilirler (Akyüz, 2019). Bu aşamada, yüzeye bakteri arasında uzaktan kurulmuş zayıf elektriksel etkileşim olan Van der Waals bağları gibi etkileşimler söz

konusudur (Biçer, 2018).

2.3.2. Geri dönüşümsüz tutunma

Bakteriyel mikroorganizmaların, EPS oluşturarak yüzeylere kalıcı olarak bağlanmalarıdır (Stoodley ve ark., 2002). Bu aşamada bakteriyel mikroorganizmalar yüzeyle elektrostatik etkileşimler kurar. Bu etkileşimler yüzeyle daha yakın mesafede gerçekleştirdikleri hidrofobik etkileşimler, dipol-dipol etkileşimi, iyon-dipol etkileşimi, iyonik ve kovalent bağlar ve hidrojen bağları etkileşimleridir. Bu etkileşimlerle birlikte bakteriyel mikroorganizmalar, yüzeylere geri dönüşümsüz tutunur. Yani ilk aşamadaki zayıf etkileşimin bakteriyel mikroorganizmaların EPS oluşturmasıyla ve elektrostatik etkileşimlerle, kurulan bağlarla birlikte kalıcı, dönüşümsüz bir tutunmanın olduğu sonucuna varılabilir. Bakteriyel mikroorganizmalar EPS oluşumuyla dönüşümsüz tutunum sağlayabilirken bir diğer geri dönüşümsüz tutunma yolu ise organelleri olan "flagella(kamçı) ve pili(kıl)" sayesinde olur. Yüzeye yapışan bakteriler gelişim sağlarlar ve mikrokoloniler meydana getirirler (Çalı, 2017; Akyüz, 2019).

2.3.3. Koloni oluşumu

Yüzeylere kalıcı olarak tutunum sağlamış bakteriyel mikroorganizmalar, EPS üretirler, büyürler ve gelişim sağlarlar. EPS oluşturmuş bakteriyel mikroorganizmalar, planktonik formdaki bakterilerin mikrokoloniye katılımında EPS aracılığıyla kolaylıkla sağlarlar. Bir bakteri bir yüzeye koloni oluşturduktan sonra yani birincil koloni oluşumu gerçekleştikten sonra aynı yüzey üzerinde birçok farklı bakteri koloni oluşturabilir yani diğer bakterilerde ikincil koloniyi oluştururlar. Oluşan mikrokolonilere planktonik yaşam süren bakterilerin katılım sağlamasıyla birlikte koloni oluşumu meydana gelir. Ayrıca EPS çevresel stres faktörlerinden koloniyi korumasının yanı sıra yüzey ve alt birimleriyle de bağ oluşumunda kolaylık sağlar (Çalı, 2017; Akyüz, 2019).

2.3.4. Olgun biyofilm oluşumu

Gelişen ve çoğalan mikrokoloniler, büyük karmaşık farklı boyutlarda kuleler şeklinde mantarimsı yapıyı andıran bir şekil alırlar. Bu mantarimsı yapılar ortamdan metabolik atıkların uzaklaştırılması, besin maddesi, oksijen ihtiyacı gibi gereksinimlerini aralarında bulunan adeta dolaşım sistemi görevi yapan su kanalları sayesinde sağlarlar (Arar, 2015).

2.3.5. Biyofilm hücrelerinde kopma veya ayrılma

Biyofilm hücrelerinin koparak planktonik formlarındaki yaşamlarına geri dönüşümdür. Bu kopmanın nedeni iç ve dış faktörler olabilir yani dışta bir stres faktörü olabilir veya besin yetersizliği, enzimatik bozulma, yüzeye tutunumu sağlayan bağlayıcı proteinlerin açığa çıkışı gibi birçok neden olabilir. Biyofilmlerde kopma dış faktör etkili olabileceği gibi hücre veya birçok hücrenin ayrılmasıyla da olabilir (Gün ve Ekinci, 2009).

2.4. Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturarak Kazandıkları Avantajlar

Bakteriyel mikroorganizmaların herhangi bir yüzeyde sürekli kalabilmek için bir takım yöntemleri bulunmaktadır. Bakteri konakçı ile ilişkisinde bakterinin

yüzey proteinleri ile konakçının matriks proteinleri (fibrinojen, fibronektin, vitronektin, elastin gibi) arasında tutunum gerçekleşir. Bakteri ile yüzey proteinleri arasındaki bu etkileşim bakteriyel mikroorganizmaların tutunumunda oldukça önemlidir (Patti ve ark., 1994). Tutunum sonrası bakteriler büyür, çoğalır ve biyofilm oluşturma yeteneklerine göre biyofilm yapımına başlarlar. Bakteriyel mikroorganizmalar biyofilm oluşturarak birçok avantaj elde ederler (Post ve ark., 2004).

2.4.1. Çevresel faktörlere direnç

Bakteriyel mikroorganizmalar biyofilm oluşturarak çevresel tehditlerden (nem, ısı, pH değişimi gibi) korunurlar. Bu çevresel tehditler fiziksel güçler de olabilir (Kan akımı, tükürüğün yıkama gücü vb.) (Şahin, 2007).

2.4.2. Besinlerin depolanması ve atıkların uzaklaştırılması

Biyofilm oluşumunun temelinde yer alan mikrokolonilerin arasında tıpkı bir dolaşım sistemi görevi yapan aralarında besin, madde alışverişi ve metabolik artıkların uzaklaştırılması görevlerini yapan su kanalları sistemi bulunur (Şahin, 2007).

2.4.3. Fagositozdan ve antibiyotiklerden korunma

Bakteriyel mikroorganizmaların koloni oluşturarak ve ekzopolisakkarit matriks geliştirerek yaşam sürmeleri fagosite edilmelerini ve vücut savunma elemanlarının kendilerine ulaşmalarını zorlaştırır. Ayrıca ekzopolisakkarit matriks yapı bakteriyel mikroorganizmaları elektrostatik etkilerden koruyarak antibakteriyel ajanların bakterileri fagosite etmesine engel olur. Biyofilm yapısına sahip bakteriler planktonik formda yaşam süren bakteriyel mikroorganizmalara göre stres faktörlerine ve antibiyotiklere, fagosite özelliği olan hücrelere ve vücut savunma elemanlarına karşı daha dayanıklı yapıdadırlar (Donlan ve Costerton, 2002).

2.4.4. Metabolik iş birliği ve yeni genetik özelliklerin kazanılması

Bakteriyel mikroorganizmalar buldukları ortama uyum sağlamak amacıyla biyofilm üretirler. Bu organizmalar biyofilm ürettikten sonra seri şekilde planktonik yaşamlarına dönüş yaparlar. Bunlar bakterilerin buldukları ortamlara ekprese etmiş oldukları genler vasıtasıyla gerçekleştirmektedirler. Biyofilm oluşturan bakterilerin çevresel uyarılara aynı reaksiyonları geliştirmeleri ortak yaşam sürdürmelerinin önemli bir belirtisidir. Bakteriyel mikroorganizmalar aralarında gerçekleşen yatay (horizontal) gen aktarımları mikroorganizma topluluklarının genetik çeşitliliği açısından oldukça değerlidir (Davey ve O'toole, 2000). Bu olay çoklu ilaca dirençli bakteriyel mikroorganizmaların ortaya çıkışında oldukça önemlidir. Ayrıca biyofilm ortamında genetik materyal aktarımlarının kolaylıkla gerçekleşmesini sağlarlar (Şahin, 2007).

2.5. Biyofilm ve Hastalıklar

Biyofilmler uzun süredir endüstri alanında bir problem olarak bilinmekteydi. Son yıllarda kronik enfeksiyonlarda yabancı cisim enfeksiyonlarında biyofilm oluşumunun

görülmesiyle birlikte tıp alanındaki önemi ortaya çıkmıştır (Milletli Sezgin, 2012). Aynı tür bakteriyel mikroorganizmada bakterinin biyofilm oluşturmuş formu bakterinin planktonik yaşam süren formuna göre antibiyotiklere karşı daha dirençlidir (Sharma ve Ark., 2019). Bu durum antibiyotik tedavisinden sonra enfeksiyonun tekrarlaması olasılığını yükseltmekte dolayısıyla biyofilm oluşturmuş bakteriyel mikroorganizmaların canlı konakçıdan atımının zorluğunu göstermektedir (Milletli Sezgin, 2012). Biyofilm üretebilen mikroorganizmalar canlılarda akut veya kronik seyirli farklı enfeksiyonlara neden olabilmektedirler (Akyüz, 2019). Biyofilm oluşturan bakteriyel mikroorganizmalarla Tablo 1'de bahsedilen hastalıklar ve enfeksiyonlar arasındaki epidemik ilişki netlik kazanmıştır. Bu bağlamda bazı önemli mekanizmalar saptanmıştır.

2.5.1. Hücrelerin ayrılması veya hücre toplulukları

Olgun hücre gelişimi ve çevresel stres faktörlerinin çoğalması biyofilm içerisinde yaşam süren mikroorganizmayı kopartabilir Hatta biyofilm yapısının düzenleyicisi olarak görev yapan açıl homoserin lakton molekülü biyofilm oluşumunda rol oynadığı gibi bakteri tutunumunu bozarak bakterilerin ayrılmasını ve dolaşım sisteminde enfeksiyona yol açmasına neden olabilir (Milletli Sezgin, 2012).

2.5.2. Endotoksin üretimi

Biyofilm oluşturabilen gram-negatif bakteriler endotoksin üretim düzeyini çoğaltıp enfekte olmuş hasta bireyin immün yanıt düzeyini artırır. Oluşan immün yanıtın büyüklüğü enfeksiyonun kuvvetliliğini etkiler (Şahin 2007; Özkök, 2018).

2.5.3. Konağın immün yanıtına direnç

Biyofilm yapısına karşı konağın savunma elemanları (makrofajların fagositik etkileri, opsonik antikorlar vb.), yetersizdir. Biyofilm yapısı, konağın savunma elemanlarına karşı dirençlidir (Milletli Sezgin, 2012).

2.5.4. Bakterilere direnç aktarımı

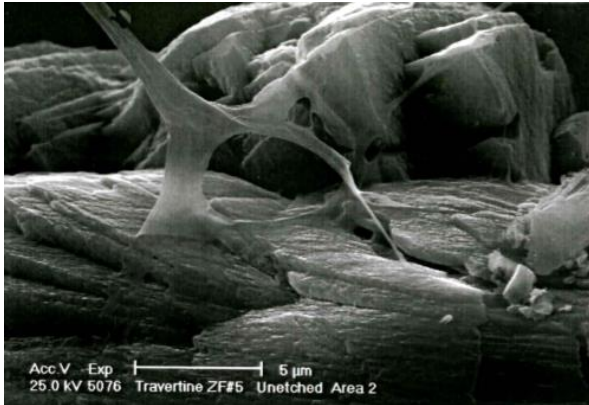
Bakteriyel mikroorganizmaların, sahip olduğu direnç genlerinin, plazmidlerin biyofilm yapılarına konjugasyonu ile farklı tür bakteriyel mikroorganizmalara geçebildiği açıklanmaktadır (Hausner ve Wuertz, 1999; Roberts ve ark., 1999).

2.6. EPS'nin Yapı ve Özellikleri

Bakteriyel mikroorganizmalar tarafından üretilen EPS, sonrasında ekstrasellüler ortama sentezi gerçekleşen polisakkarit yapıda oluşumdur (Er, 2018). Ekstrasellüler polimerik substans (Şekil 2), mikroorganizmaların bulunduğu ortamla iletişimde de görevli mikrobik kökenli organik yapıda polimerdir. Hücre dışı polimerik maddeler, yapısal proteinler, lipit, polisakkaritler ve ekstrasellüler DNA (eDNA)'dan oluşur. EPS, biyofilm oluşumunda hücreler arasında eşit dağılmamıştır. EPS'lerin biribirleriyle kaynaşması sonucu bakteriyel mikroorganizmaları içeren biyofilm matriksi meydana gelir (Martino, 2018).

Tablo 1. Hastalık, enfeksiyon ve etken mikroorganizmalar (Güvensen ve Ekmekcioğlu, 2016; Çalı, 2017)

Hastalık veya Enfeksiyon	Etken Mikroorganizma
Diş Çürüğü, Diş Enfeksiyonları	Asidojenik gram- pozitif koklar (Streptococcus sangu vb.)
Periodontitis	Gram- negatif anaerobik oral bakteriler(Protovella intermedia ,Actinobacillus spp.), Candida albicans
İnatçı Enfeksiyonlar	Tiplendirilemeyen Haemophilus İnfluenzae
Otitis Media	Gram-pozitif koklar örn: Stafilokoklar
Kas-İskelet Enfeksiyonları	Enterik bakteriler örn: Escherichia coli vb.
Safra yolu enfeksiyonları	Çeşitli bakteriyel ve fungal mikroorganizmalar genelde karışık olarak.
Kemik Enfeksiyonu(Osteomyelit)	Gram-negatif basiller
Nefrolitiazis	Çeşitli Anaerop ve Aerop bakteriler
Kronik Tonsillit	Pseudomonas aeruginosa ve Burkholderia cepacia
Kistik fibrozis pnömonisi	Pseudomonas pseudomallei
Meloidosis	E.coli ve diğer gram-negatif bakteriler
Bakteriyel Prostatit	Grup A streptokoklar
Nekrozitanfasiit	E.coli gb. Enterit Bakteriler
Gastrointestinal ve biliotraktusen enfeksiyonu	Koagülaz negatif stafilokoklar, Staphylococcus aureus, enterokoklar
İmplant Kaynaklı Enfeksiyonlar	P. aeruginosa, Staphylococcus epidermidis (gram pozitif koklar)
Yapay kalp kapakçığı (endokarditis, septisemi)	E.coli, P. aeruginosa, Enterococcus faecalis, Proteus mirabilis, Candida spp.
Kontakt lensler (keratitis)	S.epidermidis, Staphylococcus aureus, Gram- negatif bakteriler.
Üriner kateter enfeksiyonları (bakteriüri)	S.epidermidis ve diğerleri (koagülaz- negatif Staphylococcus spp.), Enterococcus spp.,Klebsiella pneumoniae
İntravasküler kateterler (septisemi, endokarditis)	S. epidermidis, C. Albicans
Merkezi venöz kateterler(septisemi)	Gram negatif basiller
Hickman kateterleri (kontaminasyon, borularda tıkanma)	S. epidermidis, S. aureus, Peptokoklar, Streptokoklar, Gram-negatif bakteriler, Propionibacterium acnes
ICU pneumonie	P. aeruginosa, E. coli, S. epidermidis, S. aureus, geniş bir bakteri ve fungus çeşitliliği
Kırık, çıkıklarda yerleştirilen platin vb. ortopedik aletler (septisemi)	Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Candida spp.
Endotrakeal tüpler (pnömoni)	S. aureus, P. aeruginosa, diğer Gram-negatif bakteriler
Yapay ses telleri	Stafilokoklar, E. coli, Peptostreptococcus spp., Clostridium perfringens
Periton diyaliz kateterleri	S.epidermidis, S.aureus
Meme implantları	
Penis protezleri	

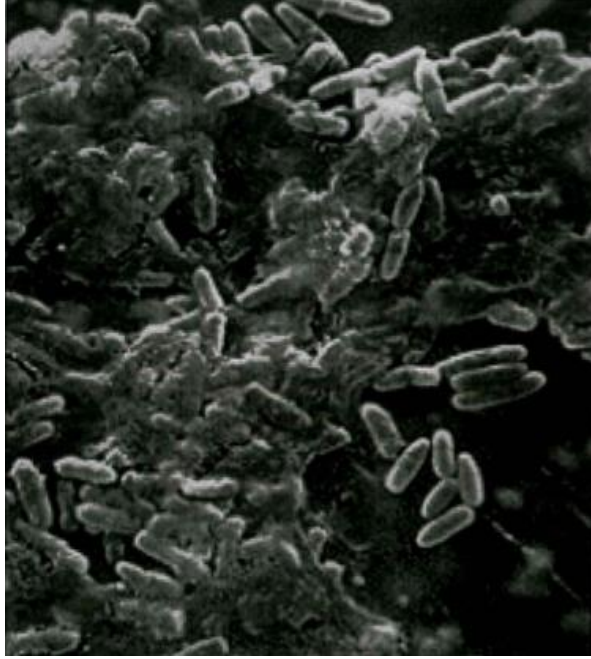


Şekil 2. EPS yapısı (Milletli Sezgin, 2012).

EPS miktarı; ortamdaki besin madde miktarı, biyofilm yaşı, mikroorganizma gelişimi için gerekli maddelerin varlığı, mikroorganizma türü ile doğru orantılıdır. Bu bağlamda EPS biyofilm oluşumunun %40 ile %95'ini

oluşturmaktadır (Mei ve ark., 2016). Ekstrasellüler polimerik maddelerin büyük çoğunluğu yineleyen oligosakkaritlerin bağlanmasıyla oluşmuş heteropolisakkarid yapıdayken bazı ekstrasellüler polimerik substanslar ise tek tip glikoz yapıda molekülden oluşmuş homopolisakkarid oluşumlardır. EPS'deki regülatör genlerin oluşumu kromozomal veya plazmit DNA kodlu olabilir. Karmaşık yapıda seyreden EPS oluşumu hem pozitif hem negatif düzenleyiciler tarafından regüle edilir. EPS oluşumu çevresel streslerden ve uyarılardan etkilenir. EPS bakteriyel mikroorganizmaları çevresel tehditlere ve oluşumlara karşı korur. Mikroorganizmaların yüzeylere yapışmasında görevlidir. Ortamı kuruluştan korur ve yabancı istenmeyen maddelerden arındırır. Yararlı ve ihtiyaç olan maddeleri de alır. Antibiyotik etkisine, fagositik ajanlara, toksik ajanlara karşı koruma görevi vardır. Bunların hepsi Şekil 3'deki gibi EPS oluşturmuş bakteriyel mikroorganizmaya tutunum sağladığı yüzeye

aidiyet duygusunu geliştirir ve fizyolojik olarak gelişimini sürdürmesinin sağlar (Arar, 2015).



Şekil 3. EPS içinde bakteriyel oluşum (Milletli Sezgin, 2012).

2.7. Bakteriyel Mikroorganizmaların Çoğunluğu Algılama ve Haberleşme Sistemleri (Quorum Sensing: QS)

Gelişmiş canlı organizmalarda, insan vücudunda hücrelerin yanıtları sinyal molekülleri aracılığı ile gerçekleşmektedir. Tıpkı gelişmiş organizmalardaki gibi mikroorganizmalarda yaşam aktivitelerini gerçekleştirirken sinyaller aracılığı ile gerçekleştirirler. QS, yada "çoğunluğu algılama" olarak da bilinen bu sistem ile mikroorganizmalar oluşturdukları sinyallerin miktarını algılayabilmekte ve yaşam sürdürdüğü bölgedeki başka mikroorganizmaların da yoğunluğunu anlayabilmektedir. Bu sinyal molekülleri sayesinde toplu olarak gerçekleştirmeleri gereken bir olayı bir hücreden diğerine aktarabilmektedirler. QS sistemi sinyaller üretebilen ve 'oto-indükleyici' moleküllerden meydana gelen sistemdir (Gülgör ve Korukoğlu, 2014; Yeniçeri, 2018). QS sistemi ile bakteriyel mikroorganizmalar biyofilm oluşum sürecinin haberleşme bölümünü yönetirler (Açıkalm, 2017).

Bakteriyel mikroorganizmalar buldukları ortama uyumunu gerçekleştirdikten sonra ortamdaki gelen uyarılarına anlar ve cevap verir. Ortamdaki değişikliklere göre kendi metabolik faaliyetlerindeki o değişimlere uygun hale getirir (Donabedian, 2003). Ortama gelen tüm bakteriyel mikroorganizmalar 'ben buradayım' mesajı veren sinyaller gönderirler. Ortamdaki bakteriyel mikroorganizma sayısı arttıkça sinyal yoğunluğuda artacaktır (Efe, 2017). QS sistemi sayesinde sinyaller aracılığı ile bakteriyel mikroorganizmalar belli bölgede topluluk oluşturup biyofilm oluşumunun temel yapısını meydana getirirler (Lynch ve Robertson, 2008). QS sinyali

molekülleri bakteriyel mikroorganizmaların oluşturduğu toplulukta hastalık yapıcı etkenlerin oluşumunun düzenlenmesinde de görev alırlar (Çalı, 2017). QS sisteminin, bakteriyel mikroorganizmalarda aynı türler arası ve farklı türler arası olmak üzere iki farklı "oto-indükleyici" formu vardır. Gr(-) bakterilerde türe göre farklılık gösterir ve oto-indükleyici sinyal molekülleri AHL(N-açıl homoserin lakton) ve oligopeptidlerdir. Gr(+) bakterilerde genellikle oligopeptidler bu görevi üstlenir. Hem Gr(-) hem Gr(+) bakteriyel mikroorganizmalarda ise AI-2 (otoindükleyici-2) bu görevi yerine getirir (Efe, 2017).

QS sisteminin sinyal moleküllerinin, mikroorganizmalarda; gen ekspresyonlarının düzenlenmesi, biyofilm oluşumu, bakteriyel mikroorganizmaların hastalık etkenlerinin üretiminin kontrolü, antibiyotiklere direnç gelişimi, ortam adaptasyonu, yeterli çoğunluğa ulaşılabilme gibi birçok görevi vardır (Yeniçeri, 2018).

QS sisteminin özü, mikrobik mikroorganizmaların çoğunluğu algılama sisteminin nasıl çalıştığını anlayabilmektir. Bu sistemin çalışmasının baskılanması veya bozunumu ile birlikte mikrobik mikroorganizmaların kontrolü sağlanabilir. Bu bağlamda mikroorganizma hücrelerinin haberleşme sinyallerinin baskılanmasıyla ilgili sistem ise "Quorum Quenching" (QQ) olarak isimlendirilmektedir (Ulrich, 2004; Song ve ark, 2014).

2.8. Biyofilmlerin Antimikrobik Ajanlara Karşı Direnci

Bakteriyel mikroorganizmalar biyofilm oluşturduklarında antibiyotiklere, biyositlere, dezenfektanlara, antimikrobik ajanlara ve çevresel her türlü stres faktörüne karşı planktonik formda yaşam süren bakteriyel mikroorganizmalara karşı anlamlı bir farkla daha dirençli olmaktadır. Biyofilmin matriks yapısının difüzyonu güçleştirilmesi, antimikrobik ajanların biyofilm katmanlarının tamamına ulaşmasına ve derinlere inmesine engel olmuştur (Milletli Sezgin, 2012; Özkök, 2018). Böylelikle tam penetrasyon sağlanamaz ve antimikrobik ajanların etkinliği azaltılmış olup biyofilm kendini korumuş olur (López ve Soto, 2019).

Biyofilm içerisinde yaşam süren bakteriyel mikroorganizmaların planktonik formlarına göre daha yavaş gelişim gösterdiği anlaşılmış olup yani bir kısım mikroorganizma besinden yoksun yaşam sürmektedir. Bu besinden yoksun yaşam süren mikroorganizmalar, antimikrobiyal ajanların etkisine duysuz olup yaşamlarına devam etmektedirler (Milletli Sezgin, 2012; Özkök, 2018).

3. Biyofilm Analiz Teknikleri

Son yıllarda enfeksiyon gelişiminde biyofilmlere rastlanmanın artış göstermesiyle birlikte; biyofilm oluşumunun önlenmesi, biyofilm direnç mekanizmasının açıklanması, biyofilm gelişimine uygun tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için biyofilm çalışmaları artış ve gelişim göstermeye başlamıştır. Teknolojik

gelişimlerin de getirdiği kolaylıkla birlikte farklı biyofilm tespit metodlarından yararlanılmaktadır (Temel ve Erač, 2018).

3.1. Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi

Biyofilm üretim özelliğine bakılacak mikroorganizma içinde belirli miktarda sükröz, beyin kalp infüzyon buyyonu, Kongo kırmızısı ve agar bulunan besiyerine tek koloni ekimi gerçekleştirilir. Genel olarak 37°C de 24 saatlik kuluçka süresi sonucunda kolonilerdeki renk değişiklikleri ölçü alınarak sonuca varılır. Siyah koyu kırmızı renkte koloni oluşturan suşlar biyofilm üretimi açısından pozitif, pembe kırmızı renkli koloni oluşturan suşlar ise negatif suşlar olarak kabul görürler (Yaşar ve ark., 2011; Atshan ve ark., 2012; Temel ve Erač, 2018).

3.2. Standart Cam Tüp Yöntemi

İçinde TSB (Triptik Soy Buyyon) besiyeri bulunan cam tüplere mikroorganizma ekimi sonrasında tüpler 24 ile 48 saat aralığında kuluçkaya bırakılır. İnkübasyon sonucunda tüpler boşaltılıp tüplere metilen mavisi eklenir. Bir süre sonra tüpler tekrar boşaltılıp tüplerin iç yüzeylerinin kontrolü sağlandığında eğer boyalı bir oluşum varsa mikroorganizma biyofilm üretimi açısından olumlu kabul edilir (Temel ve Erač, 2018).

3.3. Modifiye Tüp Aderans Yöntemi (Christensen Yöntemi)

İçerisinde glikozda bulunduran triptik soy buyyonlu besiyeri bulunan tüplere mikroorganizmaların ekimi yapılır ve 24 ile 48 saat aralığında kuluçkaya bırakılır. Sonra tüplerin içerişi boşaltılarak PBS (fosfatla tamponlanmış salin) ile yıkanır. Tüplere eşit miktarlarda "trypan blue" safranin veya kristal viyole eklenip beklenir. Belirli bir süre geçtiğinde tüpler tekrar boşaltılır. Daha sonra kağıt üstünde ters pozisyonda kurumaya bırakılır. Tüplerin iç yüzeyinde renkli bir oluşum varsa biyofilm oluşumu olumlu demektir. Renk koyuluğu mikroorganizmanın biyofilm oluşturma kapasitesinin derecesini belli etmektedir (Christensen ve ark., 1985; Temel ve Erač, 2018).

3.4. Mikroplak Yöntemi

Mikroplak yöntemi biyofilm gelişiminin belirlenmesi çalışmalarında oldukça sık tercih edilen ve daha belirgin sonuçların alınabildiği bir yoldur. Daha derine inerek spektrofotometrik mikroplak yöntemi diğer yöntemle göre daha duyarlı, özgül daha nicel sonuçlar vermektedir. Bu yöntemde daha çok 96 kuyucuklu mikroplaklardan yararlanılır. Belirli hacimde (%1-3 glikoz içeren beyin kalp infüzyon buyyon veya TSB) içeren mikroplak kuyucuklara mikroorganizma ekimi gerçekleştirilir ve uygun koşullarda kuluçkaya bırakılır. Sonrasında mikroplaklar ters çevrilir ve kuyucuklar boşaltılır. Kuyucuklar fosfatla tamponlanmış salin (PBS) veya türevi uygun bir sıvı ile yıkadıktan sonra her kuyuya eşit olarak boya enjekte edilir. Boya için safranin veya trypanblue tercih edilebilir ancak en çok kristal viyole tercih edilmektedir. Kristal viyole kuyucuklara eklenir ve biyofilm içerisine girmesi için biraz beklenir. Süre sonunda kuyucuklar boşaltılıp yıkanır. Bu bağlamda kristal viyole biyofilm üretimi yapan mikroorganizmaları

boyayacak geriye kalanlar yıkama işlemiyle ortamdaki uzaklaştırılacaktır. Yüzeğe tutunum sağlamış mikroorganizmalara zarar vermemek adına yıkama titizlikle ve yavaş yapılmalıdır. Bu işlemden sonra oda sıcaklığında yaklaşık 30 dakika kurutulduktan sonra mikroplaklar etanol, asetik asit, aseton gibi maddelerle etkileşime sokulur. Bu durumda spektrofotometrik ölçüm yapan mikroplak okuyucu aletle belirli dalga boyu hesabı yapılarak her bir kuyucuk adına optik dansite miktarı belirlenir. Alet tarafından kaydedilen bu miktar kontrol kuyucuklarının ortalama optik dansite (yoğunluk) miktarıyla karşılaştırılıp biyofilm oluşumunun derecesi ve miktarı anlaşılabilir (Stepanović ve ark., 2007; Ozturk ve ark., 2014; Temel ve Erač, 2018).

4. Mikrobiyota Kültür Yöntemleri

Mikroorganizma miktarının belirlenmesi için kullanılır. Özünde besiyerlerinde çoğaltılan kültürlerin yüzeylerde biyofilm üretmesi ve yüzeylere tutunum sağlayan mikroorganizmaların miktarının koloni oluşturma birimi (CFU) olarak belirtilmesi vardır. Bu ölçümler biyofilmlerde üreyen mikroorganizma miktarının belirlenmesinde fayda sağlar. Biyofilmlerin incelenmesinde çeşitli yöntemler uygulanmaktadır (Kishen ve Haapasalo, 2010).

4.1. Kolorimetrik Yöntemler

Bu yöntem biyofilm oluşturabilen mikroorganizmaların boyayı penetrasyonunu esas alır. Bu yöntemle mikroorganizmalar spesifik boyalarla boyanıp alkol etanol gibi maddelerle yüzey boyadan arındırılıp spektrofotometre aletiyle ölçüm yapıp boyanın yayılımının miktarına bakılıp biyofilm oluşumundaki mikroorganizma miktarı belirlenebilir (Kishen ve Haapasalo, 2010).

4.2. Mikroskopik Yöntemler

Farklı mikroskopların mikroorganizma ile ortam etkileşimini biyofilm oluşum süreci, biyofilm yapısı, biçimi, dağılışı ve canlılığının anlaşılması için kullanılır (Kishen ve Haapasalo, 2010).

4.2.1. Işık mikroskobu

Işık mikroskobuyla biyofilm yapısının ilk defa görüntülediği bilinmektedir. Hem laboratuvar ortamında hem canlılarda biyofilm gelişiminin incelenmesi için kullanılmaktadır. Ucuz olması, basit kullanıma sahip olması ve hızlı, doğru sonuçlar vermesi ışık mikroskobunun rahatlıkla kullanılabilir olmasını göstermektedir. Mikroorganizma araştırmalarında kullanılan bir yöntemdir (Mohammadi ve ark., 2013).

4.2.2. Taramalı elektron mikroskobu

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) bulunduğundan beri biyofilm araştırmalarında geniş kullanım alanına sahip bir metodur. Biyofilm oluşumları ve yapılarının incelenmesinde kullanılmakla birlikte yüksek çözünürlük özelliği ile kazançlı kılısada numunelerin hazır hale geliş süreci uzun sürdüğünden SEM'i dezavantajlı duruma getirmektedir (Kishen ve Haapasalo, 2010; Mohammadi ve ark., 2013).

4.2.3. Transmisyon elektron mikroskopu

Numune oluşumu zor uzun uğraşlar gerektiren bir metot olmasıyla birlikte görüntü kalitesi ve netliği sayesinde biyofilm araştırmalarında bu yöntemle başvurulmaktadır (Mohammadi ve ark., 2013).

4.2.4. Epifloresans mikroskopu

Bu mikroskop ile biyofilm yapısındaki mikroorganizmaların ve biyofilmlerdeki hücrelerin dağılımı ile pH ve kimyasal madde incelemesi yapılabilmektedir. Gelişmiş biyofilm yapısını görüntülemek için floresan boyanarak bu mikroskop ile görüntülenebilir (Kishen ve Haapasalo, 2010).

4.2.5. Lazer taramalı konfokal mikroskop

Bu mikroskop daha çok laboratuvar ortamında biyofilm çalışmalarında yoğun bir şekilde kullanılır. Diğer metotlardaki belli başlı olumsuzluklara bakıldığında bu metotla aksine daha kötü durumlarda bile biyofilm çalışılabilir. Bu metotla biyofilmlerin içerisinde mikrokolonilerin incelenmesi, mikroorganizmaların dağılımının incelenmesi, üç boyutlu yapı ve canlılık incelenebilmektedir (Akyüz, 2019).

4.3. Moleküler Yöntemler

Biyofilm oluşumu gerçekleştirebilen mikroorganizmaların genetik araştırmalarının ve incelemelerinin yapılması için kullanılan bir yöntemdir. Biyofilm yapısına sahip mikroorganizmaların faaliyetlerini incelemeye çoğunlukla başvuru bir metottur. Bu bağlamda enzyme linked immuno sorbent assay (ELISA) değerlendirmesi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) bu metotlardan bazılarıdır (Kishen ve Haapasalo, 2010).

5. Sonuç ve Öneriler

Uzun yıllardır biyofilmler endüstri alanında büyük bir sorun teşkil etmekteyken günümüzde tıp alanında da önemli bir sorun olduğu ortaya çıkmıştır. Bakteriyel mikroorganizmalar tıpkı insan vücut savunma elemanlarına benzer şekilde biyofilm oluşumuyla kendilerini savunmaktadırlar. Bu nedenle biyofilmler antibiyotiklere, dezenfektanlara, temizlik malzemelerine dirençlidirler. E. coli gibi, P. aeruginosa gibi biyofilm oluşturabilen ve geliştirdikleri enfeksiyonlardan sonra kistik fibrozis pnömonisi, bakteriyel prostatit, bakteriüri gibi önemli hastalıklara neden olan farklı mikroorganizmalar mevcuttur. Biyofilm içerisindeki mikroorganizmalar sinyal molekülleri sayesinde haberleşme sağlayıp yaşamsal faaliyetleri için gerekli tüm ihtiyaçlarını da biyofilm oluşumu içerisinde dolaşım sistemi görevi gören su kanalları sistemi sayesinde sağlamaktadırlar. Biyofilmler modifiye tüp aderans yöntemi, mikroplak yöntemi gibi farklı yöntemlerle analiz edilip, ışık mikroskopu, taramalı elektron mikroskopu gibi farklı kültür yöntemleriyle incelenebilmektedirler. QS sistemi baskılandığında ya da EPS oluşumunu tamamen parçalayacak bir ajanın varlığında, düşük penetrasyon gösteren antimikrobiyal ajanların etkinliğinin artacağı ve biyofilm oluşumunun engellenebileceği öngörülmektedir.

Katkı Oranı Beyanı

Tüm yazarlar makalenin tasarımına, çalışmasına, analizine ortak katkıda bulunmuş olup, makalenin son halini incelediğini ve onayladığını beyan eder.

Çatışma Beyanı

Yazarlar bu çalışmada hiçbir çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmektedirler.

Kaynaklar

- Açıkalm D. 2017. Salmonella Infantis suşlarının oluşturduğu biyofilm üzerine çevresel ve genetik faktörlerin etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, ss. 58.
- Akyüz A. 2019. Bazı mikroorganizmaların biyofilm oluşturma yeteneği üzerine dezenfektanların etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Tekirdağ, ss. 98.
- Arar D. 2015. Bakteriyel biyofilm oluşumu. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli, ss. 98.
- Atshan SS, Shamsudin MN, Lung LT, Sekawi Z, Ghaznavi-Rad E, Pei CP. 2012. Comparative characterisation of genotypically different clones of MRSA in the production of biofilms. J Biomed Biotechnol, 417247: 1-7.
- Biçer M. 2018. Bakteriyel biyofilm oluşumunu engelleyecek moleküllerin sentezi ve anti-biyofilm etkinliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Çorum, ss. 61.
- Carpentier B, Cerf O. 1993. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. J Appl Bacteriol, 75(6): 499-511.
- Chalabı AH. 2019. Kortikosteroidlerin candida albicans biyofilm yapımına etkisinin in vitro incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir, ss. 54.
- Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, Beachey EH. 1985. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. J Clin Microbiol, 22 (6): 996-1006.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Sci, 284(5418): 1318-1322.
- Çalı A. 2017. Hastanede yatan hastalardan izole edilen mikroorganizmaların biyofilm formasyon aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Sivas, ss. 102.
- Çiftçi Z. 2005. Kronik tonsillitte biyofilmin rolü. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, KBB Kliniği, İstanbul, ss. 69.
- Davey ME, O'toole GA. 2000. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. Microbiol Mol Biol Rev, 64(4): 847-867.
- Donabedian H. 2003. Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. J Infect, 46(4): 207-214.
- Donlan RM, Costerton JW. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev, 15(2): 167-193.
- Efe F. 2017. Lactobacillus cinsi bakterilerde biosümfektan üretimi ve biosümfektanın staphylococcus aureus bakterilerinin oluşturduğu biyofilmi engellemesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, ss. 118.

- Er F. 2018. E. Coli' de porin proteinlerinin biyofilm oluşumunda rollerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Bilecik, ss. 169.
- Gebreyohannes G, Nyerere A, Bii C, Sbhutu BD. 2019. Challenges of intervention, treatment, and antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms. *Helyon*, 5(8): 1-7.
- Gülgör G, Korukluoğlu M. 2014. Mikroorganizmalar arasında çoğunluk algılanması (Quorum Sensing). *Uludağ Üniv Zir Fak Derg*, 28(2): 83-92.
- Gün İ, Ekinci F. 2009. Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda*, 34(3): 165-173.
- Güvensen CN, Ekmekcioglu S. 2016. Biyofilm kontrolünde biyositler ve etki tarzları. *Elektron Mikrobiyol Derg*, 14(1): 1-19.
- Hausner M, Wuertz S. 1999. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis. *Appl Environ Microbiol*, 65(8): 3710-3713.
- Karabağ SS. 2010. Santral venöz kateterlerde kullanılan materyaller ile kandidaların biyofilm üretimi arasındaki ilişki. *Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim dalı*, ss. 76.
- Kishen A, Haapasalo M. 2010. Biofilm models and methods of biofilm assessment. *Endodont Topics*, 22(1): 58-78.
- López Y, Soto MS. 2019. The usefulness of microalgae compounds for preventing biofilm infections. *Antibiotics*, 9(1): 1-16.
- Lynch AS, Robertson GT. 2008. Bacterial and fungal biofilm infections. *Annu Rev Med*, 59: 415-428.
- Magana M, Sereti C, Ioannidis A, Mitchell CA, Ball AR, Magiorkinis E, Chatzipanagiotou S, Hamblin MR, Hadjifrangiskou M, Tegos GP. 2018. Options and limitations in clinical investigation of bacterial biofilms. *Clin Microbiol Rev*, 31(3): 1-49.
- Martino DP. 2018. Polymeric Substances, a key element in understanding biofilm phenotype. *AIMS Microbiol*, 4(2): 274-288.
- Mei P, Liang Z, Lin C, Yunpeng Q, Jun W. 2016. Detection techniques for extracellular polymeric substances in biofilms: A review. *Bio Resour*, 11(3): 8092-8115.
- Milletli SF. 2012. *Acinetobacter Baumannii* izolatlarında biyofilm üretimi ve kolistin duyarlılıklarının biyofilm formasyonunda araştırılması. *Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Samsun*, ss. 95.
- Mohammadi Z, Palazzi F, Giardino L, Shalavi S. 2013. Microbial biofilms in endodontic infections: an update review. *Biomed J*, 36(2): 59-70.
- O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. 2000. Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol*, 54: 49-79.
- Ozturk I, Yurtman AN, Erac B, Gul-Yurtsever S, Ermertcan S, Hosgor-Limoncu M. 2014. In vitro effect of moxifloxacin and rifampicin on biofilm formation by clinical MRSA isolates. *Bratisl Lek Listy*, 115(8): 483-486.
- Özkök Z. 2018. Kandan izole edilen enterococcus türlerinde biyofilm oluşumunun fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Samsun, ss. 68.
- Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Höök M. 1994. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol*, 48: 585-617.
- Post JC, Stoodley P, Hall-Stoodley L, Ehrlich GD. 2004. The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 12(3): 185-190.
- İnci R. 2016. Diş çürüğü: etkili faktörler. <http://oralmikrobiyoloji.blogspot.com/2016/12/> (erişim tarihi: 14 Ağustos 2021).
- Roberts AP, Pratten J, Wilson M, Mullany P. 1999. Transfer of a conjugative transposon, Tn5397 in a model oral biofilm. *FEMS Microbiol Lett*, 177(1): 63-66.
- Sharma D, Misba L, Khan UA. 2019. Antibiotics Versus Biofilm: an emerging battle ground in microbial communities. *Antimicrob Resist Infect Control*, 8(76): 1-10.
- Song XN, Chneg YY, Li WW, Li BB, Sheng GP, Fang CY, Wang YK, Li XY, Yu HQ. 2014. Quorum quenching is responsible for the underestimated quorum sensing effects in biological wastewater treatment reactors. *Bioresource Technol*, 171: 472-476.
- Stepanović S, Vuković D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukić S, Cirković I, Ruzicka F. 2007. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8): 891-899.
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol*, 56: 187-209.
- Şahin R. 2007. *Staphylococcus Aureus* suşlarında biyofilm üretimi, biyofilm pozitif ve negatif suşların genotipik ve fenotipik karakterlerinin karşılaştırılması. *Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Denizli*, ss. 94.
- Temel A, Eraç B. 2018. Bakteriye biyofilmler: Saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. *TMCD*, 48(1): 1-13.
- Ulrich RL. 2004. Quorum quenching: enzymatic disruption of N-acylhomoserine lactone-mediated bacterial communication in *Burkholderia thailandensis*. *Appl Environ Microbiol*, 70(10): 6173-6180.
- Whiteley M, Bangera MG, Bumgarner RE, Parsek MR, Teitzel GM, Lory S, Greenberg EP. 2001. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature*, 413(6858): 860-864.
- Yaşar KK, Aybar YB, Pehlivanoglu F, Şengöz G. 2011. Staflokok suşlarında slaym faktör pozitifliği, metisilin ve antibiyotik direnci. *ANKEM Derg*, 25(2): 89-93.
- Yeniçeri M. 2018. Bakterilerde quorum sensing ve antimikrobiyal dirence olan etkisi. *CUSBED*, 3(1): 41-45.