

## Bakteriyel Biyofilmler

Özge ALTINOK<sup>1</sup>, Öznur GÜRPINAR<sup>2</sup>, Özgen ESER<sup>3</sup>

### Öz

Biyofilmin varlığından ilk olarak 17. yy da bahsedilmiş ancak; 1978 yılına kadar biyofilm çalışmalarına yeterince önem verilmemiştir. 1978 yılında Costerton ve arkadaşları mikroorganizmaların biyofilm oluşturarak canlı ve cansız yüzeyler üzerine tutunarak bu durumdan ekolojik yarar sağladıklarını mekanizmalarla açıklamışlardır. Biyofilmlerin yapı taşı hücre dışı polimerik maddeler (Extracellular Polymeric Substances, EPS)'dir. EPS, biyofilm mikroorganizmalarının gömülü olduğu mikrobiyal kökenli biyopolimerlerdir. EPS, polisakkaritlere ek olarak, çok çeşitli proteinler, glikoproteinler, glikolipitler ve bazı durumlarda şaşırtıcı miktarda hücre dışı DNA (e-DNA) içerir. Çoğunluğu algılama (QS), Fuqua ve arkadaşları tarafından 1994 yılında tanımlanan hücre-hücre iletişiminin bir örneğidir ve otoindüktörler olarak da adlandırılan küçük, difüze olan sinyal moleküllerinin üretilmesi, salgılanması ve tepkimesine bağlıdır. Biyofilm içinde bakteri konsantrasyonunda eşik değere ulaşıldığında, bakteri gen ekspresyonunu değiştirir ve ihtiyacı olan genlerin, enzim ve toksin gibi virülans faktörleri, transkripsiyonunu sağlar. Biyofilm oluşuktan sonra, bakteri yoğunluğuna ve oluşan EPS matriksin gücüne bağlı olarak, genetik değişimin artması, antibiyotiklerin yapısının bozulması ve dirençli klonların seçilmesi gibi mekanizmalarla güçlü biyofilm direnci gelişir. Biyofilm enfeksiyonlarını önlemede iki yaklaşım söz konusudur: *i)* biyofilm oluşumunu engellemek *ii)* oluşmuş biyofilmi uzaklaştırmak. Bu derleme yazıda, biyofilmin oluşumu ve biyofilmin önlenmesinde rol oynayan bileşikler tartışılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilm, Çoğunluğu algılama sistemi, Biyofilm inhibisyonu

### Bacterial Biofilms

#### Abstract

The presence of biofilm was first mentioned in the 17th century, but until 1978 enough attention was not given to biofilm studies. In 1978, Costerton and his colleagues introduced a theory of biofilm and explained in terms of mechanisms that microorganisms cling to living and non-living materials and make ecological benefit from it. Extracellular polymeric material (EPS) is the key component of biofilms. EPS is a microbial biopolymer in which biofilm microorganisms are embedded. EPS contains, in addition to polysaccharides, a wide variety of proteins, glycoproteins, glycolipids and in some cases, surprising amounts of extracellular DNA (e-DNA). Quorum Sensing (QS) is an example of cell-cell communication as described by Fuqua et al. in 1994 and is dependent on the production, secretion and response of small, diffuse signaling molecules, also called autoinducers. When the threshold value is reached in the bacterial concentration in the biofilm, the bacterial gene expression is altered and virulence factors such as genes, enzymes and toxins are required to transcribe. After biofilm formation, strong biofilm resistance develops, depending on the bacterial density and the power of the resulting EPS matrix, such as increased genetic modification, deterioration of antibiotic structure, and selection of resistant clones. There are two approaches to the prevention of biofilm infections: *i)* to inhibit biofilm formation *ii)* to remove formed biofilm. In this review article, formation of biofilm and compounds which play role in prevention of biofilm were discussed.

**Keywords:** Biofilm, Quorum sensing, Biofilm inhibition

<sup>1</sup> Özge ALTINOK, İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

<sup>2</sup> Öznur GÜRPINAR, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

<sup>3</sup> Dr. Özgen ESER, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.

Yazışma Adresi: İstanbul Aydın Üniversitesi, Beşyol Mahallesi İnönü Cad. No:38, 34295 Küçükçekmece/İstanbul  
444 1 428 / 52752, e-posta: oaltinokozgun@aydin.edu.tr

Geliş Tarihi: 17 Mayıs 2018; Kabul Tarihi: 22 Haziran 2018

## Giriş

Biyofilm varlığından, ilk kez mikrobiyolojinin babası olarak bilinen Leeuwenhoek 17. yüzyılda bahsetmiş olmasına karşılık, 1978 yılına kadar önemi gerçek anlamda anlaşılamamıştır. 1978 yılında Costerton ve arkadaşları biyofilm ile ilgili bir teori ortaya koymuş ve mikroorganizmaların canlı ve cansız maddeler üzerine tutunarak bu durumdan ekolojik yarar sağladıklarını mekanizmalarla açıklamışlardır (1). Biyofilmin çok ince ekstraselüler polimer fibril yapıda olduğunu ve bakterinin yüzeye tutunmasında etkili olduğunu bildirilmesiyle biyofilm üzerine olan çalışmalar hızlanmıştır (2). Bu gelişmeler, araştırmalardaki ilginin hücre duvarı yapılarından uzaklaşarak, planktonik bakterinin çevresi ile biyofilm ve mikrokolonilerin arayüzünü oluşturan ekstraselüler glikokaliks yapıları arasındaki ilişkiye odaklanmasına neden olmuştur. Biyofilm içindeki bakteri besleyici bir katman içerisinde olup planktonik formundan farklı bir fenotip sergiler (1). Günümüzde derin yeraltı suları ve okyanuslar hariç, tüm ekosistemde biyofilm varlığından söz edilmektedir (3). Uzun yıllar boyunca endüstriyel bir sorun gözüyle bakılan biyofilm oluşumu, günümüzde yabancı cisim enfeksiyonları başta olmak üzere birçok sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda önemli yer tutmaktadır. Birçok bakteri türünde yaygın olan biyofilm üretimi, patojenlerin antimikrobiyal ilaçlardan ve konağın immün yanıtından kaçmasına olanak sağlamak suretiyle enfeksiyonların patogenezine katkıda bulunmaktadır (4). Biyofilm ile birlikte bakterilerin birbirleriyle iletişim kurmalarını ve üretilen sinyal molekülleri ile hedef genlerin ekspresyonunu sağlayan çoğunluğu algılama sistemi "Quorum sensing (QS)" de önem kazanmıştır. Biyofilmler, dokular ve implante cihazlar üzerinde oluşarak kistik fibrozis, otitis media, pnömoni, osteomyelit ve yara enfeksiyonu gibi çeşitli hastalıklara aracılık etmektedir. Biyofilm oluşumunun mikrobiyal enfeksiyonların %80'iyle ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (5).

## Biyofilmin Tanımı

Mikroorganizmaların değişik çevre şartlarında hayatlarını sürdürebilmeleri yüzey ilişkili biyofilm oluşturma yetenekleri patojenitede en önemli rolü ortaya koymaktadır. Biyofilmlerin yapı taşı hücre

dışı polimerik maddeler (EPS)'dir. EPS, biyofilm mikroorganizmalarının gömülü olduğu mikrobiyal kökenli biyopolimerlerdir (6).

Biyofilmler, doğal ve endüstriyel sucul ortamlarda, dokularda ve tıbbi aletlerde ve araçlarda gelişebilmektedir (7). Bakteri hücreleri, biyofilm yapısı içinde ekstraselüler polimer fibril (EPS) içine gömülü olarak bulunur. EPS başlıca bakteri hücresi tarafından salgılanıp, hücreyi antimikrobiyal ilaçlarla tedavi, ultraviyole (UV) ve protozoonlar gibi düşmanca davranış gösteren çevre şartlarından korur (7,8). EPS'nin kimyasal içeriği oldukça karmaşık olup bakterinin büyüme fazına ve bulunduğu çevresel koşullara göre farklılık gösterir. Genel olarak, EPS yapısında polisakkaritler, proteinler, lipitler, ekstraselüler DNA (eDNA) ve metal iyonları içerir. EPS matriks yapısının bozulması, biyofilmin uzaklaştırılması ve önlenmesinde etkilidir. Örneğin, eDNA birçok bakteri türünün biyofilm yapısında oldukça yaygındır (9) ve DNaz tedavisi biyofilm ilişkili enfeksiyonların kontrol altına alınması için önerilmektedir (10).

Önceleri *Acinetobacter baumannii* biyofilmleri önemsenmezken, *A.baumannii* kaynaklı enfeksiyonların artması üzerine bu konu üzerinde durulmaya başlanmış ve bakterinin biyofilm oluşturma yeteneği ve mekanizmaları açıklık kazanmıştır (11). *A.baumannii* epitel hücreleri ve fungal filamentler gibi biyotik yüzeylerde olduğu gibi polistren ve cam gibi abiyotik yüzeylerde de biyofilm oluşturur. Abiyotik yüzeye yapışmayı takiben biyofilm oluşumu ve olgunlaşmasında, pilus ve Bap yüzey adezyon proteininin üretimi rol oynamaktadır (12).

Çok ilaca dirençli (ÇİD) *A.baumannii* suşlarının biyofilm oluşturma yeteneği ile epitel hücreye yapışabilmesinin doğru orantılı olduğu, *bla*<sub>PER-1</sub> beta-laktamaz geni taşıyan *A.baumannii* izolatlarının biyofilm oluşturma ve epitel hücrelerine yapışma kapasitesinin bu geni içermeyen izolatlara göre daha fazla olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, önceden aminoglikozid kullanımının kuvvetli biyofilm üreten *A.baumannii* ile enfeksiyon riskini artırdığı gösterilmiştir (13).

### “Quorum Sensing (Çoğunluğu Algılama)”

Çoğunluğu algılama (QS), Fuqua ve arkadaşları tarafından 1994 yılında tanımlanan hücre-hücre iletişiminin bir örneğidir ve otoindüktörler olarak da adlandırılan küçük, difüze olan sinyal moleküllerinin üretilmesi, salgılanması ve tepkimesine bağlıdır. Biyofilm içinde bakteri konsantrasyonunda eşik değere ulaşıldığında, bakteri gen ekspresyonunu değiştirir ve ihtiyacı olan genlerin, enzim ve toksin gibi virülans faktörleri, transkripsiyonunu sağlar (14).

QS, sadece özgür yaşayan bakterilerle ilişkili değildir, aynı zamanda yüksek organizmalarla (simbiyozlar veya patojenler) ilişkili olan bakterilerin çoğunun, farklı ‘sosyal’ faaliyetleri kontrol etmek için de kullanılır. Bakteriyel QS mekanizması, iki grup sinyal molekülüne dayanır: Gram pozitif bakteriler için peptid türevleri ve gram negatif bakterilerde ortama salınan yağ asidi türevleri. *Agrobacterium*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia*, *Vibrio* ve *Yersinia* cinsleri dahil birçok insan ve bitki patojeni olan gram negatif bakteri, virülans faktörlerinin sentezinin düzenlenmesi için QS mekanizmasını kullanmaktadır (15). Gram pozitif bakterilerde de gelişmiş bir hücre-hücre iletişimi mevcuttur. *Bacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Streptomyces* cinsleri antimikrobiyal peptitler veya ekzotoksin üretmek ve biyofilm oluşturmak için QS mekanizmasını kullanmaktadır.

Gram negatif bakterilerde QS mekanizması en iyi anlaşılan sistem olup, açil homoserin lakton (AHL) ailesine ait küçük sinyal molekülleri ile yürütülür. AHL sinyal molekülleri, bir homoserin lakton halkası ve sinyal molekülünün türüne bağlı olarak, karbon zincirinin uzunluğu, oksidasyon durumu ve doygunluk seviyesinde değişiklik gösteren bir açil yan zincirden oluşur. Sentezi için S-adenozilmetiyonin (SAM) ve açil taşıyıcı protein (acyl-ACP) gereklidir. AHL’ye bağımlı bir QS mekanizması ilk olarak, 1970’lerin başında gram negatif bir deniz bakterisi olan *Vibrio fischeri* üzerinde yapılan çalışmalar sırasında ortaya konmuştur. *Vibrio fischeri*’nin simbiyotik olarak yaşadığı kısa kuyruklu bir mürekkep balığı olan *Euprymna scolopes*’ın ışık organında belli

bir sayıya ulaştığında ışık üretmeye başladığı görülmüştür (16).

Bakteriyel hücreler, AHL sentaz enzimi aracılığıyla AHL sinyal moleküllerini üretirler. Sinyal molekülleri hücre dışına yayılır ve tekrar hücre içine pasif difüzyonla veya aktif transportla (düşük yoğunlukta) alınırlar. AHL’lerin konsantrasyonu bir eşik seviyesine ulaştığında (threshold level), sinyal molekülleri düzenleyici protein (R) ile etkileşir. Düzenleyici protein (R), bir pozitif transkripsiyon regülatörü görevi görür. R proteini ve AHL kompleksi hedef genlerin promotor bölgelerine bağlanır ve hedef genlerin ekspresyonunu başlatır (17).

QS, basitçe iki bileşenin birlikte çalışmasıyla yürütülür. Bunlardan ilki sinyal molekülünün sentezinden sorumlu olan AHL sentaz enzimi (genellikle LuxI veya LuxI homologu) olup diğeri AHL ile bağlandığında hedef genlerin transkripsiyonunu başlatan regülatör protein (genellikle LuxR veya LuxR homologu)’dir.

Gram pozitif bakterilerde QS sistemi AHL aracılığıyla değil, kısa oligopeptid otoindükleycileri ile yürütülmektedir. Aminoasit sayısı 5-17 arasında değişen bu oligopeptitler, otoindükleyci peptitler (AIP) olarak adlandırılmaktadır. AIP, bakteri zarından difüze olamamaktadır. Hücre dışına taşınmaları oligopeptid taşıyıcılar ile gerçekleşirken, hücre içine alınmaları ise iki komponentli sensör transdüksiyon sistemi ile olur. *Providencia stuartii*, gram negatif bir üriner sistem patojeni olup gram pozitif bakteriler gibi oligopeptitler aracılığıyla hücreler arası iletişim kurmaktadır.

Hem Gram pozitif hem Gram negatif bakterilerin QS sisteminde rol oynayan otoinducer-2 (AI-2) sinyal molekülü ise ilk olarak *Vibrio harvei*’de biyoluminesan ekspresyonunun kontrol mekanizması araştırmalarında keşfedilmiştir (18). AI-2, hücre içinde birçok süreçte metil vericisi olarak rol oynayan S-adenozilmetiyoninden üretilir (19). AI-2 sinyal molekülü aracılı QS sistemi, *V. harvei*’nin yanısıra enterohemorajik *E. coli* (EHEC) O157:H7, *S. pyogenes*, *V. cholerae*, *C. jejuni* suşlarında kullanılmaktadır (20,21).

### **Biyofilm Oluşumu Engellenebilir Mi?**

Biyofilm oluşuktan sonra, bakteri yoğunluğuna ve oluşan EPS matriksin gücüne bağlı olarak, genetik değişimin artması, antibiyotiklerin yapısının bozulması ve dirençli klonların seçilmesi gibi mekanizmalarla güçlü biyofilm direnci gelişir. Bu biyofilm yapısının ortadan kaldırılması, konak savunma mekanizmasının etkisini artırması ve antibiyotiklerin amacına ulaşması açısından önemlidir. Biyofilm enfeksiyonlarını önlemede iki yaklaşım söz konusudur: *i)* biyofilm oluşumunu engellemek *ii)* oluşmuş biyofilmi uzaklaştırmak. Biyofilm oluşumunu önlemek için, planktonik hücrelerin yüzeylere tutunması veya erken mikrokolonilerin tamamen yapılandırılmış biyofilmlere olgunlaşması engellenmelidir (22).

Yüzeylerde mikrobik kolonileşmeyi engellemek veya biyofilm olgunlaşmasını önlemek için tasarlanan stratejiler, genellikle, biyofilm oluşumu ile ilgili gen ifadelerini düzenlemek için bazı uyarıcıları kullanır. Bu uyarıcılar genelde mikrobiyal adezin moleküllerinin ifadelerini bastıran, biyofilm matriks sentezini inhibe eden, QS sinyallerini antagonize eden veya biyofilm içindeki bakterileri öldüren kimyasallar tarafından üretilir. Önceden oluşmuş biyofilmler ise biyofilm yapısının bozulması ve bakterilerin biyofilm yapısından ayrılması ile mümkün olmaktadır. Biyofilmin parçalanması üç basamakta olur: *i)* soyulma, *ii)* erozyon ve *iii)* dağılıma. Soyulma, biyofilm kütlelerinde hızlı bir düşüş olarak, erozyon ise hücrelerin devamlı olarak biyofilmden ayrılması şeklinde tanımlanır. Dağılıma ise soyulma ve erozyonun aksine aktif bir süreci gösterir ve bu aşamada biyofilm merkezindeki hücreler hızla çevreye dağılır ve biyofilm içerisinde kavite oluşumuna neden olur.

### **1. QS İnhibisyonu**

Bakteriler birbirleriyle iletişim kurmak için kimyasal sinyal molekülleri üretir ve salarlar, böylece bir hücre popülasyonunda simbiyoz, virülans, kompetens, konjügasyon, antibiyotik üretimi, motilite, sporülasyon ve biyofilm oluşumu gibi çeşitli özellikleri düzenlerler. QS, birçok patojende çeşitli virülans ve patojenez faktörlerinin üretimini düzenlemekte ve bu nedenle yeni antimikrobiyal maddelerin geliştirilmesi için bir hedef olarak görülmektedir. Aynı zamanda, biyofilm

oluşumunun da QS sistemi tarafından düzenlendiği bilinmektedir ve çoğu araştırmacı, QS inhibisyonunun biyofilm oluşumunu önleyebileceğini bildirmiştir (23,24). QS sistemini inhibe etmek için başlıca, sinyal moleküllerinin inhibisyonu ve biyofilm matriksinin çeşitli enzimlerle parçalanması üzerinde durulmaktadır.

#### **1.A. QS Sinyal Moleküllerinin Parçalanması**

QS sinyal molekülleri “Quorum Quenching (çoğunluğu söndürme-QQ)” enzimleri tarafından inaktive edilir (25). QQ, QS ile etkileşime giren ve QS sinyal bozulması ve ardından virülans ve biyofilm oluşumu gibi QS ile düzenlenen fenotiplerin bastırılmasını sağlayan bir işlemdir. AHL’ler spesifik laktonazlar ve açılazlar tarafından bozunabilir ve aktiviteleri AHL oksidazlar ve redüktazlar tarafından modifiye edilebilir. AHL sinyal moleküllerini parçalayan enzimlerin çoğu bakteriyel türlerde keşfedilmiştir, ancak bu enzimler ökaryotlarda da metagenomik analizlerle tanımlanmıştır. Bu QQ enzimlerinin, biyofilm oluşumunu önlediği de bildirilmiştir (25,26).

#### **1.B. QS Sinyal Sentezinin İnhibisyonu**

AHL’ler, SAM’dan türetilen lakton halkası ve açıl taşıyıcı proteinlerin (ACPs) açıl grubundan oluşur. SAM analoglarının, S-adenozil-homosistein (SAH), sinefugin, 5-metiltiyoadenozin (MTA) ve butiril-SAM’ın *Pseudomonas aeruginosa*’daki AHL üretimini inhibe edebildiği gösterilmiştir (27).

Azitromisin AHL sentezini baskılayarak *P. aeruginosa*’da biyofilm oluşumunu inhibe ettiği ve kistik fibrozis fare modelinde aljinatdan zengin biyofilmin temizlenmesini sağladığı gösterilmiştir (28).

#### **1.C. Sinyal Moleküllerini Antagonize Edilmesi ve/veya Sinyal Üretimini İnhibisyonu**

Araştırmacılar, lakton halkası ya da açıl zincirlerini modifiye ederek doğal AHL moleküllerinin analoglarını üretmiştir. QS sinyallerini antagonize eden bu AHL analoglarının birçoğu örneğin, N-açıl-siklopentilamid, antibiyofilm aktivitesine sahiptir (29). Gram negatif bakterilerde AHL aracılı QS mekanizmasını antagonize eden birçok doğal bileşik; greyfurt suyunda bulunan bergamot ve ‘dihidroksibergamotin’, sarımsakta

bulunan 'allin, allicin' gibi siklik kükürt bileşikleri, mantarlardan elde edilen 'patulin' ve çeşitli penisilik asit üzerinde çalışılmıştır (30). Ayrıca, bu bileşiklerin birçoğunun, biyofilmdeki *P. aeruginosa* hücrelerinin antibiyotiklere duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (31). Kırmızı alg olan *Delisea pulchra*'dan izole edilen halojenlenmiş furanon ve tarçın kabuğundan elde edilen sinnamaldehitin biyofilm oluşumunu etkilediği ve biyofilm içindeki bakterinin antibiyotiklere duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir. Sinnamaldehit gıdalar ve içeceklerde lezzet verici bir madde olarak yaygın olarak kullanılırken, furanonların toksisiteleleriyle sınırlı kullanım alanı vardır.

## 2. Biyofilm Matriksini Parçalayan Enzimler

Biyofilm oluşumunu önlemek için üç tip biyofilm matriks parçalayıcı enzim kullanılabilir:

### 2.A. Polisakkarit Degradasyon Enzimleri

Alfa amilaz, *Staphylococcus aureus* izolatları tarafından biyofilm yapımını, biyofilmin çözünmesini teşvik ederek ve bakteri agregasyonunu önleyerek inhibe eder. Dispersiyon B (DspB), *Actinobacillus aktinomycetemcomitans* tarafından üretilen ve *Staphylococcus* spp. Ve *Escherichia coli*'nin majör matriks ekzopolisakkaridi olan poli-N-asetilglukozamini (PNAG) hidrolize eden 42-kDa'lık bir hidrolazdır. Triklosan ve DspB kombinasyonunun *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *E. coli* izolatlarında biyofilm yapımını anlamlı ölçüde azalttığı gösterilmiştir (32). Aljinat liyazın, biyofilm içindeki *P. aeruginosa*'nın gentamisin tarafından öldürülmesini artırdığı bildirilmiştir.

### 2.B. Nükleaz

Araştırmalar, DNaz I'in biyofilm oluşumunu engellediğini ve çeşitli bakteriyel türlerin ürettiği biyofilmlerin ayrışmasına neden olduğunu göstermektedir. DNaz I ayrıca, yüzey adezini olarak görev yapan hücre yüzeyi ilişkili nükleik asitleri yıkarak ilk tutunmayı da inhibe etmektedir (33).

### 2.C. Proteaz

Proteazlar, hücre dışı fibröz proteinler, pili, fimbriya gibi yapıları parçalayarak hücre-hücre ve hücre-yüzey etkileşimini azaltır ve bu şekilde biyofilm oluşumunu inhibe ederler. *Bacillus* spp. tarafından

üretilen bir grup serin proteaz olan subtilisinlerin, bakteriyel hücrelerin yüzeylere tutunmasını önlediği ve tutunmuş olan bakterilerin ayrışmasına neden olduğu gösterilmiştir (34). *Staphylococcus simulans* izolatlarında tanımlanan bir metalo-endopeptidaz olan "Lysostaphin (lizostafin)" in *S. aureus* üzerinde litik etkisi tanımlanmış ve lizostafin ile kaplanmış kateterlerde *S. aureus* ile yüzey kolonizasyonunun dört güne kadar engellenebildiği bildirilmiştir (35).

## Sonuç

Biyofilmler inatçı enfeksiyonlara neden olan ve birçok kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlarda anahtar rol oynayan yapılardır. Konvansiyonel antibiyotik tedavileri biyofilm enfeksiyonlarını ortadan kaldırmada yetersiz kalmakta ve bakterilerin antibiyotik toleransını artırmaktadır. Minimal inhibitör konsantrasyonunun altında kalan dozlarda verilen antibiyotikler biyofilm yapımını artırmakta ve bu nedenle enfeksiyotedavisini etkisiz hale getirmektedir. Ancak, son yıllarda biyofilm oluşumunu engellemeyi sağlayan biyofilm matriksinin degradasyonu ile biyofilm üzerine antibiyotik etkinliğinin artırılması gibi yaklaşımlar gelişmektedir. Antibiyofilm ajan ve antimikrobiyal ilaç kombinasyonları, biyofilm oluşumunu bunların tek başına kullanımlarından daha etkili bir şekilde azaltmaktadır. Bu nedenle, çoklu ilaç ile tedavi yaklaşımı biyofilm ilişkili enfeksiyonlarda önem kazanmaktadır. Gelecekte biyofilmlerin kontrolü, birden çok enfeksiyon etkeni ile gerçekleşen enfeksiyonlarda bu türlerin mikrobiyal etkileşiminin ve antibiyotik aktivitesi üzerindeki etkilerinin anlaşılması ile daha çok mümkün olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Costerton JW, Geesey GG. and Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am* 1978; 238(1): 86-95.
2. Marshall KC, Stout R, Mitchell R. Mechanisms of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *J Gen Microbiol* 1971; 68: 337-48.
3. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE et al. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-45.
4. Gaddy JA, Actis L. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future Microbiol* 2009; 4(3): 273-8.

5. Brackman G, Coenye T. Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Curr Pharm Des* 2015; 21: 5-11.
6. Frølund B, Palmgren R, Keiding K, Nielsen PH. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res* 1996; 30: 1749-58.
7. Costerton JW, Lewandowski Z, DeBeer D et al. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol* 1994; 176(8): 2137-42.
8. Yang L, Liu Y, Wu H et al. Current understanding of multi-species biofilms. *Int J Oral Sci* 2011; 3(2): 74-81.
9. Steinberger RE, Holden PA. Extracellular DNA in single and multi-species unsaturated biofilms. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(9): 5404-10.
10. Izano EA, Shah SM, Kaplan JB. Intercellular adhesion and biocide resistance in nontypeable *Haemophilus influenzae* biofilms. *Microb Pathog* 2009; 46(4): 207-13.
11. Lee HW, Kah YM, Kim J et al. Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(1): 49-54.
12. Gaddy JA, Actis L. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future Microbiol* 2009; 4(3): 273-8.
13. Rodríguez-Baño J, Martí S, Soto S et al. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(3): 276-8.
14. Kaplan HB, Greenberg EP. Diffusion of autoinducer is involved in regulation of the *Vibrio fischeri* luminescence system. *J Bacteriol* 1985; 163: 1210-14.
15. Williams P. Quorum sensing, communication and cross-kingdom signaling in the bacterial world. *Microbiology* 2007; 153: 3923-38.
16. Nealson KH, Platt T, Hastings JW. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol* 1970; 104: 313-22.
17. Czajkowski R, Jafra S. Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. *Acta Biochimica Polonica* 2009; 56(1): 1-16.
18. Bassler BL, Wright M, Showalter RE, Silverman MR. Intercellular signalling in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence. *Mol Microbiol* 1993; 9: 773-86.
19. Schauder S, Shokat K, Surette MG, Bassler BL. The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Mol Microbiol* 2001; 41: 463-76.
20. Lyon WR, Madden JC, Levin JC et al. Mutation of luxS affects growth and virulence factor expression in *Streptococcus pyogenes*. *Mol Microbiol* 2001; 42: 145-57.
21. Sperandio V, Mellies JL, Nguyen W et al. Quorum sensing controls expression of the type III secretion gene transcription and protein secretion in enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 15196-201.
22. Kim S, Jung UT, Kim SK et al. Nanostructured multifunctional surface with antireflective and antimicrobial characteristics. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015; 7: 326-31.
23. Bhardwaj AK, Vinothkumar K, Rajpara N. Bacterial quorum sensing inhibitors: Attractive alternatives for control of infectious pathogens showing multiple drug resistance. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2013; 8: 68-83.
24. Brackman G, Coenye T. Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Curr Pharm Des* 2015; 21: 5-11.
25. Tang K, Zhang XH. Quorum quenching agents: Resources for antivirulence therapy. *Mar Drugs* 2014; 12: 3245-82.

26. Weiland-Brauer N, Kisch MJ, Pinnow N et al. Highly effective inhibition of biofilm formation by the first metagenome-derived AI-2 quenching enzyme. *Front Microbiol* 2016; 7; 1098.
27. Parsek MR, Val DL, Hanzelka BL et al. Acyl homoserine lactone quorum-sensing signal. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 4360-4365.
28. Hoffmann N, Lee B, Hentzer M et al. Azithromycin blocks quorum sensing and alginate polymer formation and increases the sensitivity to serum and stationary-growth-phase killing of *Pseudomonas aeruginosa* and attenuates chronic *P. aeruginosa* lung infection in *Cftr*<sup>-/-</sup> mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 3677-87.
29. Kim C, Kim J, Park HY et al. Structural understanding of quorum-sensing inhibitors by molecular modeling study in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2009; 83: 1095-103.
30. Galloway WR, Hodgkinson JT, Bowden SD et al. Quorum sensing in Gram-negative bacteria: Small-molecule modulation of AHL and AI-2 quorum sensing pathways. *Chem Rev* 2011; 111: 28-67.
31. Christensen LD, van Gennip M, Jakobsen TH et al. Synergistic antibacterial efficacy of early combination treatment with tobramycin and quorum-sensing inhibitors against *Pseudomonas aeruginosa* in an intraperitoneal foreign-body infection mouse model. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 1198-206.
32. Darouiche RO, Mansouri MD, Gawande PV, Madhyastha S. Antimicrobial and antibiofilm efficacy of triclosan and dispersin B combination. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64: 88-93.
33. Kaplan JB. Therapeutic potential of biofilm-dispersing enzymes. *Int J Artif Organs* 2009; 32: 545-54.
34. Leroy C, Delbarre-Ladrat C, Ghillebaert F et al. Effects of commercial enzymes on the adhesion of a marine biofilm-forming bacterium. *Biofouling* 2008; 24: 11-22.
35. Shah A, Mond J, Walsh S. Lysostaphin-coated catheters eradicate *Staphylococcus aureus* challenge and block surface colonization. *Antimicrob. Agents Chemother* 2004; 48: 2704-07.