



## Dinamik Mikrobiyal Bir Yaşam: Oral Biyofilm

### A Dynamics Microbial Life: Oral Biofilm

Özge Kam Hepdeniz<sup>1</sup>, Özlem Seçkin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Restoratif Diş Tedavisi ABD, Isparta, Türkiye.

#### Özet

Biyofilm; farklı türde mikroorganizmalar içerebilen, aralarında iletişim kurarak haberleşebilen bu mikroorganizmalar tarafından üretilen polisakkarit bir matris tarafından çevrelenen ve yüzeylere tutunabilen, kompleks yapıdaki polimikrobiyal bir topluluktur. Bu kompleks yapıları biyofilme, farklı koşullarda ortama uyum sağlama ve içeriğindeki mikroorganizmaların direnç mekanizmalarının gelişmesi gibi özellikler kazandırmaktadır. Biyofilm için gerekli olan üç ana komponent sırasıyla; mikroorganizmalar, katı bir yüzey ve sıvı akışıdır. Oral kavite bu üç bileşeni de bulundurmaktadır ve kısa sürede biyofilm oluşumu açısından elverişli bir ortam sağlamaktadır. Bu nedenle; diş ve çevre dokuları, kök kanalları, implant bileşenleri, restoratif ve protetik materyaller gibi yüzeylere tutunan, ekstrasellüler polisakkarit bir matris içerisine gömülü bakteriyel topluluğa oral biyofilm adı verilmiştir. Oral biyofilm; ağız içerisinde olduğu yüzeye göre karyojenik bakterilerin etkisi ile birincil ve sekonder çürüklere, endodontik tedavilerin başarısızlığına, periodontal hastalıklara ve implant kayıplarına yol açması nedeniyle klinik açıdan önemli bir mikrobiyolojik süreç olarak görülmektedir. Bu makalede; günümüzde gıda sektöründe, tıp ve diş hekimliği alanlarında önemli bir sorun haline gelen biyofilmin oluşumu, yapısı, mikroorganizmaların birbirleri ile etkileşimleri ile biyofilmin diş hekimliğindeki yeri ve önemi hakkında bilgiler derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Biyofilm, antimikrobiyal, dental plak, restoratif materyaller

#### Abstract

Biofilm is a complex polymicrobial community containing various types of microorganisms, surrounded by a polysaccharide matrix produced by these microorganisms that can communicate with each other and adhere to surfaces. These complex structures gain some properties to biofilm such as adaptability to different conditions and the development of resistance mechanisms of microorganisms. The three major components required for biofilm are; microorganisms, a solid surface and fluid flow respectively. The oral cavity contains these three components and provides a convenient environment for biofilm formation in a short time. Therefore; the bacterial community embedded in an extracellular polysaccharide matrix and adhered to the surface such as tooth and surrounding tissues, root canals, implant components, restorative and prosthetic materials are named as biofilm. Oral biofilm is seen as a clinically relevant microbiological process due to causing primary and secondary caries, failure of endodontic treatment, periodontal diseases and implant loss due to the effect of cariogenic bacteria according to the surfaces formed. This study presents a review of the information about biofilm formation, structure, interactions of microorganisms with each other and the place and importance of biofilm in dentistry since biofilm is one of the most important problems in food industry, dentistry and medicine.

**Keywords:** Biofilm, antimicrobial, dental plaque, restorative materials

#### Giriş

Geçmiş yıllarda tek başlarına planktonik olarak yaşayan ve varlıklarını devam ettiren canlılar olarak bilinen bakterilerin, bir takım çalışmalar ve gözlemler sonucu varlıklarını sürdürebilmek için planktonik formun aksine bir yüzeye tutunarak topluluk halinde farklı bir yapı oluşturarak yaşamlarını devam ettirdikleri gözlemlenmiştir (1). Polisakkarit bir matrisin çevrelediği, farklı yapıda mikroorganizmaları içeren, yüzeylere tutunabilen, aralarında iletişim kurabilen ve haberleşebilen, bu kompleks yapıdaki polimikrobiyal topluluğa da biyofilm adı verilmiştir (2). Film

kelimesi yüzeyi kaplayan ince bir tabakayı ifade ederken biyofilm bu tabakayı oluşturan maddenin biyolojik bir materyal olduğunu ifade etmektedir. Mikrobiyal biyofilm ise yüzeye yapışan biyolojik materyalin mikrobiyal örtüsü olduğunu ifade etmektedir. Biyofilm; canlı veya cansız bir yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmuş ekzopolimerik yapılar, proteinler, polisakkaritler ve nükleik asitlerden oluşan bir ekstrasellüler matris tarafından çevrelenmiş çok hücreli mikrobiyal topluluklara (bakteriler, mantarlar ve protozoalar) verilen isim olarak da tarif edilebilmektedir (3).

Günümüze kadar birçok bilim adamı biyofilmi farklı

şekillerde tanımlamıştır. İlk olarak 17. Yüzyılda Anton von Leewenhoek'un kendi dışından almış olduğu örnekteki birikintiler içinde yaşayan mikroorganizmalardan bahsetmesinin ardından 1978 yılına kadar biyofilm varlığından söz edilmemiştir. 1978 yılında, bakterilerin, yeterli düzeyde besin varlığı olan yüzeylere yapışan bir matriks ile çevrili biyofilm içinde ürettiği tezi ortaya atılmıştır ve ilk defa 'biyofilm' terimi Costerton tarafından kullanılmıştır (4). Biyofilmin en yeni tanımı ise 'Canlı ya da cansız bir yüzeye yapışarak, ekstrasellüler polisakkarit matriks içerisine gömülmüş ve hareketsiz biçimde birbirine, sert bir yüzeye ya da bir ara yüzeye geri dönüşümsüz şekilde tutunmuş protein sentezi ve genetik yapı açısından tamamen farklı fenotip gösterebilen mikroorganizmaların oluşturduğu bir topluluk' olarak belirtilmektedir (4,5,6,7).

Mikrobal biyofilmlerin, katı yüzeylere bilhassa cilasız kalsifiye ve metalik yüzeylere daha kolay yapıştığı belirtilmiştir. Biyofilm uzun yıllardır endüstriyel su ve petrol boru sistemlerinde önemli bir sorun olarak bilinirken, son dönemlerde tıpta da öneminin sadece diş üzerindeki birikintilerden ibaret olmayıp özellikle yabancı cisim enfeksiyonları başta olmak üzere birçok kronik enfeksiyonda da rol oynadığı bildirilmiştir (8). Diş hekimliğinde incelenmesi gereken biyofilmler ise ağız mukozası, mine ve sement yüzeylerinde (biyotik yüzeyler) ve diş hekimliği cihazlarının hava su borularının iç yüzeylerinde (abiyotik yüzeylerde) gözlenenler olarak belirtilmektedir (9).

### 1.BİYOFLİMİN YAPISI

Bir mikrobiyal topluluğun biyofilm olabilmesi için dört temel kriteri barındırması gerekliliği belirtilmiştir. Bu kriterler;

- 1-Kendi kendilerine organize olma özelliğine sahip olma.
- 2-Çevresel değişikliklere karşı dirençli olma.
- 3-Topluluk halinde iken izole olduklarından daha etkili olma.
- 4-Çevresel değişikliklere karşı tekil bir bireyden ziyade birlikte karşılık verebilme (10).

Biyofilm; kendi ürettikleri jelsi, polimerik bir matriks içerisinde topluluk olarak yaşayan ve birbirleri ile iletişime geçerek varlıklarının devamı için gerekli fonksiyonların yerine getirilmesini sağlayan mikroorganizmaların oluşturduğu karmaşık bir organizasyondur (1,11). Biyofilmin içerisinde bakterilerin sabit kalabilmek için geliştirdikleri belirli yöntemleri vardır. Bakteri yüzey proteinleri; konağın fibronektin, fibrinojen, vitronektin, elastin gibi ekstrasellüler matriks proteinlerine tutunmaktadır. Konak ile bakterilerin tutunmasında bu adezin proteinleri anahtar rol oynamaktadır (6,12,13). Biyofilm oluşumu için gereken ortak bileşenler mikroorganizma, yüzey ve glikokaliktir. Bu ortak bileşenlerden biri eksik olduğu takdirde biyofilm oluşamamaktadır (13). Bakteriler ekstrasellüler polimerik maddeler olarak da adlandırılan ve bir dizi nükleik asit, polisakkarit ve protein içermekte olan çamurumsu bir matriks içerisinde gömülü olarak bulunurlar (1). Polisakkaritler biyofilm içerisinde yaşamakta olan mikroorganizmalarca sentezlenmektedir ve biyofilmin esas ekstrasellüler bileşenini oluşturmaktadır (13). Ekstrasellüler matriksin biyofilm

yapısının çoğunluğunu oluşturduğu bilinmektedir. Bazı kaynaklarda EPS'nin toplam organik maddenin % 50 ila %90'ını oluşturduğu belirtilirken, (14,15) bazı kaynaklarda yaşayan biyofilmlerin hacimce % 15'ini hücrelerin geri kalan % 85'inin ise matriksin oluşturduğu belirtilmektedir (16,17). Bazı araştırmacılar ise biyofilmlerin çoğunluğunda mikroorganizmaların kuru yapının %10'undan daha azını oluştururken matriksin % 90'dan fazlasını meydana getirdiğini belirtmektedir (18). Matriks, biyofilmi oluşturan hücrelerin içerisinde bulunduğu ve mikroorganizmalarca üretilen ekstrasellüler materyaldir. Farklı türlerde polimerik kümeler ile meydana gelmektedir ve ekstrasellüler polimerik matriks (EPM) olarak adlandırılmaktadır. Üç boyutlu biyofilm yapısında iskeleti EPM oluşturmaktadır (19). Polisakkarit, protein, DNA ve sudan oluşan ekstrasellüler matriks biyofilm hücrelerinin yüzeye tutunmasını sağlamaktadır. Yüzeye sıkıca tutunan bakteriler burada çoğalmakta ve önce mikrokolonileri, mikrokoloniler de büyüyerek ve genişleyerek biyofilm tabakasını oluşturmaktadır (11,20). EPM'ler adezin gibi davranarak mikroorganizmaların yüzeye tutunmalarını sağlamaktadırlar. Bunun yanı sıra mikroorganizmaları da birbirine bağlayarak antimikrobiyal ajanların mikrokoloniler içerisine difüzyonunu önlemekte, geciktirmekte ve konağın savunma sisteminden biyofilm hücrelerini korumaktadırlar (22). Biyofilm, matriks içerisinde varlıklarını sürdüren hücrelere gerekli oksijenin ve esansiyel besinlerin aktarılmasına olanak sağlayan 'su kanalları'na sahip, çok katlı heterojen bir yapıdır (1). Biyofilmler tek bir türden oluşabileceği gibi birden fazla türü de yapısında bulundurabilmektedir. Farklı türlerden meydana gelen biyofilmlerde, her tür kendi mikrokolonisini oluşturmaktadır. Bu mikrokolonileri birbirilerinden su kanalları ayırmaktadır. Su kanalları içindeki devamlı su akışı, besin maddelerinin ve oksijenin difüzyonunu sağlamaktadır (6,23). Biyofilm yapısındaki su kanalları mikrokolonilerin hem altında hem de arasında yer almaktadır. Taşıma işlemi su yardımı ile ya da pasif difüzyon ile kolaylaştırılmaktadır (11,20). Biyofilmin olduğu sistemin yapısına, bakterilerin türüne veya çevresel şartlara bağlı olarak bir biyofilmin olgun hale gelmesi birkaç saat ile bir kaç hafta zaman almaktadır (6,23).

Biyofilm içindeki bakteriler ve mikrokoloniler, birbirleriyle iletişim kurabilme yeteneğine sahiptirler. İletişim sinyali olarak çeşitli kimyasal mekanizmaları kullanmaktadırlar (25,26). Mikroorganizmaların hücre yoğunluğu belli bir seviyeyi aşınca bakteriler "autoinducer" adı verilen sinyal molekülleri salgılar, böylece çevredeki bakterilerde gen ekspresyonu aktive olmaktadır (27,28). Bakteriler çevrelerinde üretilen sinyal moleküllerini algılayabilmekte ve etraflarında bulunan diğer mikroorganizmaların yoğunluğunu hissedebilmektedirler. "Quorum sensing" olarak adlandırılan bu iletişim; hücre yoğunluğuna bağlıdır ve birkaç hücre ile sinyaller düşük seviyede kalırken, hücre miktarı arttıkça iletişim için ideal ortam oluşmaktadır (27). Quorum sensing sayesinde bakteri diğer bir bakteri ile karşılaştığında iletişim kurabilmekte ve davranışını değiştirme yeteneği kazanabilmektedir. Quorum sensing biyofilmi oluşturan topluluğun çok hücreli birim olarak davranmasına ve

birlikte hareket etmesine de izin vermektedir (29). Sinyal iletimi, biyofilm içinde bilgi taşınması için tek yol değildir. Bakteriyel hücrelerin yoğunluğu yüksek olduğunda, aynı tür veya farklı türler arasında genetik bilgi değişimi söz konusu olabilmektedir (27).

## 2.BİYOFLİM OLUŞUMU VE GELİŞİM EVRELERİ

Biyofilm oluşumu için gerekli olan üç önemli komponent sırasıyla; mikroorganizmalar, katı bir yüzey ve sıvı akışıdır (30). Biyofilm oluşturan bakteriler, yaşadıkları ekosistem ne olursa olsun, benzer bir mekanizma ile biyofilm oluşturmaktadırlar (31). Biyofilm gelişimi 5 aşamada gerçekleşmektedir.

### 2.1.Tutunma

Bakterilerin bir yüzeye tutunmasıyla başlayan biyofilm oluşumu dinamik bir süreçtir (1,32). Bakterilerin yüzeye ilk temasında hidrofobik etkileşimlerin büyük rolü vardır (11). Organik ve/veya inorganik maddelerin yüzeye yapışmasının ardından bakteriler bu yüzeye zayıf bir şekilde tutunur (23). Bu tutunmanın sonucunda biyofilm fenotipinin ortaya çıkmasını sağlayan bir dizi genetik işlem başlamaktadır. Bakterilerin yüzeye tutunabilmeleri için, yüzey ile ilk teması algılamaları gerekmektedir. Bakteriler çevrelerinden aldıkları uyarıları fenotipik değişikliklere çevirebilmek için, bir verici ve bir alıcından oluşan düzenleyici bir sisteme sahiptir. Tutunma işlemi gerçekleştikten sonra biyofilm oluşturma amacıyla farklılaşma işleminin başlaması 'Quorum Sensing' sisteminden gelecek yanıtlara bağlıdır. Bu sistem sayesinde bakteriler çevrelerindeki bakteriyel yoğunluğu anlayabilmektedir. Yüzeye tutunan bir bakteri, ortama 'buradayım' mesajı veren bir molekül salgılamaktadır. Yüzeye tutunan bakterilerin miktarı arttıkça, bu sinyalin lokal yoğunluğu artmaktadır. Bu sinyal molekülünün yoğunluğundaki artış ile beraber, biyofilm oluşumuna yönelik bir takım işlemler başlatılmış olmaktadır. Biyofilm içerisindeki bakteriler; düşük molekül ağırlıklarına sahip, intersellüler haberciler aracılığı ile haberleşmektedirler (1,32). Bakterinin hareketi ya da bakterinin yüzeyi ile tutunduğu yüzey arasındaki elektrostatik ya da fiziksel etkileşimler de bu evrede rol oynamaktadır (23). Bu faktörler substratın yüzey enerjisi, sıcaklık, pH, sıvı ortamın akış hızı, bakterinin yüzeye temas süresi, yüzey hidrofobikliği ve besin miktarıdır (24).

### 2.2.Yapışma

Bakterilerin bir yüzeye yapışması ya da kuvvetli bir biçimde tutunmasıdır. Yüzeye tutunan hücreler, bakteri hücre zarındaki proteinlerin uyarımı sonucunda ekstrasellüler polisakarit yapıda materyal sentezlemeye başlamakta ve bu da hücrelerin birbirine ve yüzeye tutunmasını sağlamaktadır (1,6,12,23,32). Başlangıçta mikroorganizma-yüzey ilişkisini düzenleyen fizikokimyasal özellikler yüzey enerjisi ve temas yoğunluğudur. Bu özelliklere ek olarak mikroorganizmaların bir yüzeye tutunmasına yardımcı olan faktörler arasında fibria, pili, kamçı ve glikokaliks gibi yüzey yapıları da sayılmaktadır. Bakteriler bir yüzeye tutunduktan sonra, elektrostatik çekim kuvveti, kovalent ve hidrojen bağları, dipol etkileşimleri ve hidrofobik etkileşimlerin bir kombinasyonu sonucu bağlanmaya devam etmektedirler (8).

### 2.3.Kolonizasyon

Bu evrede, yüzeye tutunmuş olan bakteriler bölünüp çoğalırlar ve biyofilmin en küçük organizasyon birimi olan mikrokolonileri oluştururlar (11). Yapışma sonrasında bu bölgeye yerleşen bakteriler bir yandan belli bir yoğunluğa ulaşmak için çoğalırken diğer taraftan da biyofilm yapımına başlamaktadırlar. Biyofilmin yapısal özellikleri bakterinin yapışmasını (tutunmasını) arttırırken, biyofilm oluşumunun başlaması ile birlikte bakteri tutunma ve hareket (motilite) faktörlerinin salgılanmasında da bir baskılanma olmaktadır (6,11,12).

### 2.4.Olgunlaşma

Mikrokoloniler çoğaldıkça kompleks, mantar şeklindeki yapılara ya da kulelere dönüşmektedirler. Konfokal lazer taramalı mikroskop ile yapılan çalışmalar bakterilerin, kompleks ekstrasellüler polisakarit matriks ile çevrilmiş mikrokolonilerin içerisinde yaşadıklarını ortaya koymuştur. Mikrokoloniler çeşitli yüksekliklerde kuleler oluştururlar ve aralarında, besinlerin taşınması ve metabolik atık ürünlerin uzaklaştırılması için primitif bir dolaşım sistemi gibi görev yapan su kanalları bulunmaktadır. Bu su kanalları biyofilm yapısının canlı bir parçasıdır ve olgunlaşma aşamasında önemli rolleri vardır (1,11).

### 2.5.Kopma ya da ayrılma

Biyofilm oluşumunun beşinci aşaması kopma veya ayrılma evresidir. Bu evrede bakteriler biyofilmden koparak ortama yayılmaktadırlar. Bu kopma olayı dış etkenler sebebi ile meydana gelebileceği gibi, biyofilm oluşum sürecinin bir parçası olarak tek bir hücrenin veya çoklu hücrelerin emboli şeklinde kopmasının bir sonucudur (1, 11).

## 3.BİYOFLİM İÇERİSİNDEKİ BAKTERİLERİN ÖZELLİKLERİ

Biyofilm oluşumunda rol alan bakteriler, biyofilm içerisinde bazı avantajlar elde etmektedirler. Bunlar:

### 3.1.Çevrenin zararlı etkilerinden korunmak

Biyofilm oluşumu kan akımı ve tükürüğün yıkama gücü gibi bir takım fiziksel güçlere karşı dayanıklılık sağlamaktadır. EPS matriksinin diğer bir görevinin de iyon değiştiricisi gibi davranarak farklı ajanların biyofilm içerisine girişlerini engellemek olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak UV ışınları, pH değişiklikleri, kuruma ve osmotik şok gibi çevresel streslerin zararlı etkilerinden korumada da EPS matriksin görev aldığı bilinmektedir (1,11,33).

### 3.2.Metabolik çeşitlilik ve etkinlik artışı

Birçok ekosistemde besin varlığı sınırlıdır. Var olan kaynakları değerlendirip paylaşabilen topluluklar gelişmekte ve varlıklarını devam ettirebilmektedirler. Az gelişmiş yapıdaki bakteriler için gerekli olan kompleks yapıdaki substratlar parçalara ayrılarak besin ağları ile taşınırlar (21). Biyofilm içerisinde yer alan mikrokolonileri çevreleyen yüksek geçirgenliğe sahip su kanalları bulunmaktadır. Bu su kanalları ilkel bir dolaşım sistemine benzemektedir. Bu sistem besinlerin biyofilm içerisinde eşit bir şekilde dağıtılması ve potansiyel olarak toksik metabolitlerin uzaklaştırılması görevini üstlenmektedir (1,32,34).



### 3.3.Yeni genetik özelliklerin kazanılması

Bakteriler biyofilmin bir parçası olabilecekleri gibi çevreden aldıkları uyaranlar (besin, ph, ısı vs.) sonucunda tekrar planktonik hale de geçebilmektedirler. Bu durum ortama uygun olarak salgıladıkları genler aracılığı ile sağlanmaktadır. Hücreler arası ilişkiler ve biyofilmin fiziksel yapısı topluluk içerisinde horizontal gen aktarımını kolaylaştırmaktadır. Doğal mikrobiyal toplulukların evrimi ve genetik çeşitliliği açısından horizontal gen transferi çok önemlidir. Özellikle çoklu ilaç-dirençli bakterilerin ortaya çıkmasında önem kazanmaktadır. Özellikle biyofilmin içerisindeki kapalı ortam, konjügasyonun rahatlıkla yapılabilmesine olanak sağlamaktadır (1,33).

### 3.4.Fagositozdan ve antibiyotiklerden korunma

Bakterilerin ekstrasellüler polisakarit matrisi içerisinde kümeler halinde bulunmaları fagosite edilmelerini zorlaştırmakta ve hümmoral immün sistem bileşenlerinin bakterilere ulaşmalarını engellenmiş olmaktadır (22). Biyofilmin büyük bir bölümünü oluşturan ekstrasellüler polisakaritler savunmada önemli rol oynayan moleküllerdir. Ekstrasellüler polisakaritler bulunduğu bakteriyi güç alanlarından (elektrik çekimi) uzaklaştırarak inflamatuvar hücrelerin fagositozundan korumaktadırlar. Biyofilme sahip organizmalar, oksijen radikalleri, dezenfektanlar, fagositoza ve antibiyotiklere karşı planktonik hücrelerden daha dirençli olmaktadır (6,27,32).

## 4.DOĞADA BİYOFİLM

Biyofilm yapısı, içindeki mikroorganizmaların çevre şartlarından etkilenmesini engelleyen korunaklı bir yapıdır (35). Doğal ortamda, tek tür bakteriler izole bir kültür içerisinde yaşayamazlar. Bakteriler diğer bakteri türleri ile sürekli alışveriş halindedir. Bu alışveriş sırasında birbirlerinin ürettikleri atıkları kullanırlar hatta birbirlerine genetik paketler gönderirler. Hayvanların yaşantısında uygulanabilen 'evrimsel hayat ağacı', bakterilerin gelişim süreçlerini izleyebilmek için kullanılamamaktadır. Bakterilerde bir 'hayat ağacı'ndan değil türler arası bir ağdan bahsedilebilmektedir. Bu da bakterilerin mevcut genetik özelliklerini sadece kendisinden önceki türlerden, yani atalarından değil, kendisiyle herhangi bir ilişkisi olmayan fakat bulunduğu ortamda komşusu durumunda bulunan başka tür bir bakteriden genetik materyal alarak elde edebileceği anlamını taşımaktadır. Henrici ve Zobell gibi araştırmacılar neredeyse 70 yıl önce yüzeye yapışmış bakterilerin varlığını tanımladıkları ve inceledikleri halde, biyofilm topluluklarının anlamı daha yeni anlaşılabilir. Bunun da ötesinde, bakterilerin multisellüler davranış perspektifinde görülmeye başlanması ile mikrobiyolojiye bakış açısı da değişmiştir (36,37). İletişime geçebilecek sayısız bakteri ve üretilebilecek sayısız polisakarit türü var olduğu düşünüldüğünde, elde edilebilecek farklı türdeki biyofilm sayısı sonsuza yaklaşmaktadır. Bu nedenle, doğada tek bir türün oluşturduğu biyofilmler çok nadir olup, daha çok birden fazla organizmanın oluşturduğu biyofilmler izlenmektedir (38,1).

## 5.DİŞ HEKİMLİĞİNDE BİYOFİLM

### 5.1.Ünit Sistemlerinde ve Aletler Üzerinde Oluşan Biyofilm

Mikrobiyal biyofilmlerin; aletler üzerinde oluşturdukları hasarlar ve kontaminasyon bir çok enfeksiyon hastalıklarına ve ekonomik zarara neden olmaktadır (39). Dişhekimliği muayenehane sisteminde kullanılan suyun borular içerisinde kolaylıkla kontamine olabildiği bilinmektedir. Bu mikroorganizmalar diş ünitesinin su deposu ve boruların iç duvarlarında mikrobiyal biyofilm oluşturmaktadırlar (9).

Dental ünitelerde kullanılan suyun çapraz enfeksiyona neden olabileceği ilk kez 1963 yılında G. C. Blake tarafından İngiltere'de yayınlanmıştır (40). Bu tarihten itibaren dental ünit su sistemleri ile ilgili literatürlerde diş hekimliği tedavilerinde steril su kullanımının önemi vurgulanmıştır.

Çeşme suyunun içme suyu olarak tüketildiği bölgelerde dental ünit su kaynağının neden kontaminasyon oluşturduğu, şebeke suyu ile karşılaştırıldığında dental sistemlerdeki suyun yoğun olarak kontaminasyonu çözülmesi gereken sorunlar arasında yer alacaktır (40). Diş ünitesinin su sistemleri kapalı borulardan oluşmaktadır. Sadece su tankına ve aeratörün selenoid valvine açılan bu sistemde kapalı bulunan depo sularının, musluk sularından bazı farkları bulunmaktadır. Bu farklar;

1. Düşük yoğunluktadır
2. Düşük akış hızı vardır
3. Laminar akış vardır(boru içerisinde akarken girdaplar oluşturur)
4. Oda ısısındadır
5. Yüksek basınçlıdır
6. Dar borulardan geçer
7. Aerasol haline gelir
8. İçerisinde çözünmüş bulunan oksijen miktarı değişkendir
9. İçerisinde çözünmüş veya tortu olarak inorganik maddeler bulunur.

Bu farklılıklar diş ünitesinin su depolarında biyofilm oluşumuna ve bazı özgün türlerin çoğalmasına fırsat vermektedir (9). Dental tedaviler sırasında ağız boşluğu mikroorganizmaların en önemli kaynağı olmasına karşın, ünit su sistemleri de özellikle Legionella pneumophila, M. tuberculosis, S. aureus ve diğer gram-negatif bakteriler için kaynak oluşturmaktadır (40).

### 5.2.Oral Biyofilm

Mikroflora ve yaşadığı çevre, birlikte 'ekosistem' ya da 'ekolojik birim' olarak adlandırılır. İnsan vücudu da bir ekosistemdir. İnsan vücudunun yaklaşık yüz trilyon hücreden oluştuğu bunların ancak % 10'unun memeli hücresi olduğu hesaplanmıştır. Geri kalan kısmı yerleşik mikrofloraları oluşturan mikroorganizmalar oluşturmaktadır. İnsan vücudunun deri ve mukoza ile kaplı yüzeylerinde mikrofloralar bulunmaktadır. Mikroflorası bulunan her bölge bir ekosistemdir. Ağız boşluğu da bir ekosistemdir. Oral biyofilm, diş minesini, kök yüzeyi, dental materyaller ve

dental implantlar gibi solid yüzeyler üzerine yapışan ve bir ekstrasellüler polisakkarit matriks (EPS) içerisine gömülü halde bulunan üç boyutlu bakteriyel bir topluluktur (33,41).

Oral kavitede diş yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası 'dental plak' olarak da bilinmektedir (2). Dişler yüzey özellikleri bakımından bakteri kolonizasyonu için çok uygun dokulardır. Bu nedenle yoğun glikokaliksli karmaşık biyofilmler gelişmektedir. Dişlerdeki biyofilmler supragingival diş plağı olarak diş yüzeylerinin üzerinde ya da subgingival plak olarak diş etinin altında oluşabilmektedir. Supragingival plak, belirli bir kalınlığa ulaşmadıkça çıplak gözle görülemez. Henüz kalınlığı az olan plak, bakterileri boyayan eritrosin gibi boya ile görülebilmektedir (42).

Oral biyofilm oluşumu organize ve düzenli bir olaylar zinciridir ve birkaç aşamada tamamlanmaktadır:

1. Pelikül oluşumu
2. Bakterilerin yapışması (0-4 saat)
3. Yapışan bakterilerin gelişimi ve farklı mikrokolonilerin oluşumuna öncülük etmesi (4-24 saat)
4. Mikrobiyal yığılım ve koagregasyonla farklı mikrokoloni türlerinin gelişimine öncülük etmesi (1-14 gün)
5. Olgun biyofilm oluşumu (2 hafta ve sonrası) (43).

Diş yüzeyinden bakteriler ve bütün organik materyalin profesyonel olarak kaldırılmasından hemen sonra yeni organik materyal birikmeye başlamaktadır. Kısa bir süre içerisinde pelikül adı verilen hücre, yapışık organik film tabakası diş yapısını tamamen örtebilmektedir. Pelikül öncelikle tükürüğün çeşitli bileşenlerinin seçici olarak çökmesiyle şekillenir. Pelikülün fonksiyonlarının,

1. Mineyi korumak
2. Dişler arasındaki sürtünmeyi azaltmak
3. Remineralizasyon için matriks sağlamak olduğu belirtilmektedir.

Pelikülün içeriğini çoğunlukla; tükürük glikoproteinleri, fosfoproteinler, lipidler oluşturur. Bunların yanı sıra pelikülün yapısında, dişeti oluk sıvısından gelen bileşenler, ölü bakterilerin hücre duvarı artıkları ve diğer mikrobiyal ürünlere de rastlanmıştır. Pelikül, çoğunlukla prolinden zengin protein içeren tükürük bileşenlerinden oluşan organik bir mine örtüsüdür. Pelikülün yapısındaki proteinler, birçok temel gruba sahiptir ve sonuç olarak ortamdaki fosfat iyonlarını adsorbe eder; buna karşın diğer asidik proteinler, ortamdaki kalsiyum iyonlarını adsorbe eder. Pelikülden izole edilen tükürük proteinleri arasında lizozim, albumin ve immunoglobulin A (IgA) ve immunoglobulin G (IgG) bulunur. Bu proteinlerin bazıları biyolojik olarak aktiftir ve diş yüzeyine kolonize olmaya eğilimi olan mikroorganizmalar üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (33,44).

### 5.2.1. Bakterilerin Yapışması

Oral kavitede 700 den fazla farklı bakteri fenotipi bulunmaktadır (45). Oral biyofilm formasyonu; substrat, pelikül ve bakteriler arasındaki karmaşık fiziksel ve hücresel etkileşimler sonucu oluşmaktadır. Bu etkileşimler pek çok seviyede gerçekleşmekte ve; fiziksel yakınlık, metabolik

alışveriş, işaret molekülü aracılı iletişim, genetik materyal alışverişi, inhibitör faktörlerin üretimi, koagregasyon (genetik olarak farklı hücre tipleri arasındaki özel hücre-hücre tanımları: adezin-reseptör ilişkisi) şeklinde meydana gelebilmektedir (2). Bakteri kolonizasyonunun temeli adezin-reseptör mekanizmasına dayanmaktadır (46). Bakterilerin yüzeye tutunmalarını sağlayan faktörlere adezin adı verilmektedir. Adezinler hücre yüzeyine bağlı protein ve karbonhidratlar olabildikleri gibi, hücre yüzeyinde bulunan yapısal bileşenler de olabilirler. Adezinler her mikroorganizma için değişkenlik gösterebilmekte ve bu adezinler pelikülden bulunan reseptörlerin de yardımıyla bakterilerin peliküle tutunmasını sağlamaktadırlar (47). Pelikül farklı bakteri türlerinin yapışması için gereken spesifik reseptörler içermektedir. Oral bakteriler, sıklıkla Tip I (bazen Tip II) fimbriyalarıyla diş yüzeyine ve/veya adezinleriyle yüzeydeki peliküle bu reseptörler aracılığıyla tutunurlar (43,48,49). Bu evrede kazanılmış pelikül, primer kolonizan bakteriler için bir substrat görevi görmektedir (1,6). Farklı adezinlerin farklı reseptörlere bağlanması oral biyofilm oluşumundaki bakterilerin tutunma sırasını da etkilemektedir (46).

Diş biyofilmi üç evreden oluşur, **Birinci evre** planktonik gram pozitif kokların-streptokok türlerinin peliküle yapışma evresidir (43). Ağız boşluğu incelendiği zaman; birincil dizi, bireysel bir konağın ağız floradaki bir yaşam boyu gerçekleşen normal değişiklik sürecidir (50). Mine veya kök yüzeyi fark etmeksizin, oral mikrofloranın çoğunlukla ilk kolonize olan mikroorganizmalarını S. Sanguis, S. Oralis ve S. Mitis oluşturmaktadır (43). Bu üç Streptococcus türü başlangıç mikroflorasının % 56'sının, Streptococcus'ların da % 95'ini oluşturmaktadır. Oral biyofilm oluşumu yanak ve mukoza yüzeyinde oluyorsa ilk önce Leptothrichia buccalis ve Streptococcus salivarius tutunmakta ve daha sonra sayı ve çeşitlilikleri artmaktadır. Her bir mikrokoloni genellikle saf bakteri kümeleridir. Bu safhadaki biyofilmler, aralıklarla yerleşen bakteri kolonileri olarak gözlenmektedir (27). Streptococcus'ların kolonizasyonunu Actinomyces türlerinin ve Haemophilus ile Neisseria türleri gibi gram negatif bakterilerin kolonizasyonu takip eder. Bu seçici biçimlenme, pelikülden reseptörlerle bakterilerin yüzeyinde bulunan adezinlerin birbirini tanıma sisteminden kaynaklanmaktadır (43). **İkinci evre**, tek hücrelilerin üremesi ve ekstrasellüler polisakkarit yapımı ile mikrokoloni oluşum evresidir (50). Bu evrede erken kolonize olanlar sayıca artmakta ve yüzeye yayılmaktadır. Birbirleriyle otoagregasyon ve diğer planktonik hücreler ya da komşu hücrelerde koagregasyon başlayarak, topluluklar bir mikrokoloni şeklini almaktadırlar (birincil ardıllık). Daha sonra, Fusobakterium türleri ile çapraz bağlanmalar gerçekleşmektedir (ikincil ardıllık). Mikroçevre fakültatiften anaerob duruma geçmektedir. Farklı tür bakteriler arasındaki etkileşimler mısır koçanı (corn cob) ve test tüp fırçası (test-tube brush) oluşumları ile sonuçlanmaktadır. Bu etkileşimler bir santral filamantöz bakteri ve buna uzunluğu boyunca yapışmış farklı bakteri türlerinden oluşabilmektedir (51,42). Streptococcus'lar anaerob bakterilerin üremesini önleyen hidrojen peroksit üretirken Actinomyces naeslundii

ise ürettiği katalaz ile hidrojen peroksiti inaktive ederek anaerobik fusobacterium'ların üremesine yardımcı olmaktadır. Fusobacterium'lar bu sebeple tek başlarına biyofilm oluşturamamaktadırlar. Biyofilm oluşumu için Actinomyces türlerine ihtiyaç duymaktadırlar (52). **Üçüncü evre**, daha çok gram negatif türlerin, spiroketlerin ve hareketli bakterilerin katıldığı artan koagregasyonlarla stabil bir topluluğun zirve topluluğu oluşturduğu; biyofilmin olgunlaştığı evredir (42,51).

Oral biyofilm içindeki bakterilerin ortak davranış şekli oldukça spesifiktir. Birincil kolonize olan bakteriler kendi aralarında koagregasyon gösterirken, genelde ikincil kolonize olan bakteriler ile göstermemektedirler. Aynı zamanda ikincil kolonize olan bakteriler Fusobacterium Nucleatum ile koagregasyon sağlarken genelde birbirleri ile birleşme gerçekleştirmemektedirler. F. nucleatum'un yokluğunda ikincil kolonize olan bakteriler oral biyofilmin bir parçası olamamaktadırlar (53). F.nucleatum bu sebeple birincil ve ikincil bakteri kolonileri arasında köprü görevi görmektedir ve oral biyofilm oluşumunda temel organizma olarak kabul edilmektedir (44,54).

### 5.2.2.Endodontide Biyofilm

Kök kanal tedavisi sonrasında kanallar içerisinde hayatta kalan mikroorganizmalar uygun şartlar oluştuğunda üremeye devam etmektedir. Kanallar içerisinde çoğalan ve hastalık yapabilecek virülansa ulaşan mikroorganizmalar endodontik tedavinin başarısızlıkla sonuçlanmasına sebebiyet verebilmektedirler (55). Bu olgular sekonder enfeksiyon olarak adlandırılmaktadır ve bu olgularda Enterococcus faecalis (E. Faecalis) en sık izole edilen türdür (21). Son zamanlarda; uzun süreli endodontik tedaviye cevap vermeyen, inatçı enfeksiyonlara sahip dişlerin varlığı, endodontide de biyofilm ve biyofilm eliminasyonunu üzerinde durulması gereken bir konu haline getirmiştir (56).

### 5.2.3.Restoratif Materyallerde Biyofilm

Ağızda biyofilm oluşumu diş yüzeyleri, kullanılan restoratif materyaller ve implant bileşenleri gibi tüm sert yüzeylerde görülebilmektedir (57). Restoratif materyaller üzerinde oluşan biyofilm karyojenik bakterilerin etkisi ile sekonder çürüklere ve periodontal hastalıklara sebep olabilmektedir (58,59).

Birçok araştırmacı restorasyonların estetik görünümünün ve ömürlerinin uzun olmasında, restorasyonun yüzey özelliklerinin önemli rol oynadığını bildirmişlerdir (60). İlk bakışta ağız içerisindeki biyomateryaller üzerinde oluşan biyofilm nispeten zararsız görünse bile, zaman içerisinde konumuna göre ağır sonuçlar doğurabilmektedir. Dental implantlar üzerinde oluşan biyofilmler periodontitise benzer şekilde gelişen peri-implantitise sebep olabilmektedir. Diş eti marjinine yakın bölgelerdeki sınıf II restorasyonlar bakteri kolonizasyonuna elverişlidir ve diş eti problemlerine, sekonder çürüklere sebep olabilmektedir. Kompozit restorasyonlar üzerinde oluşan biyofilm, materyalin yüzeyinin pürüzlünlüğüne neden olur, restorasyon ve diş arasında bakteri kolonizasyonu oluşması sonucu ikincil çürüklere ve pulpa patolojilerine yol açabilmektedir. Ortodontik braketler

etrafında oluşan biyofilm ise braket etrafındaki minerin demineralizasyonuna neden olmaktadır. Bütün bunlara bağlı olarak biyofilm oluşumuna daha az elverişli ve antimikrobiyal bileşikler salan materyallere olan ihtiyaç artmaktadır.

### 5.2.4.Akrilik materyaller üzerinde biyofilm

Akrilik rezin ve polimetil metakrilat; ölçü kaşığı, yapay dişler ve protez kaide plağı gibi geniş bir uygulama alanına sahiptir. Akrilik protezlerin kullanımına bağlı olarak oluşan klinik problemlerden birinin mantar adezyonuna bağlı stomatit olduğu bilinmektedir. Protezlerden izole edilen baskın mantar türünün candida albicans olduğu tespit edilmiştir (%75). Candida glabrata da yüksek oranda tespit edilmektedir (%30). Ayrıca bu türün, yüksek inflamasyon derecesine sahip hastalarda daha yüksek oranlarda olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, Candida dubliniensis, Candida parapsilosis, Candida krusei ve Candida tropicalis de akrilik protezlerden izole edilebilen mantar türleri arasında bulunmaktadır. Mantarların protez kaide materyallerine oldukça güçlü şekilde yapıştıkları bilinmektedir. Bunun sebebi olarak akrilik materyalin porözlü yapısının biyofilm oluşumu için elverişli olması gösterilebilir. Materyalin yüzey pürüzlülüğü arttıkça candidaların tutunması da artmaktadır (61).

### 5.2.5.Metalik biyomateryaller üzerinde biyofilm

İletken olmayan polimer yüzeylere kıyasla, metalik yüzeylere bakteri tutunma mekanizması ile ilgili daha kısıtlı bilgi bulunmaktadır. Ancak elektron transferinin, altın ve amalgam gibi iletken malzemelere bakteri tutunmasında önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Negatif yüklü bir bakteri iletken bir malzemeye yaklaştığında karşıt yüklü bir alanla karşılaşabilmekte ve bunun sonucunda da güçlü bir elektrostatik çekim meydana gelebilmektedir (61).

### 5.2.6.Seramik yüzeylerde biyofilm

Seramik yüzeylerde oluşan biyofilm hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Üç gün boyunca oral hijyen uygulaması yapmayan hastalarda yapılan çalışma sonucunda, iki farklı seramik inley materyali üzerinden toplanan biyofilm miktarının, doğal dişler üzerinden toplanan biyofilm miktarına göre daha az olduğu bildirilmiştir. Beş günlük bir biyofilm tabakasının, altın ve amalgamla kıyaslandığında seramik yüzeylerde daha ince olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşın seramik yüzeyde oluşan biyofilm tabakasının yaşayabilirliğinin daha yüksek olduğu belirtilmektedir (61).

### 5.2.7.Rezin kompozitler ve cam iyonomer simanlar üzerinde oluşan biyofilm

Kolonize olan mikroorganizmalar, rezin kompozitlerin ve cam iyonomer simanların yüzey özelliklerinin bozulması gibi bir dizi olumsuz etkiye sebep olmaktadır. Bu olumsuz etkilerin klinik bulgusunun ise yapılan restorasyonun altında çürük gelişimi olduğu belirtilmektedir.

Yapılan çalışmalarda rezin kompozit ve cam iyonomer simanların doldurucu partükül oranları arttıkça yüzey pürüzlülüğünün arttığı gözlemlenmektedir. Ayrıca biyofilme maruziyet sonucu materyallerin yüzey sertliğinde azalma olduğu belirtilmektedir.

Cam iyonomer simanların hazırlanmaları sırasında meydana



gelen asit baz reaksiyonu, cam iyonomerlerin kompozitlere göre boyutsal olarak daha stabil olmalarını sağlamaktadır. Cam iyonomer simanların kullanımı, mikrosızıntıyı azaltırken biyofilmler üzerinde potansiyel bir etkisi olan flor salınımını arttırmaktadır (61).

### 5.3. Restoratif materyaller üzerinde biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler

#### 5.3.1. Yüzeysel pürüzlülüğü ve serbest yüzeysel enerjisi (SYE)

Yapılan araştırmalar, bakteriyel adezyonun yüzeysel pürüzlülüğü ile doğrudan ilişkili olduğunu ve yüzeysel pürüzlülüğünün plak birikim miktarını belirlemede önemli rolü olduğunu göstermiştir (58,59,62). İncelemeler sonucu plak oluşumunun öncelikle pit ve fissürler gibi retantif alanlarda oluşmaya başladığı gözlemlenmiştir. Biyofilm oluşumunda dişin yüzeysel enerjisinin de etkili olduğu ve pürüzlü yüzeylerin yüzeysel enerjisinin fazla olması nedeni ile biyofilm oluşumuna daha yatkın olduğu bildirilmektedir. Cilalanmış yüzeylerin ise daha düşük yüzeysel enerjisine sahip olduğu belirtilmiştir (59). Bununla birlikte, yüzeysel pürüzlülüğünün biyofilm oluşumunun başlangıç aşamasında etkili olduğu, ancak biyofilm olgunlaştıktan sonra yüzeysel pürüzlülüğünün biyofilme etkisi olmadığı bildirilmektedir (63).

#### 5.3.2. Ortamdaki beslenme faktörlerinin etkisi

Diyetle alınan sukroz ağız içerisinde oluşan biyofilm için besin kaynağı sağlamaktadır. Sınırlı oranda bulunduğu zaman enerji kaynağı olmakta, senteziyle Veillonella için gereken laktik asit üretilmekte, fazla miktarda bulunduğu ortam pH'sını düşürmektedir. Streptococcal glikoziltransferaz (GTF) için substrat oluşturarak çözünebilir ve çözünemeyen glukozların oluşumunu sağlamaktadır. Sükrozun aynı zamanda fermente edilebilir bir karbonhidrat olması, oral biyofilm pH'sını değiştirmekte ve S. Mutans'ların (SM) sayılarının artmasına neden olmaktadır (30).

#### 5.3.3. Materyallerin Antibakteriyel Özellikleri

Cam iyonomer simanlar gibi florür salan materyaller başta olmak üzere, amalgam, altın ve bileşikler gibi iyon salan materyallerin bakterilerin gelişimini ve canlılığını engellediği bildirilmiştir (58,59).

#### 5.3.4. Tükürük

Oral biyofilm oluşumunun kontrolünde tükürüğün önemli rolü bulunmaktadır (59). Tükürük proteinlerinin tüm oral yüzeylerde pelikül içerisinde bulunabildiği bilinmektedir. Bu kazanılmış pelikül mikrobiyal tutunma için pozitif seleksiyon oluşturmaktadır. Tükürük proteinlerinin mikroorganizmanın cinsine göre tutunmayı kolaylaştırabileceği ya da engelleyebileceği bildirilmektedir. Bu nedenle tükürük ile kaplanan yüzeyin ne gibi değişikliklere uğradığı ve oluşan değişimin yüzeyde biriken mikroorganizmaları ne oranda etkilediği önem kazanmıştır (58).

### Sonuç

Ağız içerisindeki sert ve yumuşak dokuların sağlığının sürdürülebilmesinde bakteriyel adezyon, biyofilm yapısı ve oluşum mekanizması, dental materyallerin yüzeysel özellikleri önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle son zamanlarda bu konu

üzerindeki araştırmalar yoğunlaşmakta ve özellikle biyofilm oluşumunun önlenmesi ile ilgili çalışmalar konunun önemini ve güncelliğini korumaktadır.

### Kaynaklar

1. Çiftçi Z. Kronik tonsillitte biyofilmin rolü [Uzmanlık Tezi]. İstanbul, Taksim Eğitim Araştırma Hastanesi KKB Kliniği, 2005; 1-69.
2. Sakaguchi RL, Powers JM. Craig's restorative dental materials. 13th Ed. The Mosby, Philadelphia, 2012.
3. Costerton JW. Overview of microbial biofilms. J Ind Microbiol 1995; 15(3): 137-140.
4. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev, 2002; 15(2): 167-193.
5. Altun HU, Şener B. Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. Hacettepe Tıp Dergisi 2008; 39: 82-88.
6. Davey ME, O'toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. Microbiol Mol Biol Rev 2000; 64: 847-867.
7. Rolland SL, McCabe JF, Robinson C, Walls AW. In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. Eur J Oral Sci 2006; 114(3): 243-249.
8. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 1999; 284(5418): 1318-1322.
9. Aydın M. Mikrobiyal biyofilmler ve aerosoller. Ed. Cengiz, Mısırlıgil, Aydın. Tıp ve dişhekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji Ankara, 2004; 175-180.
10. Caldwell DE, Atuku E, Wilkie DC, et al. Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the proliferation of biofilms. Adv Dent Res 1997; 11: 4-13.
11. Gün İ, İkinci FY. Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. GIDA 2009; 34(3): 165-173.
12. Marsh PD. The role of microbiology in models of dental caries. Adv Dent Res 1995; 9(3): 244-254.
13. Nadell CD, Xavier JB, Foster KR. The sociobiology of biofilms. FEMS Microbiol Rev 2009; 33(1): 206-224.
14. Donlan RM. Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerg Infect Dis 2002; 9(8): 885.
15. Flemming HC, Wingender JG, Mayer C. Physico-chemical properties of biofilms. In: Evans LV, editor. Biofilms: recent advances in their study and control. Amsterdam, 2000; 19-34.
16. Donlan RM and Costerton JW. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. Clin Microbiol Rev 2002; 15(2): 167-93.
17. Lawrence, J. R., D. R. Korber, B. D. Hoyle, and J. W. Costerton. Optical sectioning of microbial biofilms. J. Bacteriol 1991; 173: 6558-6567.
18. Şimşek N, Bulut ET. Biyofilm ve endodonti: Bölüm:1. İnönü sağlık bilimleri dergisi 2012; 2: 1-5.
19. Flemming HC, Wingender J. Biofilm the matrix. Nat Rev Microbiol 2010; 8: 623-33.

20. Akan E, Kınık Ö. Biyofilm oluşum mekanizması ve biyofilmlerin gıda güvenliğine etkisi. *Gıda ve Yem bilimi-teknoloji dergisi* 2014; 14: 42-51.
21. Siqueira JF, Rocas IN. Microbiology an Treatment of Endodontic İnfections In: Cohen's Pathways of the pulp. Hargreaves KM, Berman, L. H., ed. 10 Ed.:Mosby International, 2010; 559-600.
22. Donlan RM. Role of biofilms in antimicrobial resistance. *ASAIO J* 2000; 46: 47-52.
23. Altun HU, Şener B. Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2008; 39: 82-88.
24. Baumgartner JC, Siqueira JFJ, Sedgley CM, Kishen A. Microbiology of Endodontic Disease In: Ingle's Endodontics. Ingle IJ, Bakland LK, Baumgartner JC, eds. USA: PMPH, 2007; 221-308.
25. Rudney JD. Saliva and dental plaque. *Adv Dent Res* 2000; 14: 29-39.
26. Saraçlı MA. "Quorum sensing": mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor?. *Gülhane Tıp Dergisi* 2006; 48: 244-250.
27. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol* 2005; 32(6): 7-15.
28. Petersen FC, Tao L, Scheie AA. DNA binding-uptake system: A link between cell-to-cell communication and biofilm formation. *J Bacteriol* 2005; 187(13): 4392-4400.
29. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 2001; 55: 165-99.
30. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-745.
31. Danhorn T, Fuqua C. Biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annu Rev Microbiol* 2007; 61: 401-422.
32. Fraud S, Maillard JY, Denyer SP, Kaminski MA, Hanlon GW. A simulated oral hygiene model to determine the efficacy of repeated exposure of amine oxide on the viability of *Streptococcus mutans* biofilms. *Eur J Oral Sci* 2007; 115(1): 71-76.
33. Ertuğral F. Farklı dental materyallerde sükrözlu ve sükrözsuz in sitü oluşan oral biyofilmin kazein fosfo peptit-amorf kalsiyum fosfat ile etkileşiminin taramalı elektron mikroskopunda incelenmesi ve florid salınımıyla ilişkisinin değerlendirilmesi [Doktora Tezi]. Marmara üniversitesi pedodonti anabilim dalı, İstanbul 2012.
34. Godoy GF, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel and remineralization preventive agents in enamel demineralization surface: The role of dental biofilm, saliva and remineralization. *J Am Dent Assoc* 2008; 139: 25-34.
35. Szczuka E, Kaznowski A. Antimicrobial activity of tigeicycline alone or in combination with rifampin against *Staphylococcus epidermidis* in biofilm. *Folia Microbiol Praha* 2014; 59: 283-8.
36. Bothwell MR, Smith AL, Phillips T. Recalcitrant otorrhea due to *Pseudomonas* biofilm. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129(5): 599-60.
37. Biedlingmaier JF, Samaranayake R, Whelan P. Resistance to biofilm formation on otologic implant materials. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 118(4): 444-51.
38. Sutherland I. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 2001; 147(Pt 1) :3-9.
39. Fujishige NA, Kapadia NN, Hirsch AM. A feeling for the microorganism: structure on a small scale. *Biofilms on plant roots. Bot J Linnean Soc*, 2006; 150 (1): 79-88.
40. Nohutcu R. Diş Hekimliği Uygulamalarında Çapraz İnfeksiyon Riski 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi-2005. Nisan 24-25, Samsun.
41. Zijng V, van Leeuwen MB, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, Harmsen HJ. Oral biofilm architecture on natural teeth. *Plos One* 2010; 5(2): 1-9.
42. Çağlayan G. Periodontoloji. Birinci basım. Ankara Hacettepe Üniversitesi yayınları 2010; 58-69.
43. Marsh PD, Nyvad B. The oral microflora and biofilms on teeth. In: Fejerskov O, Kidd E. *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Denmark, Copenhagen: Blackwell Publishing Ltd, 2003; 29-48.
44. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54: 413-437.
45. Diaz PI, Chalmers NI, Rickard AH, Kong C, Milburn CL, Palmer RJ Jr, Kolenbrander PE. Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(4): 2837-2848.
46. Lamont RJ, Jenkinson HF. *Oral Microbiology at a Glance 1st Ed.* USA, UK, Wiley-Blackwell, 2010.
47. Onisei D, Onisei D, Feier I, Rusu D, Stratul SI. The biofilm: formation and removal. *TMJ* 2008; 58(1 - 2): 111-117.
48. Hajishengallis G, Michalek SM. Current status of a mucosal vaccine against dental caries. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14: 1-20
49. Sönmez S, Cengiz AT. Mikrobiyal dental plak. *Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji.*, Güneş kitapevi Ltd, 2004; 182-199.
50. Roberson TM. Karyoloji: lezyon, etyoloji, önleme ve kontrol. In: Sturdevant's Art And Acience Of Restorative Dentistry. Beşinci baskı. Ankara, Güneş Kitapevi 2011; 65-131.
51. Nishihara T, Koseki T: Microbial etiology of periodontitis. *Periododontol* 2000 2004; 36: 14-26.
52. Periasamy S, Chalmers NI, Du-Thumm L, Kolenbrander PE. *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 requires *Actinomyces naeslundii* ATCC 43146 for growth on saliva in a three-species community that includes *Streptococcus oralis* 34. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75(10): 3250-3257.
53. Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends Microbiol* 2003; 11(2): 94-100.



54. Chalmers NI, Palmer RJ, Cisar JO, Kolenbrander PE. Characterization of a *Streptococcus* sp.-*Veillonella* sp. community micromanipulated from dental plaque. *J Bacteriol* 2008; 190(24): 8145–8154.
55. Siqueira JF, Jr. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94(3): 281-293.
56. Chaves de Paz LE. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biyofilm communities. *J Endod* 2007; 33(6): 652-662.
57. Ausschill TM, Artweiller NB, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur J Oral Sci* 2002; 110: 48-53.
58. Dosdoğru EY, Erdem AP, Sepet E, Aytepe Z. Restoratif Materyallerin Dental Biyofilm Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg. J Dent Fac Atatürk Uni* 2014; 8: 89-97.
59. Bani M, Öztaş N. Cam iyonomer içerikli farklı restoratif materyallerin yüzey pürüzlülüklerinin değerlendirilmesi. *Acta Odontologica Turcica* 2013; 30(1): 13-7.
60. Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC. Biofilm Formation on Dental Restorative and Implant Materials. *J Dent Res* 2010; 89(7): 657-665.
61. Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials* 2001; 22: 481-7.
62. Dezelic T, Guggenheim B, Schmidlin PR. Multispecies biofilm formation on dental materials and an adhesive patch. *Oral Health Prev Dent* 2009; 7: 47-53.
63. Steinberg D, Eyal S. Early formation of streptococcus sobrinus biofilm on various dental restorative materials. *J Dent* 2002; 30: 47-51.