


Biyofilm Yapısı ve Önlenmesi

Mehmet Onur Kartal¹ , Melike Baran Ekinci²  ✉, Büşra Poyraz² 

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Burdur
²Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Burdur

Geliş Tarihi (Received): 26.08.2021, Kabul Tarihi (Accepted): 19.09.2021

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): melikebaran@mehmetakif.edu.tr (M. Baran Ekinci)

☎ 0 248 213 27 26 📠 0 248 213 27 04

ÖZ

Bakteri, maya, küf ve mavi yeşil algler tarafından salgılanan EPS (ekzopolisakkarit veya ekstraselüler polimerik madde), proteinler, eDNA (extracellular DNA, hücre dışı DNA), çeşitli enzimler ve mikroorganizmanın kendisini içeren kompleks yapıdaki matrikse "biyofilm" denir. Biyofilm mikroorganizmaların kendini başta zorlu veya toksik koşullardan korumakta, ortamlarda mikrobiyal rekabet gücünü artırmakta ve bazı hücresel çeşitli işlevlerde de kullanılmaktadır. Biyofilmler, ekolojik olarak koruyucu ve işlevseldir. Endüstride (gıda, tekstil, kağıt ve madencilik gibi), atıkların biyoremediasyonunda kullanılmak üzere farklı bakteri türlerinden oluşan biyofilmlerden yararlanılmaktadır. Ayrıca mikrobiyal enerji üretiminde ve biyogübre üretiminde kullanılan biyofilmler bulunmaktadır. İnsan bağırsağına tutunan bakterilerin oluşturduğu biyofilmler ise gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak görev almaktadır. Ancak biyofilm, dişlerde plak oluşumu ve doku enfeksiyonlarının başlıca kaynağıdır. Ayrıca gıda endüstrisinde de çeşitli sorunlara yol açmaktadır. Özellikle çelik yüzeylerde, boruların iç yüzeylerinde, kullanılan yardımcı alet ve ekipmanlarda gelişerek gıdalarda kirlilik, patojenite ve bozulmaya neden olmaktadır. Bu durum ciddi ekonomik kayıplara da yol açmaktadır. Bu yüzden gıda endüstrisinde biyofilm oluşumunun başlangıç aşamasında engellenmesi ya da oluşan biyofilm yapısının ortadan kaldırılması gerekmektedir. Biyofilm yapılarının iyi bilinmesi bu yapıların engellenmesinde kullanılacak yöntemlerin uygulanmasında kolaylık sağlamaktadır. Bu derlemede, biyofilm tanımı, gıda ve diğer bazı alanlarda biyofilm oluşumu ve önlenmesi hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, Ekzopolisakkarit, Gıda endüstrisi, Tıp, Su ürünleri, Su dağıtım

Biofilm Structure and Prevention

ABSTRACT

Biofilm is a complex matrix, containing EPS (exopolysaccharide or extracellular polymeric substance), proteins, eDNA (extracellular DNA, extracellular DNA), various enzymes and the microorganism itself, secreted by bacteria, yeasts, molds and blue green algae. Biofilm protects microorganisms from harsh or toxic conditions, increases their microbial competitiveness in environments, and is also used in some cellular functions. Biofilms are ecologically protective and functional. Biofilms, consisting of different bacterial species, are steadied to the bioremediation of wastes in a number of industries such as food, textile, paper and mining. Additionally, some kind of biofilms are used in production of microbial energy and biofertilizer. Biofilms, which are produced by some bacteria in the human intestine system, may act as a protector against foodborne pathogenic microorganisms. On the other hand, biofilm is the main source of dental plaque formation and tissue infections. It also causes various problems in the food industry. Especially it may form on steel surfaces, inner surfaces of pipes, auxiliary tools and equipment causing pollution, pathogenicity and spoilage in foods. This situation may also cause serious economic losses. Therefore, in the food industry, it is necessary to prevent the formation of biofilm at its initial stage or to eliminate the already formed biofilm structure. Good knowledge of biofilm

structure provides convenience in preventing these structures. In this review, information is given about the definition of biofilm, biofilm formation and its prevention in the food industry and other fields.

Keywords: Biofilm, Exopolysaccharide, Food industry, Medicine, Seafood, Water distribution

GİRİŞ

Film, yüzeyi kaplayan ince bir tabakayı ifade etmektedir. Biyofilm ise bu tabakayı oluşturan maddenin biyolojik bir materyal olduğunu belirtmektedir [1]. Biyofilm; mikroorganizmaların birbirleriyle, buldukları yüzeylere veya daha alt tabaka olan ara yüzeylere geri dönüşümsüz olarak tutunmalarını sağlayan hücre dışı polisakkarit (extracellular polysaccharide, EPS) veya hücre dışı polimerik madde (extracellular polymeric substance, EPS) matriksi olarak adlandırılmaktadır. Aynı zamanda büyüme oranı ve gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotipik özellikler kazanmaktadır. Biyofilm kısaca bir yüzeye tutunmuş mikroorganizma ve ürettikleri madde topluluğu olarak tanımlanabilmektedir [2].

Bu hücre dışı polimerik madde matriksinin yapısını; polisakkaritler, proteinler, glikolipidler ve hücre dışı DNA (extracellular DNA, eDNA) oluşturmaktadır. Mikroorganizma hücrelerinin yüzeye tutunmasında ve biyofilmlerin oluşumunda; polisakkaritler, biyofilm yapısı içindeki bakteri hücreleri arasındaki iletişimin sağlanmasında; proteinler, bakterilerin virülans özellikler kazanmasında; glikolipidler görev almaktadır. Mikroorganizma hücreleri arasındaki horizontal (yatay) gen transferinde, yüzey hidrofobitesinin (su geçirmezliği) düzenlenmesinde ve biyofilmin üç boyutlu iskelet yapısının oluşturulmasından ise eDNA sorumludur [3].

Biyofilm oluşumu için gerekli ilk aşama mikroorganizmanın yüzeye adezyonudur. Adezyonun sağlanmasında çevresel koşullar (sıcaklık, pH, besinsel bileşenleri, diğer mikroorganizmaların varlığı), gıda çevrelerindeki ürün işleme koşulları (akış hızı ve kuvveti), mikroorganizmanın tutunduğu yüzeyin yapısı ve şekli (fonksiyonel gruplar, yüzey yük karakteristiği, çeşitli kimyasalların varlığı, yüzeyin serbest enerjisi) etkili olmaktadır. Biyofilm yapısının oluşumunda mikroorganizmaların sahip olduğu özellikler de (yeter sayı algılama mekanizması, EPS üretimi ve salgısı, pilus, fimbriya, adezin ve flagella gibi yapıların varlığı) önemlidir [4].

Polisakkaritler, doğada yaygın olarak dağılımları nedeniyle son yıllarda araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmektedir. Ekzopolisakkaritler (EPS'ler), tipik olarak monosakkaritler ile birlikte asetatlar, piruvatlar, süksinatlar ve fosfatlar gibi karbonhidrat olmayan bileşiklerden oluşan yüksek moleküler ağırlığa sahip uzun zincirli heteropolisakkaritlerdir. Ekzopolisakkaritler (EPS) bakteriler, mayalar, mantarlar, küfler ve mavi yeşil algler tarafından salgılanmaktadır. EPS hücre yüzeyine kovalent olarak bağlanabilmektedir veya hücre dışı olarak salgılanabilmektedir. Mikrobiyal EPS'ler, düzenlenmiş koşullar altında sentezlenebildikleri için hayvan, bitki ve deniz yosunlarından elde edilen EPS'lere iyi bir alternatif sağlayabilmektedir. Bakteriye EPS'ler, hücrelerden

kolayca uzaklaştırılabilen, gevşek bağlı sümük tabakaları olan bakteriler tarafından salgılanan temel bileşikler grubudur. EPS'ler, üreticileri zorlu veya toksik koşullardan korumak ve farklı ortamlarda mikrobiyal rekabet gücünü artırmak dahil olmak üzere çeşitli işlevlere hizmet etmektedir. Ayrıca üretilen EPS'ler, gıda, kozmetik, ilaç ve ambalaj endüstrilerinin yanı sıra tarım ve tıp dahil olmak üzere çok çeşitli biyoteknolojik uygulamalarla onları temel mikrobiyal sentez ürünleri haline getiren fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklere sahiptir. Gıda endüstrisinde jelleştirici ajanlar, biyoflokülantlar, biyostabilizatörler ve biyoemülgatörler olarak kullanılabilirler [5, 6].

Zobell [7], deniz suyunun yüzeyinde bulunan serbest haldeki bakteri sayısının, su içerisinde bulunan bakteri sayısından çok daha fazla olduğunu tespit etmiştir. Bir atık su işleme tesisindeki filtreler üzerinde tutunan yapıların morfolojileri incelendiğinde farklı mikroorganizmaların bir arada bulduklarını tespit etmiştir. Bu topluluk içindeki hücreleri çevreleyen matriks materyalinin polisakkarit olduğu gözlemlenmiştir.

Biyofilm bitki, hayvan ve insan vücudu gibi canlı yüzeylerde, medikal aletler, endüstriyel su boruları, mineral kristaller, aşındırıcı parçalar, toprak-kil, kan ve ürünlerinin bulunduğu cansız yüzeylerde gelişebilmektedir [8, 9].

Biyofilm yapısını oluşturan bakteri türlerinin bulunma durumuna göre homojen ve heterojen biyofilmler olarak ayrılmaktadır. Homojen biyofilmler aynı bakteri türlerinin oluşturduğu mikrobiyal topluluklardır ve doğada kolay kolay bulunmamaktadır. Biyofilmler içerisinde yer alan bakteriler tarafından gerçekleşen her bir biyokimyasal süreçte birden fazla bakteri türü birlikte hareket etmektedir. Bu sebeple doğada biyofilmler çoğunlukla heterojen yapıda bulunmaktadır ve bakteri türleri bir arada yer almaktadır [10].

Biyofilmler, ekolojik olarak koruyucu ve işlevseldir. Doğada neredeyse tüm yüzeylerde oluşabilmektedir. Endüstride (gıda, tekstil, kağıt, maden) farklı bakteri türlerinden oluşan biyofilmler, atıklarının biyoremediasyonunda kullanılmaktadır. Çevrenin temizlenmesinde, mikrobiyal enerji üretiminde ve biyogübre üretiminde biyofilm formlarından yararlanılmaktadır. Ayrıca, insan bağırsağına tutunan bakterilerin oluşturduğu biyofilmler, gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak görev alır [11, 12]. Bunun yanı sıra biyofilmler; su sitemlerinde, gıda üretimi yapan makinelerin yüzeylerinde, konakçı organizmanın mukozal yüzeylerinde, kayalarda, buzullarda, gıda ve gıda paketleme yüzeylerinde, deri geçişli tıbbi cihazlarda, diş yüzeylerinde de bulunabilmektedir. Yüksek kalıcılığı ve yeniden kontaminasyona neden olabileceğinden hem tıbbi ve hem de endüstriyel açıdan önemli sorunlara yol

açmaktadırlar. Endüstride metal yüzeyler üzerinde sülfür indirgeyen ve oksitleyen mikroorganizma türlerinin oluşturduğu biyofilm ilerleyen süreçte korozyona sebep olmaktadır. Bazı biyofilm yapılarında patojen bakteriler (*E.coli*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Candida* ve *Yersinia*) gıdaların yüzeyi ile etkileşime girerek kontaminasyona yol açar. Bu durum gıdaların bozulmasına, gıda kaynaklı hastalıkların ortaya çıkmasına, gıdaların raf ömrünün kısalmasına ve bunların sonucunda ekonomik kayıpların artmasına neden olmaktadır. Biyofilm yapısının zararlı olduğu durumlar dışında faydaları da bulunmaktadır [11, 12].

Kullanılan kimyasalların malzemelerde ve makinelerde paslanmaya yol açması, dezenfektanların tüketici sağlığı üzerinde tehlike oluşturması ve çevreyi olumsuz etkilemesi; inaktivasyon etkisi bulunan ısı işlemlerin, antibiyotiklerin, dezenfektanların ve ağır metallerin biyofilm oluşumunu engellemesinde yetersiz kalması yeni tekniklerin geliştirilmesini etkilemiştir [13].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda antimikrobiyal etkiye sahip doğal bitki, baharat ve çeşitli otlardan ekstrakte edilen uçucu yağların biyofilm oluşumunu engellediği gözlemlenmiştir. Adaçayı (*Salvia*), ardıç (*Juniperus*), limon (*Citrus limon*), mercanköşk (*Origanum majorana*) gibi bitki ekstraktlarından elde edilen uçucu yağların kullanımı ile bazı patojen bakterilerin oluşturduğu biyofilm gelişimini azaltıcı etkisi bulunmuştur [14].

GENEL BİLGİLER

Biyofilmin Tarihçesi

Mikroskobun bulunması ve geliştirilmesiyle mikroorganizmaların keşfi gerçekleşmiştir. Mikroorganizmaları mikroskopta ilk tanımlayan ve inceleme yapan 17. Yüzyılda yaşayan Antony Van Leeuwenhoek'tur. Biyofilm varlığı da ilk kez Antony Van Leeuwenhoek tarafından keşfedilmiştir. Kendi dişinin üzerindeki plaktan aldığı sürüntüyü mikroskop altında incelemiş ve mikroorganizmaların tek tek değil, kümeler halinde varlığını gözlemlemiş fakat biyofilm olduğunu tanımlayamamıştır. Mikroorganizmaları yuvarlağımsı, çubuk ve spiral olarak 3 şekil grubuna ayırmıştır ve hareket edebilen canlı mikroorganizma varlığını tanımlamıştır [15, 16].

1970'li yıllarda Costerton [17] dağlarda akan akarsularda yaşayan bakterileri incelediğinde %99.99'unun yüzeye yapışarak balçık benzeri bir yapı oluşturduğunu ortaya koymuştur. Costerton daha önce yaptığı çalışmalardan elde ettiği bilgi ile 1978 yılında bu yapıyı tanımlamak için biyofilm terimini ilk defa kullanmıştır.

1973 yılında Caracklis [7], endüstriyel su tesislerindeki mikroorganizmaları incelemiştir. Bu toplulukların yüzeye sıkı bir şekilde tutunduklarını ve klor benzeri dezenfektan maddelerine karşı çok dirençli olduğunu tespit etmiştir.

Son 20 yılda biyofilmler taramalı elektron mikroskobu ve mikrobiyolojik kültür yöntemleriyle incelenmektedir. Biyofilm yapılarını görüntülemek için ışık mikroskobundan, geçirimli ve taramalı elektron

mikroskobundan yararlanılmıştır. Biyofilm yapısının incelenmesinde kullanılan en yeni teknik ise konfokal taramalı lazer mikroskobudur [12].

Biyofilm ile ilgili yapılan araştırmalar son 20-30 yıl içerisinde hız kazanmıştır. Biyofilmlerin varlığı endüstride kayıplara yol açabilmektedir. Bu sebeple biyofilmin giderilmesi ile ilgili araştırmalar artmıştır [18].

Biyofilm Yapısı

Biyofilm, mikroorganizma yüzeyinde düzensiz olarak dağılan polisakkarit yapısı yoğunlukta olan karmaşık yapıdaki bir matrikstir. Bir biyofilmin oluşması için gerekli olan ortak bileşikler; mikroorganizma, glikokaliks ve yüzeydir. Bu bileşenlerden herhangi biri olmadığı zaman biyofilm oluşmamaktadır [19].

Biyofilmin yapısında ekzopolisakkaritler, proteinler, eDNA, enzimler, su ve biyofilm yapısını oluşturan mikroorganizmalar yer almaktadır.

Ekzopolisakkaritler

Mikrobiyal hücreler tarafından sentezlenen ekzopolisakkaritler; kimyasal ve fiziksel özellikler açısından farklılıklar göstermektedir. Biyofilm içerisinde yaşayan mikroorganizmalar tarafından sentezlenen polisakkaritler biyofilmin ana ekstrasellüler bileşimini oluşturur. Polisakkaritler, uzun ve ince moleküler zincirlerdir. Biyofilmde polisakkaritler, 0.5-2.0 x 10⁶ Da ağırlığına sahip olup, hücre yüzeyine tutunarak ince şeritler halinde hücrenin çevresinde karmaşık ağ yapıda görünmektedir [15].

Biyofilmler içerisinde en fazla bulunan ve incelenen ekzopolisakkaritler: aljinat, selüloz ve poli-N-asetil glukozamindir. Aljinat, kahverengi algler veya *Azotobacter vinelandii*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi farklı bakteri türleri tarafından üretilmektedir [4].

Biyofilm Matriksi İçindeki Proteinler

Biyofilm matriksindeki proteinler kıvrımlı fimbriya, BAP (biofilm associated protein, biyofilm ile ilişkili protein) topluluğu, lektinler (polisakkaritlerin çökmesine neden olan karbonhidrat bağlayıcı proteinler) ve oto taşıyıcı proteinler (bazı bakteriyel dış zar proteinlerinde bulunan yapısal bir alan) olmak üzere dört başlık altında incelenmektedir. Kıvrımlı fimbriya ve pili, bakterilerin protein yapıdaki yapışkan uzantılarıdır [4].

Hücre Dışı DNA (eDNA)

Hücre dışı DNA (eDNA), yakın zamanda keşfedilen önemli bir biyofilm bileşenidir. Hücre dışı DNA bakterileri konakçı bağışıklık sisteminden ve antimikrobiyal ajanlardan koruyan yapıdır. eDNA hücre dışı polimerik madde (EPS) yapısında oldukça fazla bulunan bir matriks elemanıdır. Bakteriyel biyofilm topluluklarının gelişimini anlamak için eDNA'nın yapısını incelemek önemlidir [11, 20]. İlk olarak *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*, ardından

Enterococcus faecalis ve *Staphylococci*'nin biyofilmlerinde gözlenmiştir [21].

Enzimler

Biyofilm matriksi içerisinde, çok çeşitli hücre dışı enzimler bulunmaktadır. Bu enzimler hidrolaz, liyaz, glikozidaz ve esterazlardır. Substratları; matriks içerisindeki polisakkaritler, proteinler, nükleik asitler gibi suda çözünebilir polimerler ya da selüloz, kitin ve lipit gibi suda çözünmeyen polimerlerde olabilmektedir. Biyofilm yapısındaki bu enzimler biyofilm oluşum aşamasında tutunan mikroorganizmaların metabolizmasında enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır [5, 22].

Su

Biyofilm yapısının %97'sini su oluşturmaktadır. Matriks içindeki diğer bileşenler ise; %0-2 EPS (ekzopolisakkarit veya ekstrasellüler matriks), %0-2 globüler glikoproteinler ve diğer proteinler, %0-2 DNA, lipit ve fosfolipitlerdir. Bu oranlar, biyofilm oluşumunda mikroorganizmaların türüne, fizyolojik özelliklerine, ortamın pH değerine, akışkanın şekline ve fiziksel özelliklerine göre değişmektedir [23].

BİYOFİLM OLUŞUMU

Biyofilm oluşumu için bakterilerin yüzeye yakın olması gerekmektedir. Bakteriler bir yüzeye yaklaştıkça yüzeyden 10-20 nm mesafede bakteri yüzeyindeki negatif yükler, çevre yüzeyindeki negatif yüklere itilmektedir. Bu itme, bakteriyel hücreler ve yüzey arasındaki Van der Waals kuvvetleriyle sağlanır ya da yüzeye mekanik bağlantı sağlamak için fimbria ve flagella kullanımı ile gerçekleşmektedir [24]. Biyofilm oluşumu 5 aşamada gerçekleşmektedir. Bu aşamalar dönüşümlü tutunma, dönüşümsüz tutunma, mikrokoloni oluşumu, olgunlaşma ve ayrılımdır.

Dönüşümlü Tutunma

Bakteri yüzeye tam olarak temas etmemektedir ve bakteri ile yüzey arasında uzun mesafeli etkileşimler oluşmaktadır. Bunlar hidrofobik ve Van der Waals bağları olup zayıf etkileşimlerdir. Yüzeye ilk temasta hidrofobik etkileşimler önemli bir yere sahiptir. Hücreler bu fazda, Brownian hareket (hücrenin olduğu yerde titreme hareketi) göstermektedirler. Bu oluşum basit yıkama işlemleri ile kolayca uzaklaştırılabilmektedirler [25].

Dönüşümsüz Tutunma

Dönüşümsüz tutunmada yüzeye kısa mesafeli olan dipol-dipol, iyon-dipol, iyonik ve kovalent bağlar ile hidrofobik ve hidrojen etkileşimler yer almaktadır. Bakteriler flagella ve fimbria ile EPS oluşturarak yüzeylere dönüşümsüz bağlanabilmektedirler [25]. Katyonlar, çeşitli makromoleküller ve koloidal materyaller boru hatlarında tutulduğunda, mikroorganizmalar öncelikle organik materyale dönüşümlü olarak, sonra da flagella ve fimbriaları ile dönüşümsüz olarak tutunmaktadır. Yüzeye tutunan bakteriler, membrana bağlı proteinlerden EPS üretmektedir. Ancak EPS

oluşturmayan bakteri türleride yüzeylere bağlanabilmektedir. Dönüşümsüz basamağın uzaklaştırılması fırçalama ve kazıma gibi güçlü işlemlerle yapılması gerekmektedir [25].

Kolonizasyon ve Mikrokoloni Oluşumu

Yüzeye tutunan bakteriler gelişerek çoğalmaktadır ve böylece yüzeyde ilk koloni oluşumu gözlenmektedir. Farklı bakteri türlerinin de gelişimiyle ikincil koloni oluşumu görülmektedir. Biyofilmin büyümesiyle matriks içinde kapsül oluşturan mikroorganizma sayısında artış gerçekleşmektedir. Daha sonra mikrokoloniler büyüyerek mantara benzeyen yapılara veya kulelere dönüşmektedirler. Farklı yüksekliklerdeki mikrokolonilerin arasında, besin taşınması ve metabolik atıkların uzaklaştırılması için mikro boyutta su kanallarına benzeyen yapı bulunmaktadır [26].

Olgunlaşma

Biyofilmin mikrokoloni oluşumundan sonra biyofilimle ilgili genlerin ekspresyonu gerçekleşmektedir. Bu gen ürünleri biyofilmin ana yapı malzemesi olan EPS için gereklidir [27]. Mikrokoloni oluşumu sonrasında, biyofilmin yapısında bulunan hücrelerin besin, oksijen gibi zorunlu maddelerin alımı ve atık maddelerin uzaklaştırılması amacıyla mikro kanalların oluştuğu aşamadır. Bu kanallar ile yapı 3 boyutlu şekil kazanmaktadır [28].

Ayrılma

Bu aşamalardan sonra mikroorganizmalar besin durumuna bağlı olarak ayrılma aşamasına geçmektedir. Ayrılma işlemi sıvı kayma kuvvetine, zayıf koheziona, oksijenin ve biyofilm içindeki besin maddesinin tükenmesine bağlıdır [29]. Ayrılmada aşınma ve dökülme aynı anda gerçekleşmektedir. Sıvı kayma kuvveti sonucunda oluşan aşınma, küçük biyofilm parçalarının uzaklaştırılması olarak tanımlanmaktadır. Dökülme ise besinlerin azalması ile büyük biyofilm parçalarının rastgele ayrılmasıdır [29].

BİYOFİLM OLUŞUMUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Bakteri adezyonu sadece materyalin yüzey yapısıyla ilgili değildir. Yüzey pürüzlülüğüyle de ilgilidir ve yüzey pürüzlülüğü plak birikim miktarı hakkında bilgi vermektedir. Pürüzlü yüzeylerin fazla olması nedeniyle plak oluşumuna daha yatkın olduğu ve cilalanmış yüzeylerin plak oluşumu az olduğu belirtilmiştir. Laboratuvar koşullarında, pürüzlü yüzeydeki bakteri birikiminin cilalanmış yüzeylere göre fazla olduğu gözlemlenmiştir. Yüzey pürüzlülüğünün genç biyofilm adezyonunu etkilediği ve biyofilm olgunlaşma aşamasından sonra yüzey pürüzlülüğünün biyofilm üzerinde etkisinin olmadığı bildirilmiştir [30]. Biyofilmler antibiyotikler ve dezenfektanlara karşı dirençlidirler. Biyofilm oluşturan bazı mikroorganizmaların antibiyotik etkisi ile yok olduğu, bazılarının da canlılığını sürdürdüğünü gözlemlenmiştir. Biyofilm içerisinde üreyen bakterilerin dezenfektanlara karşı direnç göstermesi, biyofilm tabakasının

dezenfektanlara karşı geçirgenliğinin az olmasına bağlıdır [31].

Bakterilerin spor formları, vejetatif formlarına göre ısı işlem ve dezenfektanlara karşı daha dayanıklıdır. Bu özellik nedeniyle sporlar, gıda ile ilgili yüzeylerde uzun süre kalabilmektedirler. Sporların fizyolojik özellikleri vejetatif hücrelere göre daha fazla biyofilm oluşturma potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir [32].

BIYOFİLM OLUŞTURAN MİKROORGANİZMALAR

Biyofilmler, mikroorganizmalar için koruyucu bir kalkandır. Stres koşullarına uyum sağlamak, hücreler arası iletişimi gerçekleştirmek, adezyon ve kolonizasyon oluşturmak amacıyla biyofilm yapılarını meydana getirmektedirler. Gıdalarda biyofilm oluşturan bakteriler ise *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* gibi türlerdir. Özellikle deniz ürünlerinde ve yapraklı sebzelerde risk teşkil eder. Bu bakteriler gıda kalitesi ve insan sağlığını olumsuz şekilde etkileyebilmektedir [33, 34].

E. coli, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* ile oluşturulan biyofilm yapılarında deoksiribonükleaz (DNaz) enzimi güçlü yıkımlar oluşturmaktadır. Lizostafin enzimi ile *S. aureus* biyofilmlerinin tamamen yok edildiği gözlemlenmiştir. *S. aureus* ve *S. epidermidis* suşlarına karşı α -amilazların aktiviteleri incelenmiş ve *S. aureus*'da biyofilm oluşumu 5 dakika inkübasyon ile %79, 30 dakika inkübasyon ile %89 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. Lizozim enzimin ise biyofilm matriksinin sıvılaşmasına neden olarak biyofilm yapılarının oluşmasını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir [35]. Lizozim enzimi gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabakadaki β -1,4-glukozidik bağları hidrolize etmesiyle hücre zarının yapısına zarar vermektedir [36].

BIYOFİLM OLUŞUMUNUN KONTROLÜ ve ENGELLENMESİ

Biyofilm oluşumunun engellenmesi için gerekli tedbirler alınmalıdır. İşletmelerde temizlik etkili bir şekilde belirli aralıklarda yapılmalıdır. Mikroorganizmaların tutunabileceği organik maddelerin uzaklaştırılmasına ve dezenfeksiyon uygulamasının etkinliğine dikkat edilmelidir [4]. Biyofilmlerin engellenmesinde biyofilmin yapısına bağlı olarak, farklı yöntemler kullanılabilir. Bunlar;

- Mekanik temizlik,
- Antimikrobiyal ajanların kullanımı,
- Gerekli besinlerin sağlanmaması ile biyofilm gelişiminin durdurulması,
- Bir yüzeye mikrobiyal tutunmanın kimyasallar ile engellenmesi
- Biyofilm yapısının ayrılmaya teşvik edilmesidir.

Biyofilmi uzaklaştırmak için öncelikle yüzeye mekanik kuvvet uygulanmalıdır. Mekanik temizlik, biyofilm oluşum aşamalarının önlenmesinde çok etkilidir. Çünkü mekanik

işlemler ile yapılan temizlik, jel temizleyicilerden ya da düşük basınçlı temizlik sistemlerinden daha etkilidir. Ancak her sistem mekanik temizlik için uygun değildir. Sistemlerde ulaşımı zor noktalar bulunmaktadır [37]. Mekanik temizliğin hemen ardından uygun kimyasal temizlik (mineral ve organik asitler kullanılır) yapılmalıdır. Kullanılan asitler metallerin korozyonuna neden olabileceğinden sistem korozyon inhibitörleri ile temizlenmelidir [37]. Son yıllarda biyofilm oluşumunu engellemek için elektriksel alanlar, katalize modifiye yüzeyler, ultrason, enzimler, amonyak ve formaldehit, deterjan maddeleri, yüksek basınçlı temizleme sistemleri gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır [4]. Enzimler, biyofilm matriksinde oluşan ekstraselüler polimerleri temizlemede etki sağlamaktadır. Çeşitli mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilm yapılarının giderilmesi için çeşitli spesifik enzimler kullanılmaktadır. Proteaz, α -amilaz ve β -glukanaz içeren karışık enzimlerin kağıt hamuru kullanımı ile endüstriyel imalathanelerde biyofilm oluşumu giderilmiştir [38].

TIP ve ENDÜSTRİYEL ALANDA BIYOFİLM

Biyofilm yıllardır endüstriyel ve tıp alanında bir sorun olarak ortaya çıkmıştır [39]. Endüstride mikroorganizmalar gıda temas yüzeylerinden tamamen uzaklaştırılmazsa biyofilm oluşturabilmektedir. Biyofilm oluşumunda ve gelişiminde bakteri suşları, materyal yüzey özellikleri ve çeşitli çevresel faktörler etkilidir [40].

Biyofilmlerin yapısının oluşumunda, mikroorganizmaların bulunduğu ortam koşulları, antimikrobiyal madde içeriği, sıcaklık, pH ve mevcut besin türü etkilidir. Bu süreçte çeşitli bakteri türleri görev almaktadır. Gıda endüstrisinde biyofilm oluşumunda yer alan mikroorganizmalar üretim şekline ve alanına göre değişmektedir. Süt endüstrisinde; *Enterobacter spp.*, *Listeria spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Bacillus spp.*, su ürünleri endüstrisinde; *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Bacillus spp.*, *Aeromonas*, *Pseudomonas spp.*, kümes hayvanları endüstrisinde; *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, et ensütrisinde *E. coli* O157:H7, *Acinetobacter calcoaceticus* ve son olarak hazır gıda endüstrisinde; *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7 mikroorganizmalarının biyofilm oluşumlarına rastlanılmıştır [41].

Dünya üzerinde en başarılı yaşam formu olan biyofilm tabakası ile mücadele, modern çağın en önemli sorunlarından biridir. Zor ortam koşullarında hızlı bir şekilde uyum sağlayan ve hızla gelişen biyofilmle ilişkili mikroorganizmalar, birçok alanda maddi ve manevi zararlara yol açmaktadır. Biyofilm oluşumunu kontrolünde ilk aşama bakterilerin yüzeye tutunmasının engellenmesi için hijyen ve sanitasyon kurallarından ödün verilmeden doğru ve etkili bir şekilde uygulanmalıdır. Biyofilm yapılarının engellenmesi için mekanik temizleme, temizlikte antimikrobiyal maddelerin kullanımı, enzimler, ultrason gibi yeni yöntemlerde biyofilm mücadelesinde kullanılmaktadır. Gıda sanayilerinde ise biyofilm HACCP sistemlerinin

oluşturulması uygulamaların etkin bir şekilde takip edilmesi ile giderilebilmektedir [25].

Tıp Alanı

Biyofilm ilk olarak dişteki plaklardan ortaya çıkmasıyla birlikte yabancı cisim ve birçok kronik enfeksiyonda gelişim göstermiştir [42]. Tüm mikrobiyal enfeksiyonların yaklaşık %65'i biyofilm kaynaklıdır. Hastanede yatan hastalardan alınan kültür örneklerinde kolonizasyon veya enfeksiyon etkeni bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneği görülmüştür. Planktonik formlarını azaltmak biyofilm kaynaklı enfeksiyon sayısını düşürebilmektedir [43].

Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlardan en sık raslanılan mikroorganizmalar *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus viridans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* olarak listelenmiştir. Bu mikroorganizmaların kaynağı hastanın florası, sağlık personellerinin elleri, çeşme suyu ya da çevresel yüzeylerdir [44].

Mikrobiyal biyofilmle hayatımızın neredeyse her alanında karşılaşmaktadır. Biyofilm oluşumu vücut içi ve vücut dışında olduğu gibi birçok yerde görülebilmektedir. Vücut içi kullanılan kateterlerde (vücut boşluğuna, damarına ya da kanalına sokulabilen tüp), kalıcı tıbbi cihaz kullanımında, kontak lenslerin kullanımında, bazı genetik hastalıklarda (kistik fibrozis gibi) ve oral ortamda görülebilmektedir. [45]. Biyofilmler ağız mukozası, mine gibi biyotik yüzeylerde ve diş hekimliğinde kullanılan cihazlarının hava su borularının iç yüzeylerinde (abiyotik yüzeylerde) gözlenmektedir [1].

Biyofilm oluşturan patojen mikroorganizmaların tespit edilmesi ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi, hastalıkların tedavisi bakımından oldukça önemlidir. Erdoğan ve Konak [46] yılında yaptıkları çalışmada [47] stafilokok izolatlarından biyofilm oluşturanlar yüksek antibiyotik konsantrasyonlarından (20-160 kat) etkilenmedikleri saptanmıştır. Bu durum, stafilokokların biyofilm oluşturduktan sonra test edilen antibiyotiklere karşı direnç kazandıklarının bir göstergesidir.

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesinde kan kültürlerinden izole edilen *E. coli* izolatlarında çeşitli antibiyotiklere karşı direnç oranları biyofilm pozitif suşlarda, negatif suşlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlarla biyofilm oluşturan izolatların antibiyotiklere karşı daha yüksek oranda direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Biyofilm oluşumunu engellemek için biyofilm matriksinin yıkımı ve biyofilm üzerine antibiyotik ilaç etkinliğinin artırılması gibi yaklaşımlar kullanılmaktadır [48].

Süt Endüstrisi

Biyofilmler, süt işleme tesislerinde bakteriyel kontaminasyonun temel kaynağıdır. Gıda endüstrisinde bulunan ekipmanların, su sistemlerinin biyofilmlerin oluşması gıda bozulmaları ve ekipman arızalanmaları sebebiyle ciddi ekonomik kayıplara neden olabilmektedir

[49]. Süt endüstrisinde biyofilm oluşumu sorunu günümüz teknolojik gelişmelere rağmen hala engellenememiştir. Süt, mikroorganizma gelişimi için uygun bir ortama sahiptir ve çok hızlı bozulabilen gıda ürünüdür. Süt endüstrisinde, biyofilm oluşumuna sebep olan en önemli mikroorganizmalar termodurik veya termofilik özellik gösteren basiller ve streptokoklar ile *Bacillus* türleridir. Bu mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilmler "proses biyofilmleri" olarak adlandırılmaktadır [50].

Biyofilm oluşumunda süt proteinleri önemli rol oynamaktadır. Süt endüstrisinde paslanmaz çelik yüzeyde oluşan biyofilm incelendiğinde α -kazein, β -kazein, k-kazein ve α -laktalbumin gibi süt proteinlerinin fraksiyonları *S. aureus* ve *Listeria monocytogenes* tutunmasını azalttığı gözlenmiştir. *S. aureus* kaynaklı biyofilm oluşumu basit genom yapıları sebebiyle çevreye kısa sürede uyum sağlayabilmekte ve uygun olmayan sıcaklık, pH, besin gibi çevresel stres koşullarında kolaylıkla gelişebilmektedir [51].

Biyofilm yapısını engellemek için biyofilm matrisini parçalayan bazı enzimler kullanılır. Alfa-amilaz, *Staphylococcus aureus* izolatları tarafından oluşturulan biyofilm yapısını, biyofilmin çözünmesini sağlar ve bakteri agregasyonunu önleyerek inhibe etmektedir. Bir nükleaz olan DNaz enzimi, yüzey adezini olarak görev yapan hücre yüzeyi ilişkili nükleik asitleri yıkarak ilk tutunmayı engellemektedir. Proteazlar ise hücre dışı pili, fimbriya gibi yapıları parçalayarak hücre-hücre ve hücre-yüzey etkileşimini azaltmakta ve bu şekilde biyofilm oluşumunu inhibe etmektedir [48].

Akçay ve Gündoğan 2019 yılında Ankara'da tüketime sunulan peynir ve çiğ süt örneklerinden izole edilen toplam 33 *Lactobacillus* izolatının biyofilm oluşumları ile antibiyotik dirençlilikleri incelemişlerdir [52]. Toplam 33 *Lactobacillus* spp. izolatının 12'si (%36.4) *L. plantarum*, 7'si (%21.2) *L. fermentum*, 8'i (%24.2) *L. brevis*, 3'ü (%9.1) *L. paracasei*, 2'si (%6.1) *L. zeae*, 1'i (%3.0) *L. amyolyticus* olarak tanımlanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, *Lactobacillus* izolatlarının %93.9'unun biyofilm ürettiği görülmüştür. Bu çalışmada genel olarak yüksek derece biyofilm oluşumu gözlenmiştir.

Süt endüstrisinde biyofilm oluşumunun önlenmesi bu nedenle güvenli, yüksek kaliteli süt gereksinimini karşılamada çok önemli bir adımdır. Süt ortamlarında, özellikle peynir gibi fermente ürünler üretenlerde, Laktik asit bakteri sayısı yüksek olduğunda, patojenlerin hem yüzeylere yerleşmeleri hem de çoğalmaları üzerinde güçlü bir antagonistik etkiye sahip olabileceği belirtilmektedir [53]. Süt işletmelerinde biyofilm oluşumunun engellenmesi için her zaman kaliteli hammadde almak, işletmede biyofilm oluşabilecek yüzeylerin takibini sürekli kontrol etmek, biyofilm oluşturma yeteneği yüksek mikroorganizmalara karşı etkili olan hijyen ve sanitasyon önlemlerini almak, HACCP planları oluşturmak ve uygulamak biyofilm yapısını engellemek için başvurulabilecek temel uygulamalardır [50].

Su Dağıtım Sistemleri

Biyofilm sağlık açısından su dağıtım sistemlerin de önemli sorunlara yol açmaktadır. Biyofilm suda serbest halde bulunan patojen mikroorganizmaların kaynağı olabilir ve patojen mikroorganizmanın biyofilm yapısından ayrılarak suya karışması ile salgın hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Biyofilm yapısında bulunan mikroorganizmalar metal yüzeylerde korozyonu artırabilmektedir [54].

Williams ve Braun-Howland, yaptıkları bir çalışmada [54] dinamik sistemden yararlanarak hipoklorik asit ve monokloramin varlığında *Escherichia coli* bakterisinin cam ve demir yüzeylerde biyofilm oluşturabilme kapasitesi ölçülmüştür. Çeşitli bakteri türlerinin biyofilm oluşumunda yapısal bir grup yüzey proteinleri önemli bulunmuştur. Bu grubunda ilk üyesi olarak *Staphylococcus aureus* mastitli sığırdan izole edilen BAP biyofilm oluşumunda gerekli olduğu bildirilmiştir. BAP bakterileri yüksek molekül ağırlıklı, biyofilm oluşturma kapasitesi sağlayan ve enfeksiyon aşamalarında önemli, 2276 amino asitlik bir proteindir. Yapılan çalışmalarla abiyotik yüzeylerde ve hücreler arası adezyon basamaklarında görev yaptığı gözlemlenmiştir.

Biyofilm bakterileri öncelikle klor olmak üzere dezenfektanlardan, toksinlerden, kuraklıktan, besinsizlikten, pH değişiminden, virüslerden korur ve hücreleri bir arada tutmaktadır. Biyofilm tabakası difüzyon kalkanı veya moleküler filtre görevi görerek mevcut mikroorganizmaları korumaktadır. Özellikle temizliği önemsenmeyen su tanklarında ve depolarda bakterilerin gelişimi için biyofilm tabakası ideal bir ortam oluşturmaktadır [55].

Su sistemlerinde çelik, polipropilen, polietilen, polibütan, ve bakır gibi birbirinden çok farklı maddelerden üretilmiş borular kullanılabilir. Kullanılan boru tipleri sistemin biyofilm tutabilme özelliğini değiştirmektedir. Su dağıtım sistemlerinde kullanılan demir, paslanmaz çelik vb. metal esaslı malzemeler ve polietilen ve polipropilenden yapılmış borularda meydana gelen biyofilm tabakası oluşumu incelenmiştir [54]. Bu boruların tercih nedenleri arasında korozyona dirençli olması, bakteri tutunmalarının azlığı, kurulum kolaylığı ve daha düşük maliyetli olması gelmektedir. 2 aylık deney periyodu sonunda, demir ve polietilen boruların iç yüzeyinde gözle görülebilen, beyaz ve kahverengi renkte, jel kıvamında ve heterojen yapıda ince bir biyofilm tabakasının olduğu gözlemlenmiştir. Bu tabaka özellikle demir boru sisteminde beyaz renkte olup oldukça kaygan ve kalın bir tabaka olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada polietilen boruların iç yüzeyinde ince bir biyofilm tabakası oluşmuştur. Demir boru sistemlerinde ise oldukça kalın biyofilm tabakası ve ilaveten oksit tabakası oluşmuştur [54].

Üç günlük bir *Bacillus* biyofilminin aşırı ısıtılmış suyla (30 dakika boyunca 125°C) muamelesi, bu bakterinin planktonik hücreleri için etkili bir temizleme yöntemi olmasına rağmen, onu tamamen etkisiz hale getirmede başarısız olmuştur. Gibson, Taylor, Hall ve Holah (1999) biyofilmin dezenfektanlara karşı direncini test etmiştir ve

ticari ürünlerin Easyclean (alkali bir deterjan) ve Ambersan'ın (asidik bir temizleyici) paslanmaz yüzeylerde *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* biyofilmlerine karşı etkili olmadığını bulmuştur. Çelik yüzeylerde mikroorganizma sayısında sadece 1 log azalma olduğu gözlemlenmiştir [56].

Biyofilm tabakalarının su sistemlerinde oluşumunu engellemek amacıyla önlemler alınmalıdır. Olgun biyofilm tabakasına dezenfektan etkisinin düşük olması sebebiyle mekanik temizlik gerektirmektedir. Mekanik temizliğin mümkün olmadığı yerlerde tortu önleyici ürünler kullanılarak biyofilm tabakasına dezenfektan erişimini kolaylaştırmaktadır. Biyofilm kontrolü su şebekelerinin sağlıklı işletilmesinde çok büyük öneme sahiptir [55].

Et Endüstrisi

Et endüstrisinde biyofilm oluşturma yeteneğiyle problem yaratan başlıca bakteriler *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, *Listeria monocytogenes* olarak sıralanmıştır. Özellikle üretim esnasında uygulanan traşlama, kesme, yıkama, çalkalama, drenaj sistemlerinin kullanımı ve paketleme gibi işlem basamaklarında biyofilm oluşumu ortaya çıkmaktadır [14]. Biyofilm, ürettiği bakteriye antibiyotiklerden, dezenfektanlardan, kimyasallardan korunma gibi birçok avantaj sağlamaktadır. Stafilokokların biyofilm oluşturma özellikleri sayesinde tıbbi aletlere, gıda işletmelerindeki ekipmanlara, tezgah yüzeylerine tutunabilmekte ve çapraz kontaminasyonla gıdalara bulaşabilmektedir. Gündoğan ve Ataol [57] 2012 yılında Ankara'da satışa sunulan kıyma ve tavuk örneklerinden stafilokokların izole edilmiş ve biyofilm üretimleri ile DNaz aktivitelerini araştırmıştır. Et örneklerinden (kıyma ve tavuk but) izole edilen stafilokok türleri Kıyma örneklerinden toplam 12 (%21,4), tavuk örneklerinden toplam 17 (%41,5) biyofilm pozitif izolat elde etmiştir. Kıyma örneklerinde üç *S. aureus* (%50), bir *S. epidermidis* (%50), bir *S. hominis* (%14) ve yedi *S. xyloso* (%19) izolatında biyofilm üretimi saptanmıştır. Tavuk örneklerinde de üç *S. hominis* (%50), bir *S. capitis* (%11,1), dört *S. cohnii* (%40) ve dokuz *S. simulans* (%69,3) izolatında biyofilm üretimi gözlemlenmiştir.

Özellikle tavuk eti olmak üzere gıdalarla bulaşan en önemli patojenlerden biri olan *Salmonella*, çeşitli yüzeylerde biyofilm oluşturabilmektedir. Domuz mezbahalarında hayvan ve çevresel kaynaklardan (et ile temas eden ve temas etmeyen yüzeyler) izole edilen 40 *S. enterica* izolatı, 22°C'de inkübasyondan sonra oluşan biyofilm miktarını 35°C'de inkübasyondan sonra oluşan biyofilm miktarından önemli ölçüde yüksek olduğunu görülmüştür. Domuz zincirinden alınan 172 *S. Typhimurium* izolatının, tanımlanmış çevresel büyüme koşulları altında bir dizi farklı yüzeylerde biyofilm oluşturma yetenekleri için özellikleri, suşların çoğunun yüzeye bağlı olarak biyofilm oluşturma yeteneklerine sahip olduğunu ortaya koymuştur ve ayrıca bu formda yüksek klor konsantrasyonlarında hayatta kalmıştır [53].

L. monocytogenes, esas olarak bağışıklığı baskılanmış bireyleri etkileyen nispeten nadir ancak yaşamı tehdit eden bir hastalık olan listeriosise neden olan gıda

kaynaklı önemli bir patojendir. İşleme ekipmanına yapışıp biyofilm üretebilmektedir. Et işleme ortamlarından elimine edilmesini zorlaştırmaktadır ve ürünlerin potansiyel kontaminasyonuna neden olmaktadır [53].

S. aureus, çeşitli gıdalarda ısıya dayanıklı bir dizi enterotoksin üreterek insanlarda gıda kaynaklı zehirlenmelere neden olan başlıca bakteri türlerinden biridir. Gıda ile temas eden yüzeylerden izole edilen *S. aureus*, 28 ve 7°C'de et bazlı bir et suyunda yetiştirildiğinde polipropilen yüzeyler üzerinde yüksek yapışma ve biyofilm oluşturma kapasitesi sergilemiştir. Ayrıca, biyofilm hücreleri sodyum hipoklorit (250 mg/L) ve perasetik asit (30 mg/L) dezenfektanlarına maruz bırakıldıklarında tamamen yok edilememiştir [53].

Biyofilm oluşumu çürükçül ve patojen mikroorganizmaların gıda ya da gıda yüzeylerine tutunma ihtimali bulunması sebebiyle hijyen ve gıda güvenliği istenmemektedir. Gıda endüstrisinde her yıl gıda kökenli patojen mikroorganizmalar önemli derecede ekonomik kayıplara yol açmaktadır [58]. Biyofilm et işletmelerinde işleme ve paketlemede önemli kontaminasyonlara neden olduğu, ürünün raf ömrünü azaltarak ekonomik kayıplara neden olduğu gözlemlenmiştir. Gıdalarla yapılan farklı çalışmalar incelendiğinde soslu sandviç ve etli salataların hazırlandığı yüzeylerden alınan örneklerden izole edilen *L. monocytogenes* suşları, karma bir şekilde paslanmaz çelik ve plastik yüzeylere bırakılıp biyofilm oluşturma güçleri incelenmiştir. Sonuçta üretim yüzeyindeki yağ ve ürün kalıntılarının biyofilm oluşumunu zamanla arttırdığı ve plastik yüzeylerde paslanmaz çelik yüzeylere göre daha iyi bir gelişim olduğu bildirilmiştir [25].

Su Ürünleri Endüstrisi

Su ürünleri protein ve diğer azotlu bileşenleri içermeleri sebebiyle besin değeri yüksektir. Bu nedenle mikrobiyal bozulmaya karşı hassastır. Su ürünlerinin üretildiği işletmelerde, bakterilerin yüzeye tutunduğu yerden tamamen uzaklaştırılmadığı durumlarda gıda kalitesini ve güvenliğini tehdit eden biyofilm oluşumlarının incelendiği çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmaların birinde balık derisinde biyofilm gelişiminin 14 saat içinde olabileceği ortaya konmuştur [59].

Dünyada bulunan mikroorganizmaların biyofilm içerisinde bulunma oranının %80 olduğu gözlemlenmiştir. Balık sağlığı üzerinde mikrobiyal biyofilmlerin etkisinin önemli olduğu görülmüştür. Balık enfeksiyonlarına neden olan ve biyofilm oluşturan mikroorganizmalar araştırıldığında *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Bacillus* ve *Aeromonas* bakterilerinin yer aldığı gözlenmiştir [38].

Balık patojenlerinin ahşap, metal, fiberglas, cam üzerinde güçlü biyofilm oluşturduğu görülmüştür. Yetiştiricilik ünitelerinde çokça kullanılan bu dört materyalde güçlü biyofilm oluşumunun varlığı balık sağlığı üzerinde ciddi bir tehdit unsurudur. Su ürünleri yetiştiriciliğinde balığın vücudunda ve tesislerde kullanılan metal yüzeyler, dondurucular, balık ağları gibi birçok materyalin yüzeyinde biyofilm görülmektedir [60].

Taşıma bantlarından (*Listeria*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Brochothrix*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus* ve *Chryseobacterium*) izole edilen tüm cinsleri temsil eden bir bakteri izolatları karışımı, yaklaşık 109 paslanmaz çelik yüzeylerinde (12°C, somon suyu) stabil biyofilmler oluşturmuştur. 2 gün sonra CFU/cm². Yüksek verimli dizileme, *L. monocytogenes*'in biyofilm popülasyonunun %0.1-0.01'ini temsil ettiğini ve *Pseudomonas spp.*'nin baskın olduğunu göstermiştir [53].

Balık endüstrisinde biyofilm oluşumunu durdurmada esas amaç bakterilerin biyofilm yapısını oluşturmadan önce engellenmesidir. Biyofilm oluşturamamış bakteriler düşük enfeksiyon gücüne sahiptir. Balık hastalıklarıyla mücadelede biyofilm oluşumunun engellenmesinin önemli olduğu gözlemlenmiştir [60]. Balık endüstrisinde biyofilmin engellenmesi için malik asit, lizozim, sarımsak yağı, kekik yağı araştırılmıştır. Bu araştırmalar ışığında biyofilm yapısını engelleyici özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir [61].

SONUÇ

Biyofilm yapıları uygun ortam sağlandığında kolaylıkla çoğalıp, özellikle tıp alanında ve gıda sanayisinde ciddi sorunlara yol açmaktadır. Gıda kaynaklı bakteriyel patojenler olmak üzere birçok mikroorganizma, büyümeyi etkileyen kritik çevre koşulları uygun olduğunda hem biyotik hem de abiyotik çeşitli yüzeylere tutunmayı ve bunlar üzerinde biyofilm oluşturmaya tercih etmektedir. Gıda işleme ortamlarında bu tür biyofilm oluşumu, gıda kontaminasyonuna ve hastalıkların bulaşmasına yol açabilmektedir [53].

Biyofilmler su boru hatları, su depoları, süt toplama tankları, makine ve teçhizat yüzeyleri ile gıdaların temas ettiği alanlarda kolaylıkla gelişip çoğalmaktadır. Biyofilm yapılarının engellenmesi için özellikle kullanılan alet ve ekipmanların temizliğine dikkat edilmelidir. Gıda endüstrisinde ve tıp alanında hijyen ve sanitasyon kurallarına uyularak etkin bir temizlik ile biyofilm yapısının önlenilebileceği gözlemlenmiştir.

Gıda endüstrisinde gıda kalitesini ve güvenliğini kontrol etmek için İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practice, GMP) ve Tehlike Analizi ve Kritik Kontrol Noktaları (Hazard Analysis and Critical Control Points, HACCP) oluşturulmuştur. Gıda üretim sürecinde kullanılan yüzey ve ekipmanlar biyofilm oluşturan mikroorganizma türüne göre uygun dezenfektanlar ile temizlenmelidir. Son yıllarda biyofilm oluşumu ve gelişimi endüstride ciddi sorunlara yol açtığı için yüzeyde oluşan biyofilm yapılarının engellenmesinde enzimler, CIP ve HACCP sistemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bakteriyel biyofilmler, gıda işleme tesislerinde kullanılan HACCP sisteminde tam olarak ele alınmamıştır. Bu nedenle, gıda ortamlarında biyofilmin araştırılması ve etkili bir sanitasyon planının geliştirilmesi HACCP sisteminde dikkate alınmalıdır. Gıda fabrikalarında biyofilm değerlendirilmesine sahip üst düzey bir HACCP, kontaminasyon hakkında daha net bilgi sağlayacak ve gıda endüstrisinde biyofilm içermeyen işleme sistemlerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır [56].

Biyofilmler kimyasal ve fiziksel işlemlere karşı oldukça dayanıklıdır. Dezenfektan kalıntıları da zararlıdır. Bu nedenle gıda endüstrisinde kullanım için güvenli biyofilm inhibitörlerinin araştırılması gerekmektedir. Geleneksel kimyasal ve fiziksel yöntemlerin sağlık ve çevreye karşı olumsuz etkilerini önlemek için de biyolojik anti-biyofilm ajanlarının geliştirilmesinde kullanılabilecek mikroorganizmaların araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Tek güçlü biyolojik bir ajan, biyofilmlerin zayıflamasını indükleyebilir ancak gıdalarda bakteri türleri tarafından oluşturulan olgun biyofilmleri önlemede veya inhibisyonunda yetersiz kalabilmektedir. "Engeller teknolojisi" olarak adlandırılan iki veya daha fazla kontrol yaklaşımının doğru kombinasyonu bu sorunun üstesinden geleceği düşünülmektedir [62].

Pratikte herhangi bir biyofilm yapısını engellemek veya yok etmek deneysel ortamda oluşturulan tek tür biyofilmleri incelemekten çok daha karmaşık bir durumdur. Ancak deneysel ortamdan elde edilen bilgiyi başarılı bir şekilde endüstri ortamına uygulayabilmek için biyofilmler araştırılmalıdır. Kontrol stratejilerini değerlendirmede daha iyi model sistemler ve daha güvenilir teknikler geliştirilmelidir [53]. Özellikle son yıllarda biyofilm oluşumunun önlenmesi ya da oluşan biyofilmin ortadan kaldırılması hususunda ortaya çıkan teknolojik gelişmeler, biyofilm konusunun önemini ve güncelliğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Kam Hepdeniz, Ö., Seçkin, Ö. (2017). Dinamik mikrobiyal bir yaşam: Oral biyofilmi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 8(3), 47-55.
- [2] Tülüçe, G., Temelli, S., Eyigör, A. (2021). Gıda ortamında hayata tutunma: bakteriyel çoğunluk algılama. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 92(1), 83-94.
- [3] Çelik, Ç.E. (2018). *Salmonella Typhimurium* Biyofilm Yapılarında Edna'nın Rolü ve Biyofilm ile Mücadelede Enzim ve Antibiyotik Uygulaması Yoluyla Biyofilm Yapılarının Zayıflatılması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [4] Gün, İ., Ekinci, F.Y. (2009). Biyofilmler: Yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda Dergisi*, 34(3), 165-173.
- [5] Sakr, E.A.E., Massoud, M.I., Ragaei, S. (2021). Food wastes as natural sources of lactic acid bacterial exopolysaccharides for the functional food industry: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 189, 232-241.
- [6] Wang, B., Song, Q., Zhao, F., Xiao, H., Zhou, Z., Han Y. (2019). Purification and characterization of dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* PC as a potential exopolysaccharide suitable for food applications. *Process Biochemistry*, 87, 187-195.
- [7] Büyüktarakçı Koç, B. (2015). Mastitisli Sütlerden İzole Edilen Stafilokokların Biyofilm Üretme Yeteneğinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- [8] Köse, H. (2014). *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* Biyofilm Tabakası Üzerine Çeşitli Dezenfektanların Etkinliğinin Karşılaştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- [9] Gupta, P., Sarkar, S., Das, B., Bhattacharjee, S., Tribedi, P. (2016). Biofilm, pathogenesis and prevention-a journey to break the wall: a review. *Arch Microbiol*, 198, 1-15.
- [10] Flemming, H.C., Winender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Scott, A., Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563-575.
- [11] Akçelik, N., Akçelik, M. (2017). Bakteriyel biyofilmler ve konakçı savunma sistemi ile etkileşimleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 33(1), 15-28.
- [12] Kuba, M. (2012). İçme Suyu Pompalarında *Escherichia coli*'nin Oluşturduğu Biyofilm Yapısının İncelenmesi ve Oluşmasının Önlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- [13] Biçer, M. (2018). Bakteriyel Biyofilm Oluşumunu Engelleyecek Moleküllerin Sentezi ve Anti-Biyofilm Etkinliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Çorum.
- [14] Orhan Yanıkan, E. (2020). Et Kaynaklı Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Yeteneklerinin ve Antibiyofilm Duyarlılıklarının Araştırılması. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [15] Akın, N., Akın, M. (2010). Gıda Mikrobiyolojisine Giriş, Önemli Mikroorganizmalar ve Mikroorganizma Kaynakları. Gıda Mikrobiyolojisi (Editör: O. Erkmen) Efil Yayınevi, Ankara.
- [16] Demirhisar, M.A. (2010). Bazı Patojenik Bakterilerin Su Ürünleri İşletmelerinde Kullanılan Yüzeylerde Biyofilm Oluşturmasına Dezenfektanların Etkisi. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, İzmir.
- [17] Ünal, D. (2011). Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Staphylococcus* ve *Candida* Cinsi Mikroorganizmalarda Biyofilm Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [18] Akyıldız, S. (2015). Gıda Kaynaklı Salmonella İzolatlarında Biyofilm Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [19] Çece, E.N. (2011). *Staphylococcus epidermidis* Biyofilmlerine Karşı Antimikrobiyal Aktivite Gösteren Bakteriyofajların İzolasyonu ve Karakterizasyonu. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ankara.
- [20] Devaraj, A., Buzzo, J.R., Mashburn-Warren, L., Gloag, E.S., Novotny, L.A., Stoodley, P., Bakaltz, L., Goodman, S.D. (2019). The extracellular DNA lattice

- of bacterial biofilms is structurally related to Holliday junction recombination intermediates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(6), 50-60.
- [21] Montanaro, L., Poggi, A., Visai, L., Ravaioli, S., Campoccia, D., Speziale, P., Arciola, C.R. (2011). Extracellular DNA in biofilms. *The International Journal of Artificial Organs*, 34(9), 24-31.
- [22] Güneş, B. (2018). *Enterococcus Faecalis* Biyofilm Yapısında eDNA' nın Rolü ve Biyofilmi ile Mücadelede Enzim ve Antibiyotik Uygulanmasıyla Biyofilm Yapılarının Zayıflatılması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [23] Özdemir, T. (2014). Yara Yerinden İzole Edilen *Staphylococcus Aureus* Suşlarının Biyofilm Oluşumunun Konvansiyonel ve Moleküler Yöntemlerle İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [24] Osmanı, A. (2020). Antifungal-Daptomisin Kombinasyonlarının *Candida albicans-Staphylococcus epidermidis* Biyofilmine, Antifungal-Meropenem Kombinasyonlarının *Candida albicans-Pseudomonas aeruginosa* Biyofilmine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi. Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli.
- [25] Duran, T. (2011). Midye Kabuğu Tozunun Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Oluşan Biyofilm Temizleme Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Sakarya.
- [26] Onur, M. (2021). Aydın İlinde Satış Tezgahlarında Tüketime Sunulan Gıdalarda Biyofilm Oluşturan Bakterilerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- [27] Taşkan, B. (2019). Membran Biyofilm Reaktöründe Biyofilm Kalınlığının Sinyal İletiminin Önlenmesi Yöntemi ile Kontrolü. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Elazığ.
- [28] Canberi, H.A., URL, (2020). Evrim Ağacı. <https://evrimagaci.org/biyofilm-nedir-biyofilm-olusumu-neden-onemlidir-8514>, (Erişim Tarihi:02.06.2020).
- [29] Germeç, M. (2014). Keçiboynuzu Ekstraktı Kullanılarak Tekrarlanan-Kesikli Fermentasyon Yöntemiyle Biyofilm Reaktörde Etanol Üretimi. Yüksek Lisans Tezi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Antalya.
- [30] Yaman Dosdoğru, E., Pınar Erdem, A., Sepet, E., Aytepe, Z. (2014). Restoratif Materyallerin Dental Biyofilm Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 24(8), 89-97.
- [31] Ünal, D., Tayfur, M. (2017). Biyofilm, *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 21(2), 108-114.
- [32] Yesilcimen Akbas, M., Şar, T. (2018). *B. cereus* biyofilmlerinin sitrik asit uygulamaları ile kontrolü. *Gıda Dergisi*, 43(4), 605-616.
- [33] Evren, M., Apan, M., Tutkun Şıvgın, E., Yegin, B. (2018). Gıdalarda Biyofilmin Önemi. Türkiye 13. Gıda Kongresi Poster Sunumu.
- [34] Karaderi, C.C., Kahraman, H. (2018). *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'ün evsel atık kızartma yağ ortamında biyofilm oluşumu, bakteri hücre sayımı ve hücre yoğunluğu. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 3(2), 118-121.
- [35] Aydemir Hançer, D. (2018). Bakteriyel biyofilmlerin biyolojik önemi ve etkili kontrol stratejileri. *Türk Yaşam Bilimleri Dergisi*, 3(1), 218-230.
- [36] Filik, F., Kubilay, A. (2019). Bazı bakteriyel balık patojenlerinde biyofilm oluşumunun farklı in vitro metodlarla tespiti. *Türk Su Bilimleri Dergisi*, 15(3), 378-390.
- [37] Doğruöz, N. (2014). Endüstriyel sistemlerde mikrobiyolojik korozyon ve önlenmesi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(1), 26-38.
- [38] Kılıç, T. (2016). Yüksek Miktarla Biyofilm Oluşturan Termofilik Basillerin Çeşitli Yüzeylerdeki Biyofilm Yapılarının Analizi ve Biyofilmin Giderimi ile Biyokorozyonun Önlenmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [39] Öztürk, Ş.B., Sakarya, S., Öncü, S., Ertuğrul, M.B. (2008). Biyofilmler ve yabancı cisim infeksiyonları. *Klinik Dergisi*, 21(3), 79-86.
- [40] Karaoğlu, B. (2020). Balık Patojeni *Staphylococcus Warneri*, *Aeromonas Sobria*, *Aeromonas Hydrophila* Suşlarının Biyofilm Oluşturma Yeteneklerinin Elektron Mikroskopi Tekniği ile İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Isparta.
- [41] Ünal Turhan, E., Erginkaya, Z. (2019). Bakteriyel biyofilmlerdeki antimikrobiyel direnç mekanizması. *Akademik Gıda*, 17(1), 131-139.
- [42] Yavuz, G., Türetgen, İ. (2018). Nanoteknolojik dezenfektanların heterotrofik biyofilmler üzerine etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 75(4), 323-332.
- [43] Hortaç İstar, E., Eda Alışkan, H.E., Başustaoğlu, A. (2020). Metisiline duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni Dergisi*, 54(2), 223-234.
- [44] Beğendik, F. (2003). İnfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyolojide biyofilm. *Flora Dergisi*, 8(4), 271-277.
- [45] Bağlar, S., Örün, T., Keskin, E. (2015). Doğal yaşam ve oral dokularda biyofilm. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 16(3), 41-50.
- [46] Erdoğan, S.F., Konak, S. (2020). Bazı antibiyotiklerin biyofilm oluşturan stafilokok izolatları üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 838-845.
- [47] Halipçi Topsakal, H.N., Aydoğan, O., Özdemir S., Köksal Çakırlar F. (2019). Kan kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* izolatlarının biyofilm oluşumu ve antibiyotik direnci üzerine etkisi. *Experimed*, 9(2), 60-64.
- [48] Altınok, Ö., Gürpınar, Ö., Eser, Ö. (2018). Bakteriyel biyofilmler. *Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi*, 1(2), 45-51.

- [49] Kılıç, T., Karaca, B., Çöleri, Cihan, A. (2021). Abiyotik yüzeylerde termofilik *Anoxybacillus Rupiensis* DSM 17127t suşunun oluşumu ve polistiren yüzeyler üzerindeki biyofilm yapısının giderimi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(2), 455-470.
- [50] Ayhan Kütük, D. (2016). Süt İşletmelerinde Biyofilm Oluşturan Mikroorganizmalar ve Biyofilm Oluşumunun Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [51] Kaya, F. (2016). Süt İşletmelerinden İzole Edilen *Staphylococcus Aureus* Suşlarında icaA ve icaD Genleri ve Biyofilm Üretimini Tespiti. Yüksek Lisans. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Konya.
- [52] Akçay, D., Gündoğan N. (2019). Çiğ süt ve peynir örneklerinden izole edilen *Lactobacillus tür*'lerinin slime ve biyofilm oluşumları ile antibiyotik dirençliliklerinin incelenmesi. *SETSCI Conference Proceedings*, 4(1), 634-639.
- [53] Giaouris, E.E., Simoes, M.V. (2018). Pathogenic Biofilm Formation in the Food Industry and Alternative Control Strategies. *Foodborne Diseases*, Edited by: Alina Maria Holban and Alexandru Mihai Grumezescu, Academic Press, 309-377.
- [54] San Keskin, N.O., Kahveci, E.F. (2019). Polietilen ve demir boru sistemlerinde oluşan mikrobiyel biyofilmlerin karakterizasyonu. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31(1), 1-8.
- [55] Türetgen, İ. (2006). Su şebeke sistemlerinde mikrobiyal biyofilm tabakası. *Tesisat Mühendisliği Dergisi*, 92, 29-32.
- [56] Shi, X., Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 407-413.
- [57] Gündoğan, N., Ataoğlu, Ö. (2012). Et örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokok'ların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitelerinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(3), 135-142.
- [58] Dinçer, E., Tutar, U. (2017). *Listeria* standart suşlarının zamana bağlı biyofilm oluşturma kapasiteleri. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 38(2), 322-328.
- [59] Yaman, F. (2019). Balıklarda Biyofilm Oluşumu ve Kontrolü, İzole Edilen Bakterilerin Moleküler Tanısı. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans, 5-7.
- [60] Pippo, F.D., Gregorio, L.D., Congestri, R., Tandoi, V., Rossetti, V. (2018). Biofilm growth and control in cooling water industrial systems. *FEMS Microbiology Ecology*, 94, 1-13.
- [61] Galie, S., Garcia-Gutierrez, C., Miguelez, E.M., Villar, C.J., Lambo, F. (2018). Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 898.
- [62] Touthik, S.H., Rahaman Mizan, M.F., Hossain, M.I., Ha, S.D. (2020). Fighting with old foes: The pledge of microbe-derived biological agents to defeat mono- and mixed-bacterial biofilms concerning food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 413-425.
- [63] Laxmi, M., Sarita, G.B. (2018). Biofilms in Food Industry: Mitigation Using Bacteriophage. *Advances in Biotechnology for Food Industry*, Edited by: Alina Maria Holban and Alexandru Mihai Grumezescu, Academic Press, 393-423.