



***Pistia stratiotes*'in yaprak ve kök özütlerinin hayvansal gıdalardan izole edilen *Enterococcus* ve *Staphylococcus*'ların biyofilmleri üzerine anti-biyofilm etkisinin araştırılması**

Meryem Burcu Külahcı^{1*}, Ebru Beyzi², Nebahat Aytuna Çerçi³

^{1*} Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara, Türkiye (ORCID: 0000-0002-5007-5209), meryemburcu@gazi.edu.tr

² Gazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Ankara, Türkiye (ORCID: 0000-0002-5292-9554), beyzi@gazi.edu.tr

³ Kırıkkale Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kırıkkale, Türkiye (ORCID: 0000-0002-7864-7213), aytunacerci@gmail.com

(2nd International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences ICAENS 2022, March 10-13, 2022)

(DOI: 10.31590/ejosat.1082798)

ATIF/REFERENCE: Külahcı, M.B., Beyzi, E., & Çerçi, N.A. (2022). *Pistia stratiotes*'in yaprak ve kök özütlerinin hayvansal gıdalardan izole edilen *Enterococcus* ve *Staphylococcus*'ların biyofilmleri üzerine anti-biyofilm etkisinin araştırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (34), 453-457.

Öz

Makrofitler, besin değerlerinin yüksek olmasının yanı sıra antibakteriyel ve anti-biyofilm ajanları olarak da doğal bir kaynak olarak bilinmektedirler. *Pistia stratiotes* (Su marulu/Su lahanası), *Araceae* (Yılanyastığıgiller) familyasına ait olan sucul bir bitki türü olup, akarsu, göl ve bataklıkların sığ olan bölgelerinde yüksek yayılış göstermekte, üstü açık akvaryumlarda ve bahçe havuzlarında da üretimleri mümkün olmaktadır. *Pistia stratiotes*'in antioksidan, antimikrobiyal, antialerjik ve antikanserijenik özellikte olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Kök ve yapraklarının metanol, etanol, su, eter gibi maddelerle yapılan özütleri ile yapılan çalışmalarda yüksek oranda fenolik ve flavanoid içeriğine sahip olduğu ve serbest radikal süpürme, metal şelatlama gibi antioksidan aktivitesi olduğu gösterilmiştir. Araştırmamızda, *Pistia stratiotes*'in kök ve yapraklarının etanol özütlerinin, daha önceki çalışmalarda antioksidan ve antimikrobiyal etkili olduğu belirlenen 500 µg/ml konsantrasyonunun, biyofilm ürettiği belirlenmiş olan 5 *Staphylococcus* ve 17 *Enterococcus* izolatu ile pozitif kontrol olarak *Staphylococcus aureus* 29213 ve *Enterococcus faecalis* 29212 üzerine anti-biyofilm etkisi çalışılmıştır. Biyofilm üretimi ve anti-biyofilm testleri, 96 kuyucuklu mikropakta, kristal viyole ile boyanarak yapılmıştır. Yapılan test sonuçlarına göre, *Pistia stratiotes*'in yaprak özütü, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (%inhibisyon±SEM: 96±0,06 µg/ml), *Enterococcus faecalis* 29212 (%inhibisyon ±SEM: 88,5±0,01 µg/ml) ile birlikte 4 *Staphylococcus* ve 5 *Enterococcus* izolatında kontrole göre anlamlı olarak (p<0,05) anti-biyofilm özelliği göstermiştir. Kök özütü ise tek bir *Staphylococcus* izolatında kontrole göre anlamlı (%inhibisyon±SEM: 86,8±0,02 µg/ml) (p<0,05) bir inhibisyon göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pistia stratiotes*, Anti-biyofilm, *Enterococcus*, Biyofilm, Özüt

Investigation of the anti-biofilm effect of leaf and root extracts of *Pistia stratiotes* on the biofilms of *Enterococcus* and *Staphylococcus* isolated from animal foods

Abstract

Macrophytes are known as a natural source of antibacterial and anti-biofilm agents in addition to their high nutritional value. *Pistia stratiotes* (Water lettuce/Water cabbage) is an aquatic plant species belonging to the *Araceae* family, and it is widely distributed in shallow areas of streams, lakes, and swamps, and it is possible to produce in open aquariums and garden ponds. Studies are showing that *Pistia stratiotes* has antioxidant, antimicrobial, antiallergic, and anticarcinogenic properties. In studies conducted with extracts of its roots and leaves with substances such as methanol, ethanol, water, and ether, it has been shown that it has high phenolic and flavonoid content and antioxidant activity such as free radical scavenging and metal chelating. In our research, 500 µg/ml concentration of ethanol extracts of the roots and leaves of *Pistia stratiotes*, which was determined to have antioxidant and antimicrobial effects in previous studies, was used. Anti-biofilm effect was studied on 5 *Staphylococcus* and 17 *Enterococcus* isolates, which were determined to produce biofilm, and on *Staphylococcus aureus* 29213 and *Enterococcus faecalis* 29212 as positive controls. Biofilm production and anti-biofilm tests were performed on a 96-well microplate by staining with crystal violet. According

* Sorumlu Yazar: meryemburcu@gazi.edu.tr

to the test results, the leaf extract of *Pistia stratiotes*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (%inhibition±SEM: 96±0.06 µg/ml), *Enterococcus faecalis* 29212 (%inhibition ±SEM: 88.5±0.01 µg/ml) and 4 *Staphylococcus* and 5 *Enterococcus* isolates showed significant anti-biofilm properties (p<0.05) compared to the control. The root extract, on the other hand, showed a remarkable inhibition (%inhibition±SEM: 86.8±0.02 µg/ml) (p<0.05) in a single *Staphylococcus* isolate compared to the control.

Keywords: *Pistia stratiotes*, Anti-biofilm, *Enterococcus*, Biofilm, Extract

1. Giriş

Sulak alanların önemli bileşenlerinden biri olan makrofitler; göz tarafından tür seviyesine kadar teşhis edilebilen suda yaşayan bitkiler olarak ifade edilmektedir [1]. Makrofitler, çeşitli yollarla kimyasal elementlerin sedimentten suya aktarılmasını sağlayarak besin döngüsünü önemli derecede etkilemektedir [2]. Makrofitler tarafından salınan fosfor ve azot gibi sınırlayıcı besinler, mikro algler ve bakteriler tarafından kullanılmaktadır. Makrofitleri gruplandırmak için; submergens, yüzen yapraklı bitkiler, serbest yüzen bitkiler ve emergens kategorileri kullanılmaktadır. Araceae familyası serbest yüzer bitkileri içinde bulundurmaktadır. *Pistia stratiotes* de bu familyada yer almakta, çeşitli kaynaklarda su marulu veya su lahanası olarak da isimlendirilmektedir [1]. Bu bitkinin ve özütlerinin tıbbi etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Taze yaprakları saçkıran hastalığının tedavisinde, özütleri, tüberküloz, sifiliz ve dizanteri tedavisinde kullanılmaktadır [3]. Çeşitli araştırmalarda, bu bitki ve özütlerinin aynı zamanda antidiyabetik, diüretik, antioksidan, ağır metal giderici, dekolorize edici, sitotoksik, antikanser, antimikrobiyal, nörofarmakolojik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [4], [5], [6], [7], [8].



Fotoğraf 1. Akvaryumda çoğaltılan *Pistia stratiotes*'in görüntüsü (Fotoğraf Arş. Gör. Dr. M. Burcu Külahcı tarafından çekilmiştir.)

Biyofilm, mikroorganizmalar tarafından hücre dışı polimerik malzemelerden oluşturulan bir matrikstir. Bu matriks mikroorganizmaların herhangi bir yüzeye, arayüze veya birbirlerine yapışmalarını sağlamaktadır [9]. Biyofilm oluşturmak için bakterilerin kullandığı mekanizmalar, sıklıkla çevresel koşullara ve spesifik suş özelliklerine bağlı olarak değişmektedir [10]. Biyofilmler, birçok farklı yüzey ve ortamda kolayca oluşabilmeleri sebebiyle, insan sağlığı, gıda endüstrisi, çevre ve tarım alanlarında farklı etkilerle kendisini göstermektedir ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır [11].

Staphylococcus ve *Enterococcus*'lar önemli gıda kontaminantlarından olmakla beraber, çeşitli klinik enfeksiyonlara ve gıda zehirlenmesine de neden olmaktadır. Gıda zincirinde yaygın olarak bulunmalarıyla ilgili temel endişe, fırsatçı enfeksiyonlar ve antibiyotik direnç genleri için bir rezervuar olarak rolleridir. *Staphylococcus* ve *Enterococcus* türlerinin biyofilm oluşturma eğilimleri oldukça yüksektir. Bu sebeple gıda endüstrisinde biyofilm, gıdalara mikroorganizmaların bulaşına neden olduğundan ciddi bir önem arz etmektedir [12].

2. Materyal ve Metot

Araştırmamızda materyal olarak, Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Mikrobiyoloji laboratuvarında hayvansal kaynaklı gıdalardan (çiğ süt, peynir, çiğ tavuk eti ve çiğ dana eti) izole edilen ve MALDI-TOF MS cihazı ile tür tanımlaması yapılmış olan 10 *Staphylococcus* ve 20 adet de *Enterococcus* izolatu kullanılmıştır (Tablo 2). Kontrol suşu olarak *Staphylococcus aureus* 29213 ve *Enterococcus faecalis* 29212 kullanılmıştır.

2.1. *Pistia stratiotes* kök ve yaprak özütlerinin elde edilmesi

Kurutulup toz haline getirilmiş *Pistia stratiotes* kök ve yapraklarının özütleri (1g/20ml) %60 etanol içerisinde, mikrodalga cihazında 850 Watt'da 90 saniye bekletilerek, elde edilmiştir. Elde edilen özütler 2500 rpm de 20 dakika santrifüj edilerek, üst fazları alınarak analizler yapılana kadar -4°C'de muhafaza edilmiştir [13].

2.2. Bakteri izolatlarının biyofilm üretimi

Staphylococcus ve *Enterococcus* izolatlarının biyofilm üretimi Stepanović ve ark.'nın belirttiği yöntem ile yapılmıştır [14]. Bakteri izolatları %1 glikoz içeren Triptik Soy Broth besiyerinde çoğaltıldıktan sonra, 1,5-3 x 10⁸ hücre yoğunluğunda ayarlanarak, 96 kuyucuklu mikropalakalara 200 µL aktararak 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kuyulardaki besiyeri uzaklaştırılarak 200 µL steril distile su ile 3 defa yıkanmıştır. Oluştugu öngörülen biyofilmler, kuyucuklara %99'luk metanol eklenerek sabitlenmiş ve %2'lik kristal viyole ile boyanıp mikropalakalar kurutulmuştur. Kuruyan mikropalakaların her kuyucuğuna %96'lık etanol eklenip, boyanın çözünmesi sağlandıktan sonra 570nm'de spektrofotometrik olarak ölçümleri yapılmıştır. Değerlendirmeler Tablo 1'e göre yapılmıştır. Güçlü yapışma gösteren izolatlar anti-biyofilm çalışması için seçilmiştir.

Tablo 1. Biyofilm derecelendirme kriterleri

OD Değeri	Adezyon	Biyofilm Derecesi
OD≤OD _c	yapışma olmayan	0
OD _c <OD≤2 x OD _c	zayıf yapışma	I
2 x OD _c <OD≤4 x OD _c	orta derecede yapışma	II
4 x OD _c <OD	güçlü yapışma	III

2.3. *Pistia stratiotes* kök ve yaprak özütlerinin anti-biyofilm özelliklerinin belirlenmesi

Pistia stratiotes kök ve yaprak özütlerinin anti-biyofilm özelliklerinin belirlenmesi için, güçlü yapışma gösterdiği belirlenen 5 *Staphylococcus* ve 17 *Enterococcus* izolatı kullanılarak, biyofilm belirleme için kullanılan yöntem, kuyucuklara son konsantrasyon 500 µg/ml olacak şekilde özüt eklenerek tekrar edilmiştir [7].

2.4. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz (Tek yönlü Anova, non-parametrik Friedman testi) ve ortalamasının standart hatası (SEM) hesaplamaları GraphPad Prism 8.4.2. programı ile yapılmıştır.

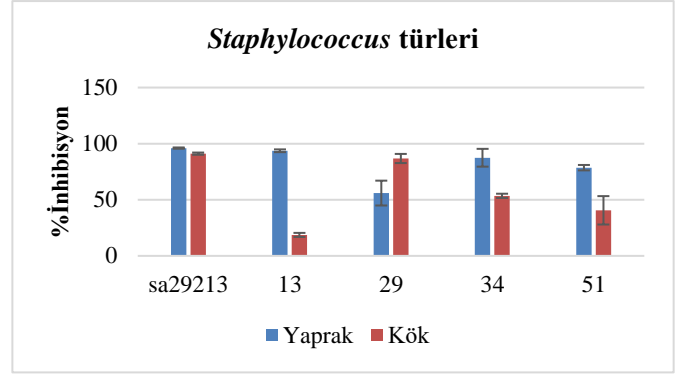
3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Araştırmamızda materyal olarak kullanılan *Staphylococcus* ve *Enterococcus* izolatları Tablo 2’de verilmiştir.

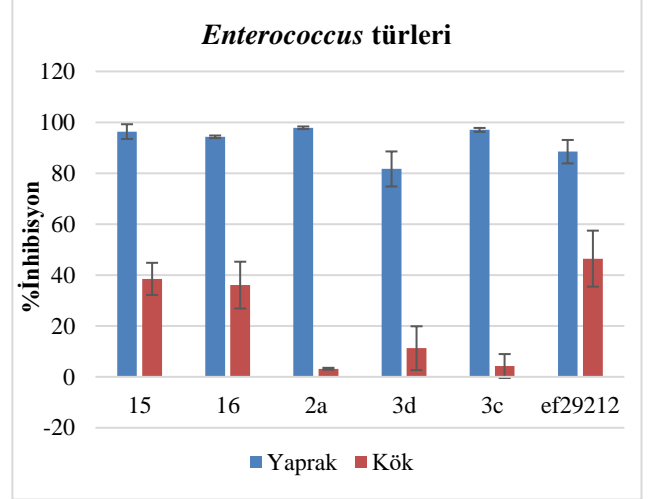
Tablo 2. Araştırmamızda materyal olarak kullanılan *Staphylococcus* ve *Enterococcus* tür adları ve biyofilm üretimi

No	İzolat kodu	Tür adı	Biyofilm üretim derecesi
1	13	<i>S.epidermidis</i>	III
2	14	<i>S.pasteuri</i>	III
3	29	<i>S.epidermidis</i>	III
4	34	<i>S.haemolyticus</i>	III
5	51	<i>S.epidermidis</i>	III
6	17a	<i>S.epidermidis</i>	I
7	22c	<i>S.pumilus</i>	0
8	25a	<i>S.epidermidis</i>	I
9	27a	<i>S.pasteuri</i>	0
10	52b	<i>S.epidermidis</i>	I
11	5	<i>E. faecium</i>	III
12	15	<i>E. casseliflavus</i>	III
13	16	<i>E. faecium</i>	III
14	17	<i>E. faecium</i>	III
15	19	<i>E. hirae</i>	III
16	23	<i>E. casseliflavus</i>	III
17	48	<i>E. faecium</i>	III
18	3B	<i>E. faecalis</i>	II
19	2A	<i>E. faecalis</i>	III
20	3D	<i>E. faecalis</i>	II
21	3C	<i>E. faecalis</i>	III
22	3E3a	<i>E. faecalis</i>	III
23	S4a	<i>E. faecalis</i>	II
24	4TB4a	<i>E. faecalis</i>	III
25	S7a	<i>E. faecalis</i>	II
26	1TB1a	<i>E. faecalis</i>	III
27	S18a	<i>E. faecalis</i>	III
28	5TB2a	<i>E. faecalis</i>	I
29	S20a	<i>E. faecalis</i>	I
30	3T2a	<i>E. faecalis</i>	I
31		<i>S. aureus</i> 29213	III
32		<i>E. faecalis</i> 29212	II

Bakteri izolatlarının biyofilm üretimi Tablo 1’e göre değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçları Tablo 2’de verilmiştir.



Şekil 1. *Pistia stratiotes* kök ve yaprak özütlerinin *Staphylococcus* izolatlarının biyofilmelerini inhibe etme yüzdeleri



Şekil 2. *Pistia stratiotes* kök ve yaprak özütlerinin *Enterococcus* izolatlarının biyofilmelerini inhibe etme yüzdeleri

Yapılan test sonuçlarına göre, *Pistia stratiotes*'in yaprak özütü, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (%inhibisyon±SEM: 96±0,06 µg/ml), *Enterococcus faecalis* 29212 (%inhibisyon ±SEM: 88,5±0,01 µg/ml) ile birlikte 4 *Staphylococcus* (Şekil 1) ve 5 *Enterococcus* (Şekil 2) izolatında kontrole göre anlamlı olarak (p<0,05) anti-biyofilm özelliği göstermiştir. Kök özütü ise tek bir *Staphylococcus* izolatında kontrole göre anlamlı (%inhibisyon±SEM: 86,8±0,02 µg/ml) (p<0,05) bir inhibisyon göstermiştir.

Staphylococcus ve *Enterococcus* başta olmak üzere birçok gıda kontaminantı mikroorganizmanın biyofilm oluşturmaları sebebiyle sağlık sektöründe kullanılan çeşitli aletlere, gıda işletmelerindeki ekipmanlara, gıda hazırlama ve paketleme yüzeylerine tutunabildikleri, çapraz kontaminasyon yoluyla gıdalara ve çeşitli ortamlara bulaşabildikleri bilinmektedir [15], [16]. Biyofilm; mikroorganizmaları dış etkilerden koruyarak onların hayatta kalmasına izin veren korumalı bir ortam oluşturur; aynı zamanda dezenfektan, antibiyotik gibi kimyasal maddelere karşı da dirençli olmalarını sağlar. Biyofilmlerin standart antimikrobiyal maddelerle yok edilmesi oldukça zordur. Gıda güvenliği ve insan sağlığı için biyofilm oluşumunun önlenmesi ve biyofilm giderimini sağlayacak yeni maddeler geliştirilmesi ile ilgili araştırmalar yapılması oldukça önem arz etmekte beraber, bu konuda doğada bulunan bitkilerden, sentetik malzemelere kadar birçok farklı materyal ile yapılan anti-biyofilm araştırmaları bulunmaktadır [17], [18], [19].

Tavaf ve ark., 2015 yılında yapmış oldukları çalışmada gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel, anti-biyofilm ve

antioksidan aktivitelerini, benzer bir çalışmada ise Jafri ve ark., (2014) uçucu yağların anti-biyofilm özelliğini araştırmışlardır. Bu çalışmaların, denenilen maddelerin anti-biyofilm etkilerinin doza bağlı olarak arttığını gözlemlemiştirler [20], [21].

Potamogeton nodosus makrofitinin metanol, kloroform ve petrol eteri çözücülerini kullanılarak mikropilaka yöntemiyle antimikrobiyal ve anti-biyofilm aktiviteleri çalışılmıştır. Çalışmada metanol özütünün en yüksek anti-biyofilm etki gösterdiği belirlenmiştir [7]. Araştırmamızda test ettiğimiz makrofit olan *Pistia stratiotes*'in biyolojik özelliklerine yönelik çalışmalar bulunmaktadır; Moruff ve ark. 2021 yılında yapmış oldukları çalışmada *Pistia stratiotes*'in fitokimyasallarının taranması ve bu bitkinin özütünün balık patojenlerine karşı antibakteriyel aktivitelerini araştırmışlardır. Fitokimyasal inceleme sonuçları; bitkide saponinler, alkaloidler, tanenler, antrakınonların flavonoidler ve kateşinlerin bulunduğunu ve özütünün duyarlı bakterilere karşı geniş spektrumlu inhibitör aktivite gösterdiği belirlenmiştir [22].

Pistia stratiotes'in sitotoksitesine, antioksidan ve antimikrobiyal etkisine yönelik olarak yapılan bir çalışmada; bu bitkinin antioksidan özelliğinin bulunduğu, antimikrobiyal ve antikanser aktivitelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir [3]. Yapılan iki farklı çalışmada ise, yine *Pistia stratiotes*'in etanol ve metanol özütünün sitotoksik, antiinflamatuvar, analjezik, antimikrobiyal etkisi ve nörofarmakolojik özellikleri araştırılmıştır. Çalışmaların sonucunda bu bitkinin sitotoksik, antimikrobiyal, santral sinir sistemi depresanı ve antinosiseptif etkiye sahip olduğu belirtilmiştir [23], [24].

Yapılan literatür taramalarında, *Pistia stratiotes*'in anti-biyofilm özelliğinin çalışıldığı araştırmaların kısıtlı olduğu belirlenmiştir. *Pistia stratiotes*'in de içinde bulunduğu 5 farklı makrofitin fitokimyasal ve anti-biyofilm özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada; makrofitlerin hidroetonolik özütlerinin, biyofilm oluşumunu engellediği fakat hali hazırda oluşmuş olan biyofilm üzerinde giderici etkisi bulunmadığı bildirilmiştir [25]. Gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmada ise, *Pistia stratiotes* yapraklarının mikrodalga yöntemi ile elde edilen etanol özütlerinin anti-biyofilm etki gösterdiği belirlenmiştir.

4. Sonuç

Araştırmamızın sonucunda, önemli biyolojik özellikleri bulunan *Pistia stratiotes*'in yaprak etanol özütünün, biyofilm oluşturduğu belirlenen *Staphylococcus* ve *Enterococcus* izolatlarında, biyofilm oluşumunun engellenmesinde (anti-biyofilm) etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, umut verici olup, araştırmamız, ileride yapılacak daha kapsamlı çalışmalar için bir ön çalışma niteliği taşımaktadır.

5. Teşekkür

Araştırmamızda kullanılan *Pistia stratiotes* bitkisinin, özütünü çıkarma konusunda bize yardımcı olan Öğr. Gör. Sema YİYİT DOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimizi sunuyoruz.

Kaynakça

[1] Büke, E. (2019). *Kuzey Ege Havzası Makrofit Kompozisyonunun Belirlenmesi*, (Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye).

- [2] Henry-Silva, G. G., Camargo, A. F., & Pezzato, M. M. (2008). Growth of free-floating aquatic macrophytes in different concentrations of nutrients. *Hydrobiologia*, 610(1), 153-160.
- [3] Abraham, J., Chakraborty, P., Chacko, A. M., & Khare, K. (2014). Cytotoxicity and antimicrobial effects of *Pistia stratiotes* leaves. *Int J Drug Dev & Res*, 6(4), 208-21.
- [4] Herpandi, L., SD, B., & Sudirman, S. (2021). Antioxidant activity of the fractions from water lettuce (*Pistia stratiotes*) extract. *Food Research*, 5(2), 451-455.
- [5] Tripathi Pallavi, M. P. R., Sandeep, A., & Rajiv, G. (2011). "Diuretic activity of ethanolic extract of *Pistia stratiotes* in rats," *Int. Res. J. Pharm.*, 2(3), 249-251.
- [6] Kumar, V., Singh, J., & Kumar, P. (2019). Heavy metal uptake by water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) from paper mill effluent (PME): experimental and prediction modeling studies. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(14), 14400-14413.
- [7] Haroon, A. M. & Daboor, S. M. (2019). Nutritional status, antimicrobial and anti-biofilm activity of *Potamogeton nodosus* Poir, *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 23(2), 81-93.
- [8] Ekanayake, M. S., Udayanga, D., Wijesekara, I., & Manage, P. (2021). Phytoremediation of synthetic textile dyes: biosorption and enzymatic degradation involved in efficient dye decolorization by *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(16), 20476-20486.
- [9] Szafranski, S. P., Winkel, A., & Stiesch, M. (2017). The use of bacteriophages to biocontrol oral biofilms. *Journal of biotechnology*, 250, 29-44.
- [10] Cucarella, C., Tormo, M. A., Ubeda, C., Trotonda, M. P., Monzón, M., Peris, C., Amorena, B., Lasa I., & Penadés, J. R. (2004). Role of biofilm-associated protein bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. *Infection and immunity*, 72(4), 2177-2185.
- [11] Uzundağ, D., Yılmaz, E.Ş., & Baba, H. (2020). Biofilm Formation Mechanism in Fungi, *Anatol. J. Bot.*, 4(2), 116-120.
- [12] Fratamico, P. M., Annous, B. A., & Guenther, N. W. (Eds.). (2009). *Biofilms in the food and beverage industries*. Elsevier.
- [13] Yağcıoğlu, P. (2015). *Farklı Ekstraksiyon Metotları İle Adaçayı (Salvia Officinalis L.) Bitkisinden Antioksidan Ekstraksiyonunun Optimizasyonu*, (Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye).
- [14] Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of microbiological methods*, 40(2), 175-179.
- [15] Gündoğan, N., & Ataol, Ö. (2012). Et örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilkok'ların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitelerinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(3), 135-142.

- [16]Gürkan, T., KÜLAHCI, M. B., & ÇITAK, S. (2021). Gıda örneklerinden izole edilen *Enterococcus* türlerinin çeşitli virülans özellikleri, biyofilm oluşumu ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (28), 924-932.
- [17]Kılıç, T., Karaca, B., & Cihan, A. Ç. (2021). Abiyotik yüzeylerde termofilik *Anoxybacillus rupiensis* DSM 17127T suşunun biyofilm oluşumu ve polistiren yüzeyler üzerindeki biyofilm yapısının giderimi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(2), 455-470.
- [18]Özkan, M. & Yılmaz, H. (2018). Biofilm Inhibition Effect of cell extracts of *Bdellovibrio bacteriovorus*, a predator bacterium,” *Türk Mikrobiyoloji Cemiy. Derg.*, 48(1), 29–37.
- [19]Bali, E., Erdönmez, D., Yavuz, M., & Koca Çalışkan, U. (2021). Aromaterapötik Gül Uçucu Yağının Bakteriyel Quorum Sensing ve Biyofilm Üretimine Karşı İnhibisyon Etkileri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 51(3), 245–253.
- [20]Tavaf, Z., Tabatabaei, M., Khalafi-Nezhad, A., Panahi, F., & Hosseini, A. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles by reduced glycated casein adducts: Assessment of their antibacterial and antioxidant activity against *Streptococcus mutans*. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 294-302.
- [21]Jafri, H., Husain, F. M., & Ahmad, I. (2014). Antibacterial and antibiofilm activity of some essential oils and compounds against clinical strains of *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Ther Sci*, 1(1), 65-71.
- [22]Kehinde Moruff, A., Shafiu Kilishi, H., Enobong Aloysious, F., & Deji Abiodun, J. (2021). Efficacy of Aqueous Extract of *Pistia stratiotes* (Water Lettuce) against some Tropical Fish Bacterial. *Journal of Nutrition and Food Security*, 6(3), 220-225.
- [23]Ali, K. M. A., Paul, P., Torequl, I. M., Nath, B. N., & Kumar, S. S. (2011). Cytotoxicity and Antibacterial Activity of *Androgaphis Peniculata*, *Euphorbia* Evaluation Of Ethanolic Extract Of *Pistia stratiotes* L . *International Research Journal Of Pharmacy*, 2(2), 82-92.
- [24]Hussain, M. S., Ibrahim, M., Hasan, M. M., Aziz, M. T., Suchi, S. A., & Uddin, M. G. (2018). An in vivo study of the pharmacological activities of a methanolic acetate fraction of *Pistia stratiotes* L.: An ethno-medicinal plant used in Bangladesh. *Animal Models and Experimental Medicine*, 1(3), 221-227.
- [25]Nocchi, S., Boaretto, A. G., Macedo, A. J., Silva, D. B., & Carollo, C. A. (2017, November). *Dereplication and antibiofilm activity of macrophytes species of Pantanal*, 6th Brazilian Conference on Natural Products, Brazil.