

Bakteriyel Biyofilm Oluşumunu Kontrol Eden Parametreler ve Moleküler Düzeyde Engelleyici Stratejiler

Parameters Controlling Bacterial Biofilm Formation and Inhibitory Strategies at Molecular Level

Kübra YEŞİLKAYA¹, Gökçe MEREY²

¹ Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

² Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, İstanbul, Türkiye

Sorumlu Yazar: Gökçe MEREY

E-mail: gokce.merey@marmara.edu.tr

Gönderme Tarihi: 10.05.2024

Kabul Tarihi: 21.05.2024

ÖZ

Bakteriyel biyofilm oluşumu, bakterilerin yüzeylere bağlanarak ve kendilerini ekstraselüler matrikse gömerek oluşturdukları karmaşık ve dinamik bir süreçtir. Biyofilm tabakaları, sağlık, gıda, endüstri ve çevre alanlarında ciddi problemlere neden olmaktadır. Bu nedenle, biyofilm oluşumunu kontrol etmek için etkin parametrelerin belirlenmesi önemli bir araştırma alanıdır.

Hem çevresel hem bakteriyel özgü faktörler biyofilm oluşumunu kontrol etmektedir. Çevresel faktörler arasında bakterinin yerleştiği yüzeyin özellikleri (pürüz, hidrofobik karakter, yüzey yükü vb.), pH, sıvı akış hızı, besin konsantrasyonu ve oksijen seviyesi sayılabilir. Örneğin, besinlerin yüksek konsantrasyonu, düşük akış hızları ve yüzeyin hidrofobik olması biyofilm oluşumunu teşvik edebilirken, düşük besin konsantrasyonları, yüksek akış hızları ve yüzeyin hidrofilik karakteri biyofilm oluşumunu azaltmaktadır. Bakteriye özgü faktörler ise genetik faktörler, bakterinin hareketliliği (motilite) ve çoğunluk algılama (quorum sensing) özellikleridir; bu özellikler bakterilere özgü bir ikincil haberci olan halkalı dimerik guanozin monofosfat (c-di-GMP) başta olmak üzere çeşitli ikincil haberciler tarafından kontrol edilmektedir.

Bakterilerin davranışlarını ve biyofilm oluşturma kapasitelerini moleküler düzeyde anlamak, biyofilm oluşumunu ve dolayısıyla bakteriyel enfeksiyonları engellemek için gerekli bir stratejidir. Özellikle c-di-GMP ile etkileşebilecek moleküllerin sentezi ve kullanımı üzerine pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışma, biyofilm oluşumunu kontrol eden parametrelerin tamamını kapsamakla birlikte özellikle c-di-GMP'nin kontrol ettiği bakteriyel özellikleri mercek altına alarak c-di-GMP ile etkileşim üzerinden biyofilm oluşumunu engelleme stratejileri üzerinde duracaktır.

Sonuç olarak, bakteriyel biyofilm oluşumunu kontrol etmek için etkin parametrelerin belirlenmesi, çeşitli endüstriyel, tıbbi ve çevresel uygulamalarda önemli bir araştırma alanını oluşturur. Bu parametrelerin anlaşılması, biyofilm oluşumunu kontrol etmek için daha etkili stratejilerin geliştirilmesine olanak tanır ve bu da çeşitli uygulamalarda önemli faydalar sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, c-di-GMP, çoğunluk algılama

ABSTRACT

Bacterial biofilm formation is a complex and dynamic process in which bacteria attach to surfaces and embed themselves in the extracellular matrix. Biofilm layers cause serious problems in health and food sector and the environment. Therefore, determining effective parameters to control biofilm formation is an important area of research.

Both environmental and bacteria-specific factors control biofilm formation. Environmental factors include the characteristics of the surface on which the bacteria settle (roughness, hydrophobic character, surface charge, etc.), pH, liquid flow rate, nutrient concentration and oxygen level. For instance, high concentration of nutrients, low flow rates and hydrophobicity of the surface may promote biofilm formation, while low nutrient concentrations, high flow rates and hydrophilic character of the surface reduce biofilm formation. Bacteria-specific factors are genetic factors, motility and quorum sensing properties of the bacteria; these properties are controlled by various secondary messengers, especially cyclic dimeric guanosine monophosphate (c-di-GMP), which is specific to bacteria.

Understanding the behavior of bacteria and their biofilm-forming capacity at the molecular level is a necessary strategy to prevent biofilm formation and thus bacterial infections. There are several studies on the synthesis and use of molecules that interact with c-di-GMP. Although this study covers all the parameters that control biofilm formation, it will focus on strategies to prevent biofilm formation through interaction with c-di-GMP.

Consequently, determining effective parameters to control bacterial biofilm formation constitutes an important area of research in various industrial, medical and environmental applications. Understanding these parameters allows the development of more effective strategies to control biofilm formation, which can provide significant benefits in various application areas.

Keywords: Biofilm, c-di-GMP, quorum sensing

1. GİRİŞ

Biyofilm tabakaları, mikroorganizmaların canlı veya cansız bir yüzeye tutunarak ürettikleri hücre dışı polimerik maddelerdir. Bu tabaka, %97 su, %1-2 ekstraselüler polimerik madde (EPS), %1-2 protein, %1-2 lipid, fosfolipit ve nükleik asit içeriğiyle (Fujishige ve ark., 2006) mikroorganizmalar için kalkan görevi görerek dış etmenlerden, olumsuz çevre koşullarından ve antimikrobiyal uygulamalardan korunmalarını sağlar (Gun ve Ekinci, 2009; Kartal ve ark., 2021).

Özellikle nemli ortamlarda daha sık rastlanan biyofilm tabakası, başta sağlık ve gıda olmak üzere bakterilerin üreyebileceği her alanda büyük risk oluşturur.

Bakteriyel biyofilm oluşumu nedeniyle bakteriler antibiyotiklere ve dezenfektanlara karşı dirençli hale gelirler ve bu nedenle biyofilm oluşturan bakterilerden birçoğunu antibiyotik ile ortadan kaldırmak mümkün olsa da küçük bir kısmının canlılığına devam ettiği görülmüştür. Kronik ve gıda kaynaklı enfeksiyonların önemli bir sebebi olarak bilinen biyofilm tabakasına canlı ve cansız yüzeylerde rastlamak mümkündür. Kistik fibroz, endokardit ve yara enfeksiyonları gibi birçok hastalıkta rol oynamaktadırlar (Yassien ve ark., 2001). Nozokomiyal enfeksiyonların yaklaşık %65'inden biyofilm tabakalarının sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Khalil ve ark., 2022). Vücutta bulunan protezler, suni kalp kapakçığı, kalp pili, kontakt lens, böbrek taşı ve akciğer dokusu biyofilm tabakalarına rastlanan yerlerdir. Biyofilm, enfeksiyonların daha zor tedavi edilmesine ve antibiyotiklere karşı direnç göstermesine neden olmaktadır. (Kostakioti ve ark., 2013).

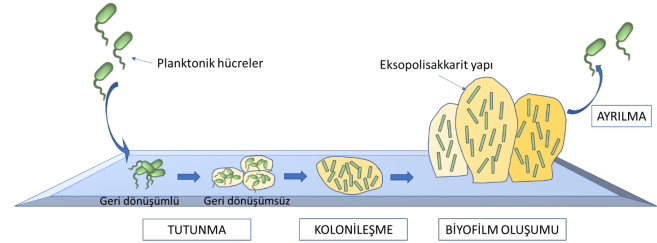
Gıda alanında ise biyofilm oluşturan mikroorganizmalar nedeniyle gıda güvenliği ve kalitesi olumsuz etkilenmektedir. Gıda zehirlenmeleri, ekipman hasarı, üretim verimliliğinin düşmesi ve bunlara bağlı ekonomik kayıplar biyofilm oluşturan dirençli bakteriler nedeniyle görülmektedir. Biyofilm tabakaları, gıda işleme ekipmanları yüzeylerinde birikir ve bu yüzeylerin temizlenmesini zorlaştırır, çapraz kontaminasyona neden olarak patojenlerin yayılmasına neden olur. Bununla birlikte ısı eşanjörlerinde birikerek ısı transferini engelleyebilir ve maliyeti artırır (Ray ve Bhunia, 2016; Gürlük ve ark., 2022). Özellikle süt ve süt ürünleri üretimi gibi hassas süreçlerde verimliliği düşürdüğü bilinmektedir (Ölmez, 2009).

Bu nedenlerle, biyofilm oluşum mekanizmalarını anlamak, kontrol altına almak ve engellemek için uygun stratejileri geliştirmek büyük önem taşımaktadır.

2. BİYOFİLM OLUŞUM MEKANİZMALARI

Biyofilmler, mikroorganizmaların bir yüzeye bağlanarak bir matris içinde büyümesiyle oluşur. Bu matris, mikroorganizmaların ürettiği ekstraselüler polimerik maddeler (EPS) adı verilen sakkarit türevi yapışkan bir maddenin birikmesiyle oluşur. EPS, biyofilm içindeki mikroorganizmaları bir arada tutar ve yüzeye bağlanmalarına yardımcı olur. Aynı zamanda, biyofilmin yapısını stabil kılar ve mikroorganizmaların çevresel streslere karşı korunmasını sağlar (Kartal ve ark., 2021).

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmanın yüzeye önce geri dönüşümlü, ardından geri dönüşümsüz tutunmasıyla başlar. Sonrasında bakteri popülasyonunun arttığı kolonileşme gelir ve EPS yapısının artmasıyla biyofilm oluşumu tamamlanır (Şekil 1).



Şekil 1. Yüzeyde biyofilm oluşumu (Stanley ve ark., 2004; Sauer ve ark., 2022)

2.1. Tutunma

Mikroorganizmalar, bir yüzeyin yüzey özelliklerine bağlı olarak adsorbe olurlar. Yüzey özellikleri, hidrofobiklik, yüzey pürüzlülüğü, yüzey yükü gibi faktörler tarafından etkilenir. Örneğin, hidrofobik bir yüzeyde yaşayan hidrofobik mikroorganizmalar daha iyi adsorbe olabilir (Kostakioti ve ark., 2013).

İlk tutunma geri dönüşümlü şekilde gerçekleşir ve bu aşama, mikroorganizmaların yüzeye ilk temas ettiği, zayıf fiziksel ve elektrostatik etkileşimlerle geçici olarak bağlandığı aşamadır. Bu aşamada, mikroorganizmalar kolayca yüzeyden ayrılabilir veya yüzeyde hareket edebilir. Geri dönüşümlü tutunma, genellikle mikroorganizmaların yüzeye ilk yaklaştığı ve yüzeyin uygunluğunu değerlendirdiği bir keşif sürecidir (El Othmany ve ark., 2021). Yerleşmek için uygun bulunan yüzeye mikroorganizmaların daha güçlü bir şekilde tutunması için ikinci aşamada daha kalıcı bağlar oluşturulur. Bu aşamada, mikroorganizmalar EPS üretmeye başlar ve bu matris, hücreleri yüzeye daha sıkı bir şekilde bağlar. Geri dönüşümsüz tutunma, biyofilm oluşumunun ilerleyen ve daha kararlı bir evresidir ve mikroorganizmaların yüzey proteinleri aracılığıyla, yüzey özellikleri ve mikroorganizma yapılarına bağlı olarak yüzeye bağlanmasını ve koloni oluşturmasını sağlar (Martinez ve ark., 2020).

2.2. Kolonileşme

Kalıcı olarak bağlanan mikroorganizmalar çoğalmaya başlar ve birkaç katman bakteri hücresi bir araya gelerek mikrokolonileri oluşturur (Davey ve O'Toole, 2000). Ancak mikrokoloni oluşumu için yalnızca bir yüzeyle stabil bir etkileşim oluşturabilmek yeterli değildir; mikrokoloni oluşturmak ve bir arada tutmak için en azından genetik materyalin birebir aktarıldığı klonal büyümeye ve stabil hücre-hücre etkileşimlerine ihtiyaç vardır (Reisner ve ark., 2003). Bazı bakteriler için yüzey hareketliliğinin de mikrokoloni oluşumuna etkisi bulunabilir (O'Toole ve Kolter, 1998). Özellikle klonal büyümeyi etkilediği için uygun besin alımı da

kolonizasyonda etkili parametrelerdendir. Bununla birlikte bakterideki yüzey hareketlilik elemanı pilusların üretimi ve stabil hücre-hücre etkileşimlerini sağlayacak olan EPS'nin üretimi de süreci kontrol etmektedir (Stanley ve Lazazzera, 2004).

Bu koloniler, matriks içinde büyümeye ve olgunlaşmaya devam ederken yüzey üzerinde belirgin yapılar haline gelirler. Bu aşamada, farklı mikroorganizma türleri de biyofilme katılabilir ve karmaşık bir topluluk yapısı oluşur (Köremezli ve ark., 2022).

2.3. Biyofilm Oluşumu

Yüzeğe bağlanma ve mikrokoloni oluşum aşamalarından sonra hücre dışı bir polimerik matrisle kaplanmış kule şeklinde homojen hücre tabakaları içeren olgun biyofilm yapıları oluşur ve bu yapıların içinde besin ve atık akışını sağlamak için su kanalları bulunur (Davey ve O'Toole, 2000; Poulsen, 1999; Kumar ve Anand, 1998).

Oluşan biyofilm yapısının özellikleri yalnızca bakterinin kendine ait özelliklerinden değil fiziksel etmenlerden de etkilenir. Olgun biyofilm tabakasının derinliği veya biyofilmin mimarisi gibi faktörler bakterideki düzenleyici mutasyonlardan etkilenmektedir. Bu düzenleyici mutasyonlar ise biyofilm olgunlaşma sürecinde besine erişim ve çekirdek algılama (hücrelerin yüksek bir popülasyon yoğunluğunu algılama) özellikleri tarafından kontrol edilmektedir (Martinez ve ark., 2020).

2.4. Ayrılma

Yeteri kadar büyüyen kolonilerden, bakteriler tek tek veya küme halinde ayrılarak ortama yayılırlar (Poulsen, 1999). Bu ayrılma dört farklı şekilde olabilir: Erozyon, aşınma, dökülme ve predatörler (Stewart, 1993).

Erozyon ve aşınmanın her ikisi de küçük hücre gruplarının biyofilm yüzeyinden uzaklaştırılmasını ifade eder ancak mekanizmaları birbirinden farklıdır. Erozyon, biyofilm yüzeyi ile temas halinde olan hareketli akışkanın yüzeyi sıyırmasıyla olurken aşınma, biyofilm kaplı yüzeyin çarpışmasından kaynaklanır. Dökülme ise, oldukça büyük bir parçanın biyofilm tabakasından kopmasıdır. Dökülme ile ayrılmada biyofilm tabakasının tamamı yüzeyden temizlenmez ancak erozyon ve aşınmada yüzeyin tamamen temizlenmesi söz konusudur (Morgenroth ve Wilderer, 2000; Petrova ve Sauer, 2016). Dördüncü ayrılma şeklinde ise en eski yırtıcı-av ilişkilerinden olan protozoaların bakterileri besin olarak tüketmesi söz konusudur (Hahn ve Hofle 2001; Sherr ve Sherr, 2002). Protozoalar bakteriyel biyokütleyi (Hahn ve Hofle 2000; Garcia-Chaves ve ark., 2015) ve biyofilm yapısının kompozisyonunu (Jurgens ve Matz 2002; Chow ve ark., 2014) kontrol eder. Bakterilerin, protozoalardan korunmak için morfolojik değişimler (Simek ve ark., 2001), virulans faktörlerinin üretimi (Weitere ve ark., 2005; Erken ve ark., 2013) ve hareket kabiliyetinin değişimi gibi davranışsal değişikliklere (Matz ve Jurgens, 2005) gittikleri bilinmektedir.

3. BİYOFİLM OLUŞUMUNU KONTROL EDEN FAKTÖRLER

3.1 Çevresel Faktörler

Biyofilm oluşumunda çevresel faktörler, bakterilerin biyofilm oluşturma kapasitesini ve bu yapıların özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir. Çevresel faktörlerin kontrolüne bağlı olarak biyofilm tabakasının oluşumu ve dolayısıyla bakterilerin üremesi kontrol edilebilir (Korkmaz ve Özdemir, 2023; Erdem ve ark., 2022).

3.1.1 Yüzey özellikleri

Biyofilm oluşumunun ilk aşaması yüzeğe tutunma olup yüzey özellikleri, hem bakterilerin ilk yerleşmesini hem de EPS üretimini, miktarını ve bileşimini etkilemektedir (Garrett ve ark., 2008).

Örneğin bakterilerin tutunduğu yüzey, üronik asit gibi polianyonik asit yönünden zenginse EPS de anyonik karakter kazanmakta ve kalsiyum ve magnezyum gibi katyonlarla etkileşim sağlamaktadır (Maunder ve Welch, 2017). Bununla birlikte yüzeyde bulunan proteinler, nükleik asitler, lipitler, azot ve oksijen miktarı da EPS'nin iyonik karakterini değiştirmektedir (Muhammad ve ark., 2020). Buradan hareketle, biyofilm yapısının değişken olduğu sonucuna varılabilir.

3.1.2 Besin maddeleri

Besin maddelerinin varlığı ve konsantrasyonu, biyofilm oluşumu ve mikroorganizmaların büyümesi açısından etkili parametrelerdir. Örneğin, glukoz veya NaCl konsantrasyonlarının belirli bir seviyeye kadar yüksek olması biyofilm oluşumunu artırıcı etki gösterebilir (Salgar-Chaparro ve ark., 2020). Glukoz miktarının biyofilm oluşumuna etkisini incelemek amacıyla Elhariry (2008)'nin *Bacillus* türleriyle yaptığı çalışmada, başlangıç aşamasında glukoz konsantrasyonunun %1 ve %5 arasında artırılması ile biyofilm oluşumunun arttığı, %7 üzerinde glukoz konsantrasyonunun ise inhibe edici etki yarattığı gözlemlenmiştir. İlk aşamada %7 üzerindeki glukozun biyofilm üzerine inhibe edici etkisinin olması, azalan su aktivitesi ile ilişkilendirilebilir (Waldrop ve ark., 2014). Ancak ilerleyen aşamalarda oluşan EPS yapısı polisakkarit ağırlıklı olduğu için artan glukoz miktarı biyofilm oluşumunu destekleyici yönde etki etmektedir (Lim ve ark., 2004).

Bacillus türleriyle yapılan aynı çalışmada, ortamdaki NaCl konsantrasyonunun ise %3'e kadar artması biyofilm oluşumunu artırırken bu seviyeden sonra inhibe edici etki görülmektedir (Elhariry, 2008). Başlangıç aşamasında görülen bu olumlu etkinin, NaCl yapısındaki Cl⁻ anyonunun yüzeydeki katyonlarla etkileşime geçmesi nedeniyle olduğu öne sürülmektedir (Xu ve ark., 2010; Pan ve ark., 2010; Iliadis ve ark., 2018).

3.1.3 Sıcaklık ve pH

Biyofilm oluşumunda, çok temel çevresel faktörler olan sıcaklık ve pH koşulları da etkili olmaktadır (Bezek ve ark., 2019; Moraes ve ark., 2018). Aynı bakteri türünün alt soyları bile bu parametrelerden farklı şekillerde etkilenebilmektedir (López ve ark., 2010).

Biyofilm oluşumunda ilk aşama yüzeye tutunma olduğu ve bakterinin yüzeyi ile etkileşiminde hücre zarı yapısının da etkili olduğu göz önünde bulundurulursa hücre zarı yapısını etkileyen faktörlerin biyofilm oluşumunda da etkili olduğu söylenebilir (Satpathy ve ark., 2016). Örneğin termofilik bakteriler, yüksek sıcaklıkta yaşamaya uyum sağlarken hücre zarları mezofilik mikroorganizmalara göre daha çok değişmektedir ve bu durum yüzeye tutunma, dolayısıyla biyofilm oluşturma kapasitelerini etkilemektedir (Villanueva ve ark., 2011).

3.1.4 Hidrodinamik koşullar

Hidrodinamik koşullar, sıvı akış hızı, akış düzeni ve kesinti gibi faktörleri içerir ve bu koşulların biyofilm oluşumu üzerinde çeşitli etkileri olabilir. Öncelikle, akış hızı biyofilm oluşumunu etkileyen önemli bir parametredir. Düşük akış hızları, bakterilerin yüzeylere bağlanmasını kolaylaştırabilir ve biyofilm oluşumunu teşvik edebilirken, yüksek akış hızları biyofilm oluşumunu azaltabilir; akış hızının etkisi, biyofilm oluşturan organizmaların türüne, yüzey özelliklerine ve akış koşullarına bağlı olarak değişebilir. Bununla birlikte, düzgün laminar akışlar genellikle biyofilm oluşumunu azaltırken, türbülanslı akışlar biyofilm oluşumunu artırabilir. Akışın ani değişimleri veya kesintileri, biyofilm oluşumunu artırabilir veya azaltabilir. Özellikle mikroakışlar, biyofilm tabakalarının oluşumunu hızlandırabilir (Gomes ve ark., 2021; Hançer Aydemir, 2018)

3.1.5 Diğer mikroorganizmalar

Yüzeyde bulunan mikroorganizmaların biyofilm oluşumundaki etkisi, biyofilm yapısının karmaşıklığı ve çeşitliliği üzerinde belirleyici olabilir. Farklı mikroorganizma türleri, biyofilm içinde farklı nişler oluşturarak ve birbirleriyle etkileşimde bulunarak, biyofilmin genel işlevselliğini ve direncini etkileyebilir. Önceden ortama yerleşmiş olan türlerin hücre dışı DNA'sı, enzimleri ve proteinleri, ortama tutunacak diğer türlerin yerleşimini engelleyebilir. Bu nedenle, biyofilm oluşumunu anlamak ve kontrol altına almak için yüzeydeki mikroorganizmaların rollerinin iyi bilinmesi gerekmektedir (Kartal ve ark., 2021; Song ve ark., 2015).

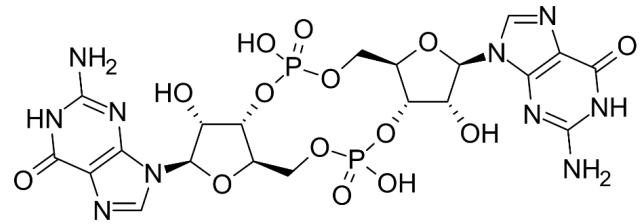
3.2. Bakteriye Özgü Faktörler

Bakteriyel biyofilm oluşumunda bakteriye özgü hareketlilik, çoğunluk algılama (quorum sensing) ve hücre içi sinyal iletim özellikleri, etkili parametreler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu özellikleri bakteride moleküler seviyede kontrol eden ikincil haberciler bulunmaktadır. Dimerik formda halkalı guanozin 3',5'-monofosfat (c-di-GMP), dimerik formda halkalı

adenosin 3',5'-monofosfat (c-di-AMP), halkalı guanozin 3',5'-monofosfat (cGMP) ve halkalı adenosin 3',5'-monofosfat (cAMP) gibi halkalı nükleotitler ve ayrıca guanozin 3',5'-bispirofosfat (ppGpp) ve guanozin 3'-difosfat, 5'-trifosfat (pppGpp) gibi lineer nükleotitler virülans faktörlerinin üretimi veya biyofilm oluşumunu düzenleyen süreçlerde rol oynayan önemli ikincil haberciler olarak ortaya çıkmıştır (Kalia, 2013).

3.2.1 c-di-GMP

Birbirinden farklı iki yaşam tarzı gösteren hareketli tek hücreler ve hareketsiz çok hücreli topluluklar (biyofilmler) arasındaki geçiş, ikincil haberci c-di-GMP tarafından düzenlenmektedir (Ross ve ark., 1987). (Şekil 2).



Şekil 2. Bakteriye özgü ikincil haberci c-di-GMP'nin yapısı

C-di-GMP, pek çok bakteride bulunan bir sinyal molekülüdür ve bakteriler c-di-GMP ile ilişkili proteinleri kodlayan genler içerir. Sentaz enzimleri olan diguanilat siklazlar (DGC) ve hidrolitik enzimler olan fosfodiesterazlar (PDE) tarafından c-di-GMP'nin hücre içi konsantrasyonu kontrol edilir. Hücre içi konsantrasyonuna bağlı olarak c-di-GMP, bakteriler arasında iletişim veya çoğunluk algılama olarak tanımlanan quorum sensing özellikleri de dahil olmak üzere virülans, motilite, flagella oluşumu gibi temel pek çok bakteriyel faaliyet üzerinde etkilidir ve bakterilerde bu nükleotide bağlı çalışan genler bulunmaktadır (Romling ve ark. 2005, Kulasakara ve ark. 2006, Schirmer ve ark. 2005).

Bakterilerin biyofilm oluşturduğu süreç içerisinde c-di-GMP konsantrasyonunun arttığı gözlemlenmiş olup çeşitli bakteriler üzerinde yapılan pek çok çalışmada c-di-GMP'nin bakterilerdeki farklı hayati fonksiyonları kontrol ettiği anlaşılmıştır (Qi ve ark., 2009; Wan ve ark., 2009; Pratt ve ark., 2007).

Dimerik formdaki c-di-GMP yapısında bulunan guanin bazları, ortama bağlı olarak trans ve cis konumlar arasında geçiş yapabilir ve cis yapı kendi içinde dimerleşerek tetramoleküler ve hatta oktamoleküler yapılar oluşturabilir. Özellikle K⁺ gibi monovalent katyonlar varlığında tetramoleküler yapının daha rahat olduğu görülmüştür. Bu durum, bakteri fonksiyonlarının c-di-GMP'ye bağlı olarak kontrol edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Egli ve ark., 1990; Zhang ve ark., 2006).

3.2.2 c-di-AMP

B. subtilis ile yapılan çalışmalarda etkisi anlaşılan c-di-AMP, DNA hasarı sonrası spor oluşumunun geciktiği durumda DNA bütünlüğünü sağlayarak spor oluşumunu gerçekleştiren bir sinyal molekülü olarak rol oynamaktadır (Romling, 2008). *S. aureus* ile yapılan çalışmalarda lipoteikoik asit eksikliğine bağlı hücre duvarı yıkımı sonrasında c-di-AMP konsantrasyonu artmakta ve hücre duvarı tamirinin bu yolla başladığı düşünülmektedir (Corrigan, 2011). Hücre duvarını parçalayarak etki gösteren β -laktam türevi antibiyotiklere karşı c-di-AMP, hücre duvarı tamirini sağlayarak bakterilerin antibiyotik direnci kazanmasına neden olmaktadır (Luo, 2012).

3.2.3 c-AMP ve c-GMP

Ökaryotik hücrelerde de ikincil haberci olarak homeostazi sağlayan c-AMP ve c-GMP, bakterilerde de bazı fonksiyonlara sahiptir. Bunlardan c-AMP, bakterilerde glukoza bağlı anabolik ve katabolik reaksiyonları kontrol etmekte; virulans, biyofilm oluşumu ve özellikle quorum sensing gibi özellikleri düzenlemektedir (Botsforf, 1981; Bai, 2005; Liang, 2008). c-GMP'nin bakterideki görevleri tam olarak aydınlatılamamış olsa da hem c-AMP hem de c-GMP konsantrasyonlarının bakteride bulunan bazı gen bölgelerinin hasarına bağlı olarak arttığı gözlemlenmektedir (Shibuya, 1977).

3.2.4 ppGpp ve pppGpp

Bakterilerin sıradışı nükleotidleri olan guanozin tetrafosfat (ppGpp) ve guanozin pentafosfat (pppGpp) besin (amino asit, fosfatlar, yağ asitleri, karbon ve demir) açlığına yanıt olarak üretilen sinyal bileşikleridir (Cashel, 1996; Lapouge, 2008). Bu nükleotidler tarafından koordine edilen stres tepkisi, hücrelerin büyüme hızında bir azalmaya yol açar. Benzer bir tepki bitkilerde de görülmektedir (Takahashi, 2004).

E. coli ile yapılan bir çalışmada, yüksüz tRNA moleküllerinin ribozomal A bölgesinde birikmesiyle algılanan amino asit açlığı sonrası, GTP ve ATP'den (p)ppGpp'nin sentezlendiği, açlık sona erdiğinde (p)ppGpp'nin bir hidrolaz enzimi tarafından parçalandığı anlaşılmıştır. Benzer şekilde, yağ asidi açlığı sırasında, açıl taşıyıcı protein (ACP), (p)ppGpp sentezini allosterik olarak aktive etmek için ilgili enzime bağlanır (Justesen, 1986).

Besin eksikliğine yanıt olarak sentezlenen ve bakterinin besin eksikliğine direnmesine yardımcı olan (p)ppGpp dolaylı olarak bakterinin bulunduğu ortamda daha kolay kolonileşmesini ve biyofilm oluşturmasını sağlar. Bunu destekleyen çalışmalardan biri Bordetella pertusis ile gerçekleştirilmiş ve bu çalışmada (p)ppGpp sentezini kontrol eden proteinlerin sentezinde etkili genlerin silinmesi ile bakterilerin büyümesinde kusurlar, beslenme açısından sınırlı koşullara dayanıksızlık, oksidatif strese karşı duyarlılık ve biyofilm oluşumunda azalma gibi etkiler gözlenmiştir (Sugisaki ve ark. 2013). *Pseudomonas putida* ile yapılan bir başka çalışmada (p)ppGpp'nin EPS üretiminde kullanılan enzimlerin sentezini etkileyerek EPS

üretimini ve dolayısıyla biyofilm oluşumunu arttırdığı ortaya konmuştur (Liu ve ark., 2017).

4. BİYOFİLM OLUŞUMUNUN MOLEKÜLER DÜZEYDE ENGELLENMESİ

Biyofilm oluşturan faktörler moleküler seviyede ele alındığında, bakteriye özgü ikincil habercilerden özellikle c-di-GMP'nin etkili olduğu görülmektedir. Buna bağlı olarak, c-di-GMP üzerinde etkili olabilecek sistemlerin biyofilm oluşumunu da kontrol edeceği söylenebilir. Bu nedenle c-di-GMP'nin etkileştiği moleküllerin ve etkileşim biçimlerinin belirlenmesi önemli bir araştırma konusu olmuştur. Yapılan araştırmalarda çoklu aromatik gruplar içeren yapılar, c-di-GMP ile interkalasyon (araya girme) gerçekleştirerek tetramoleküler (G-quadrupleks) yapı oluşturmaktadır ve bu yapının oluşması c-di-GMP'nin ikincil haberci etkinliğine son vermektedir (Le Gresley ve ark., 2011, Read ve ark., 2001, De Cian ve ark., 2007).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde DNA ve RNA'nın da bazı moleküllerle interkalasyon yaptığı ve tetramoleküler yapı oluşturduğu görülmektedir. Guanin bazı içermeleri ve üst üste katlanabilmeleri nedeniyle c-di-GMP ile etkileşen moleküllerin DNA veya RNA ile de etkileşmesi söz konusu olabilir ve bu durum bakteriler üzerindeki seçiciliği olumsuz etkiler. Ancak c-di-GMP'nin oluşturduğu tetramoleküler yapıda üniteler arası mesafe 6.8 Å iken DNA için 3.7 Å olarak ölçülmüştür (Read, 1999; Folini, 2010). Dolayısıyla uygun boyutta sentezlenen bileşiklerin c-di-GMP ile etkileşmesi mümkünken DNA ile etkileşmesi mümkün olmayabilir. Tam tersi duruma bir örnek olarak; antrasen türevi bazı moleküller DNA ile dupleks oluştururken c-di-GMP ile etkileşime girmemektedir. Bununla birlikte, farklı tip interkalatörlerin, oldukça düşük c-di-GMP konsantrasyonunda bile etkili olarak tetramoleküler yapı oluşturarak c-di-GMP'nin agregasyonuna neden olup etkinliğini yok edebildiği görülmektedir (Kelsey ve ark., 2012).

Bakterilerde c-di-GMP ile etkileşebilen interkalatör moleküller tiazol oranj, metilen mavisi, akrinin türevi olan akriflavin ve proflavin ile bazı antrasen türevleri gibi çoklu aromatik halkalar içeren sistemlerdir (Nakayama ve ark., 2011).

Düzlemsel yapıda ve yüksek konjugasyona sahip olmaları nedeniyle akrinin türevleri nükleotidlerdeki bazlarla etkileşime girebilmektedir (Göker, 2010). Bazı akrinin türevlerinin DNA'daki bazlar ile etkileşerek nükleotidler arasına yerleşebildiğini gösteren ilk çalışma 1961 yılında Leonard Lerman tarafından gerçekleştirilmiştir (Lerman, 1961). Nükleotidler arası mesafeye bağlı olarak hangi akrinin türevinin hangi nükleotidle etkileşime gireceği bir çalışma konusudur. Bu tür çalışmalarda seçiciliği sağlayacak olan nükleotidler arası mesafe olduğu için uygun boyutta farklı yapıların denenmesi ile istenen seçici olarak nükleotidle etkileşebilecek, diğerleriyle etkileşmeyecek moleküller sentezlenebilir.

5. SONUÇ

Bakterilerin, kendilerini korumak ve üremelerini kolaylaştırmak için oluşturdukları polisakarit yapıları biyofilm tabakası dezenfeksiyonu zorlaştıran önemli bir faktördür. Bununla birlikte, özellikle patojen bakterilerin oluşturduğu biyofilm tabakaları, hastane enfeksiyonlarının yaygınlaşmasına ve gıda endüstrisinde ürünlerin işlenmesinde problem oluşmasına sebep olmaktadır.

Biyofilm oluşturan mekanizmaları detaylıca incelemek ve anlamak, biyofilm oluşumunun engellenmesinde en önemli yaklaşımlardan biridir. Çevresel faktörlerin ve bakteriye özgü özelliklerin farklı mekanizmalar üzerinden biyofilm oluşumuna etkisi bulunmaktadır. Özellikle bakteriye özgü fonksiyonların kontrolü, ikincil haberci nükleotidler üzerinden gerçekleşmektedir. Dolayısıyla bu nükleotidlerin özelliklerinin ve potansiyel etkileşimlerinin belirlenmesi, bakterinin hayati fonksiyonlarını kontrol etmeyi ve seçici olarak etkin şekilde bakteri dezenfeksiyonunu mümkün hale getirir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Marmara Üniversitesi BAPKO tarafından TYL-2023-11089 sayılı proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Bai G, McCue LA, McDonough KA. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* Rv3676 (CRP_{Mt}), a cyclic AMP receptor protein-like DNA binding protein. *Journal of Bacteriology*. 2005;187:7795-7804.
- [2] Bezek K, Nipič D, Torkar KG, Oder M, Dražić G, Abram A, Žibert J, Raspor P, Bohinc K. Biofouling of stainless steel surfaces by four common pathogens: the effects of glucose concentration, temperature and surface roughness. *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*. 2019;35(3):1-11.
- [3] Botsford JL. Cyclic nucleotides in prokaryotes. *Microbiological Reviews*. 1981;45:620-642.
- [4] Cashel M, Gentry D, Hernandez V, Vinella D. The Stringent Response, in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology, ASM Press, 2nd edition, 1996.
- [5] Chow CET, Kim DY, Sachdeva R, Caron DA, Fuhrman JA. Top-down controls on bacterial community structure: microbial network analysis of bacteria, T4-like viruses and protists. *The ISME Journal*. 2014;8:816-829.
- [6] Corrigan RM, Abbott JC, Burhenne H, Kaefer V, Grundling A. c-di-AMP is a new second messenger in *Staphylococcus aureus* with a role in controlling cell size and envelope stress. *PLoS Pathogens*. 2011;7:e1002217.
- [7] Davey ME, Caiazza NC, O'Toole GA. Rhamnolipid surfactant production affects biofilm architecture in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of Bacteriology*. 2003;185:1027-1036.
- [8] De Cian A, Cristofar G, Reichenbach P, Lemos E, Monchaud D, Teulade-Fichou M, Shin-Ya K, Lacroix L, Lingner J, Mergny JL. Reevaluation of telomerase inhibition by quadruplex ligands and their mechanisms of action. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104:17347-17352.
- [9] Egli M, Gessner RV, Williams LD, Quigley GJ, van der Marel GA, van Boom JH, Rich A, Frederick CA. Atomic-resolution structure of the cellulose synthase regulator cyclic diguanylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1990;87:3235-3239.
- [10] El Othmany R, Zahir H, Ellouali M, Latrache H. Current understanding on adhesion and biofilm development in actinobacteria. *International Journal of Microbiology*. 2021;2021:1-11.
- [11] Elhariry HM. Biofilm formation by endospore-forming bacilli on plastic surface under some food-related and environmental stress conditions. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 2008;3(2):69-78.
- [12] Erken M, Lutz C, McDougald D. The rise of pathogens: predation as a factor driving the evolution of human pathogens in the environment. *Microbial Ecology*. 2013;65:860-868.
- [13] Folini M, Pivetta C, Zagotto G, De Marco C, Palumbo M et al. Remarkable interference with telomeric function by a G-quadruplex selective bisantrene regioisomer. *Biochemical Pharmacology*. 2010;79:1781-1790.
- [14] Fujishige NA, Kapadia NN, Hirsch AM. 2006. A feeling for the microorganism: structure on a small scale. *Biofilms on plant roots*. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2006;150(1):79-88.
- [15] Garcia-Chaves MC, Cottrell MT, Kirchman DL, Derry AM, Bogard MJ, del Giorgio PA. Major contribution of both zooplankton and protists to the top-down regulation of freshwater aerobic anoxygenic phototrophic bacteria. *Aquatic Microbial Ecology*. 2015;76:71-83.
- [16] Gomes LC, Mergulhão FJM. A selection of platforms to evaluate surface adhesion and biofilm formation in controlled hydrodynamic conditions. *Microorganisms*. 2021;9(9):1993.
- [17] Göker F. 3,6-Diamino akridin türevlerinin serum albüminlerle etkileşiminin floresans sönüm yöntemi ile incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006, Ankara.
- [18] Gün İ, Ekinci FY. Biyofilmler: Yüzeyledeki mikrobiyal yaşam. *The Journal of Food*. 2009;34(3):165-173.
- [19] Gürlük N, Koluman A, Kahraman T. Gıda işletmelerinde biyofilm sorunu ve gümüş nanopartikül uygulamaları. *Aydın Gastronomy*. 2022;6(1):51-63.
- [20] Hahn MW, Hofle MG. Role of microcolony formation in the protistan grazing defense of the aquatic bacterium *Pseudomonas* sp. MWH1. *Microbial Ecology*. 2000;39:175-185.
- [21] Hahn MW, Hofle MG. Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria. *FEMS Microbial Ecology*. 2001;35:113-121.
- [22] Hançer Aydemir D. Bakteriyal biyofilmlerin biyolojik önemi ve etkili kontrol stratejileri. *Turkish Journal of Life Sciences*. 2018;3(1):218-230.
- [23] Iliadis I, Daskalopoulou A, Simões M, Giaouris E. Integrated combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on biofilm formation by *Salmonella enterica* ser. Enteritidis and *Typhimurium* under low nutrient food-related conditions. *Food Research International*. 2018;107:10-18.
- [24] Jurgens K, Matz C. Predation as a shaping force for the phenotypic and genotypic composition of planktonic bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2002;81:413-34.
- [25] Justesen J, Lund T, Pedersen FS, Kjeldgaard NO. The physiology of stringent factor (ATP: GTP 3'-diphosphotransferase) in *Escherichia coli*. *Biochimie*. 1986;68:715-722.
- [26] Kalia D, Meray G, Nakayama S, Zeng Y, Zhou J, Luo Y, Guo M, Roembke BT, Sintim HO. Nucleotide c-di-GMP, c-di - AMP,

- cGMP, cAMP, (p)ppGpp Signaling in Bacteria and Implications in Pathogenesis”, *Chemical Society Reviews*. 2013;42(1):305-341.
- [27] Kartal MO, Baran Ekinci M, Poyraz B. Biyofilm yapısı ve önlenmesi. *Akademik Gıda*. 2021;19(3):353-363.
- [28] Kelsey I, Nakayama S, Sintim HO. Diamidinium and iminium aromatics as new aggregators of the bacterial signaling molecule, c-di-GMP. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2012;22: 881-885.
- [29] Khalil MA, Alorabi JA, Al-Otaibi LM, Ali SS, Elsilik SE. Antibiotic resistance and biofilm formation in *enterococcus spp.* isolated from urinary tract infections. *Pathogens*. 2022;12(1):34.
- [30] Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Hultgren SJ. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2013;3(4):a010306.
- [31] Köremezli A, Karıptaş E, Erdem B. Bakteriyel mikroorganizmalarda bir savunma sistemi: “Biyofilm”, *Black Sea Journal of Health Science*, 2022;5(1):153-161.
- [32] Kulasakara H, Lee V, Brencic A, Liberati N, Urbach J, Miyata S, Lee DG, Neeley AN, Hyodo M, Hayakawa Y, Ausubel FM, Lory S. Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* diguanylate cyclases and phosphodiesterases reveals a role for bis-(3'-5') – cyclic-GMP in virulence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103:2839-2844.
- [33] Kumar CG, Anand SK. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 1998;42:9-27.
- [34] Lapouge K, Schubert M, Allain FH, Haas D. Gac/Rsm signal transduction pathway of γ -proteobacteria: from RNA recognition to regulation of social behaviour. *Molecular Microbiology*. 2008;67:241–253.
- [35] Le Gresley A, Abdullah A, Desai P, Ghosh U, Gollapalli U, Kiran M, Lafon S. Scope of the heck reaction in the synthesis of a new family of anthracene diacrylamide G-Quadruplex ligands. *Synthetic Communications*. 2011;41:2483-2492.
- [36] Lerman LS. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of Molecular Biology*. 1961;3:18-30.
- [37] Liang W, Sultan SZ, Silva AJ, Benitez JA. Cyclic AMP post-transcriptionally regulates the biosynthesis of a major bacterial autoinducer to modulate the cell density required to activate quorum sensing. *FEBS Letters*. 2008;582:3744-3750.
- [38] Lim Y, Jan M, Luong TT, Lee CY. Control of glucose – and NaCl-induced biofilm formation by rbf in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*. 2004;186:722-729.
- [39] Liu H, Xiao Y, Nie H, Huang Q, Chen W. Influence of (p) ppGpp on biofilm regulation in *Pseudomonas putida* KT2440. *Microbiological Research*. 2017;204:1-8.
- [40] López D, Vlamakis H, Kolter R. Biofilms. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2010;2(7):a000398.
- [41] Luo Y, Helmann JD. Analysis of the role of *Bacillus subtilis* σ^M in β -lactam resistance reveals an essential role for c-di-AMP in peptidoglycan homeostasis. *Molecular Microbiology*. 2012;83:623-639.
- [42] Martinez S, Garcia JG, Williams R, Elmassry M, West A et al. *Lactobacilli spp.*: real-time evaluation of biofilm growth. *BMC Microbiology*. 2020;20(64):1-9.
- [43] Matz C, Jurgens K. High motility reduces grazing mortality of planktonic bacteria. *Applied Environmental Microbiology*. 2005;71:921-929.
- [44] Moraes JO, Cruz EA, Souza EGF, Oliveira TCM, Alvarenga VO, Peña WEL, Sant’Ana AS, Magnani M. Predicting adhesion and biofilm formation boundaries on stainless steel surfaces by five *Salmonella enterica* strains belonging to different serovars as a function of pH, temperature and NaCl concentration. *International Journal of Food Microbiology*. 2018;281:90–100.
- [45] Morgenroth E, Wilderer PA. Influence of detachment mechanisms on competition in biofilms. *Water Research*. 2000;34:417-426.
- [46] Nakayama S, Kelsey I, Wang JX, Sintim HO. c-di-GMP can form remarkably stable G-quadruplexes at physiological conditions in the presence of some planar intercalators. *Chemical Communications*. 2011;47:4766-4768.
- [47] O’Toole G, Kolter R. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*. 1998;30: 295-304.
- [48] Ölmez Z. Süt sanayisinde biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ve biyofilm oluşumunun önlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2009, Isparta.
- [49] Özdemir Fİ, Korkmaz T. Çevresel koşulların termofilik *geobacillus kaustophilus*’da biyofilm oluşumu üzerinde etkisi. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2023;13(3):1562-1572.
- [50] Pan Y, Breidt F, Gorski L. (2010). Synergistic effects of sodium chloride, glucose, and temperature on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* Serotype 1/2a and 4b strains. *Applied Environmental Microbiology*. 2010;76:1433–1441.
- [51] Petrova OE, Sauer K. Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion, *Current Opinion in Microbiology*. 2016;30:67–78.
- [52] Poulsen LV. Microbial biofilm in food processing. *LWT-Food Science and Technology*. 1999;32(6):321-326.
- [53] Pratt JT, Tamayo R, Tischler AD, Camilli A. PilZ domain proteins bind cyclic diguanylate and regulate diverse processes in *Vibrio cholerae*. *The Journal of Biological Chemistry*. 2007;282: 12860-12870.
- [54] Qi Y, Rao F, Luo Z, Liang ZX. A flavin cofactor-binding PAS domain regulates c-di-GMP synthesis in Ax DGC2 from *Acetobacter xylinum*. *Biochemistry*. 2009;48:10275-10285.
- [55] Ray B, Bhunia A. Temel Gıda Mikrobiyolojisi. 5.baskı, 2016, Ankara, ss73-78.
- [56] Read MA, Harrison R, Romagnoli B, Tanious FA, Gowan SM, Reszka A, Wilson WD, Kelland L, Neidle S. Structure-based design of selective and potent G quadruplex-mediated telomerase inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001;98:4844-4849.
- [57] Read MA, Wood AA, Harrison JR, Gowan SM, Kelland LR. Molecular modeling studies on G-quadruplex complexes of telomerase inhibitors: structure-activity relationships. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1999;42:4538-4546.
- [58] Reisner A, Haagenen JA, Schembri MA, Zechner EL, Molin S. Development and maturation of *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Molecular Microbiology*. 2003;48:933-946.
- [59] Romling U, Gomelsky M, Galperin MY. C-di-GMP: the dawning of a novel bacterial signalling system, *Molecular Microbiology*. 2005;57:629-639.
- [60] Romling U. Great times for small molecules: c-di-AMP, a second messenger candidate in bacteria and archaea. *Science Signaling*, 2008;1(33):pe39.

- [61] Ross P, Weinhouse H, Aloni Y, Michaeli D, Weinberger-Ohana P, Mayer R, Braun S, Vroom E, Marel GA, Boom JH, Benziman M. High intracellular concentrations of c-di-GMP result in the expression of adhesive matrix components and biofilm formation. *Nature*. 1987;325:279-281.
- [62] Salgar-Chaparro SJ, Lepkova K, Pojtanabuntoeng T, Darwin A, Machuca LL. Nutrient level determines biofilm characteristics and the subsequent impact on microbial corrosion and biocide effectiveness. *Applied and Environmental Microbiology*. 2020;86(7): e02885-19.
- [63] Satpathy S, Sen SK, Pattanaik S, Raut S. Review on bacterial biofilm: An universal cause of contamination. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2016;7:56-66.
- [64] Sauer K, Stoodley P, Goeres DM, Hall-Stoodley L, Burmølle M, Stewart PS, Bjarnsholt T. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature Reviews Microbiology*. 2022;20:608-620.
- [65] Sherr EB, Sherr BF. Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2002;81:293-308.
- [66] Schmidt A, Liu M. Chapter Four: Recent Advances in The Chemistry of Acridines. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, Elsevier, London, USA, 2015, 287-353.
- [67] Schirmer T, Jenal U. Structural and mechanistic determinants of c-di-GMP signalling. *Nature Reviews Microbiology*. 2009;7:724-735.
- [68] Shibuya M, Takebe Y, Kaziro Y. A possible involvement of cya gene in the synthesis of cyclic guanosine 3': 5'-monophosphate in *E. coli*. *Cell*. 1977;12:521-528.
- [69] Simek K, Pernthaler J, Weinbauer MG, Hornak K, Dolan JR et al. Changes in bacterial community composition and dynamics and viral mortality rates associated with enhanced flagellate grazing in a mesoeutrophic reservoir. *Applied Environmental Microbiology*. 2001;67:2723-2733.
- [70] Song F, Koo H, Ren D. Effects of material properties on bacterial adhesion and biofilm formation. *Journal of Dental Research*. 2015;94(8):1027-1034.
- [71] Stanley NR, Lazazzera BA. Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation, *Molecular Microbiology*. 2004;52(4):917-924.
- [72] Stewart PS. A Model of biofilm detachment. *Biotechnology and Bioengineering*. 1993;41(1):111-117.
- [73] Sugisaki K, Hanawa T, Yonezawa H, Osaki T, Fukutomi T et al. The role of (p)ppGpp in biofilm formation and expression of filamentous structures in *Bordetella pertusis*. *Microbiology*. 2013;159:1379-1389.
- [74] Takahashi K, Kasai K, Ochi K. Identification of the bacterial alarmone guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate (ppGpp) in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101:4320-4324.
- [75] Ulus R. Karbonik anhidraz inhibitörü olarak yeni akridin sülfanamit türevlerinin sentezi ve karakterizasyonları. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2012, Kütahya.
- [76] Villanueva VD, Font J, Schwartz T, Romani AM. Biofilm formation at warming temperature: acceleration of microbial colonization and microbial interactive effects, *Biofouling*. 2011;27(1):59-71.
- [77] Waldrop R, McLare A, Calar F, McLemor R. Biofilm growth has a threshold response to glucose in vitro. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2014;472(11):3305-3310.
- [78] Wan X, Tuckerman JR, Saito JA, Freitas TA, Newhouse JS et al. Globins synthesize the second messenger bis-(3'-5')-cyclic diguanosine monophosphate in bacteria. *Journal of the American Chemical Society*. 2009;388: 262-270.
- [79] Weitere M, Bergfeld T, Rice SA, Matz C, Kjelleberg S. Grazing resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms depends on type of protective mechanism, developmental stage and protozoan feeding mode. *Environmental Microbiology*. 2005;7:1593-1601.
- [80] Xu H, Zou Y, Lee HY, Ahn J. Effect of NaCl on the biofilm formation by foodborne pathogens. *Journal of Food Sciences*. 2010;75:M580-M585.
- [81] Yassien M, Khardori N. Interaction between biofilms formed by *Staphylococcus epidermidis* and quinolones. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2001;40(3):79-89.
- [82] Zhang Z, Kim S, Gaffney BL, Jones RA. Polymorphism of the signaling molecule c-di-GMP. *Journal of the American Chemical Society*. 2006;128:7015-7024.

How to cite this article: Yeşilkaya K, Meray G. Bakteriye biyofilm oluşumunu kontrol eden parametreler ve moleküler düzeyde engelleyici stratejiler. *Journal of Health Sciences and Management*, 2024; 4(3):83-90. DOI: 10.29228/JOHESAM.41