

MİKROBİYAL BİYOFİMLERE KARŞI YENİ ANTİBİYOFİLM STRATEJİLERİ ve NANOTEKNOLOJİK YAKLAŞIMLAR
NEW ANTIBIOFILM STRATEGIES AND NANOTECHNOLOGICAL APPROACHES AGAINST MICROBIAL BIOFILMS

Dilşad ONBAŞLI^{1*}, Gökçen YUVALI ÇELİK¹ Aysun ÖKÇESİZ²

¹Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Kayseri

²Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Kayseri

ÖZ

Biyofilm, mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, herhangi bir yüzeye yapışmalarını sağlayan ve eksopolisakkarit matriks ile çevrilmiş topluluklardır. Biyofilm yapısı canlı ve cansız pek çok yüzeyde bulunabilir. Onları klasik yöntemlerle tamamen yok etmenin mümkün olmadığı bilinmektedir. Modern tıbbın biyofilm enfeksiyonları ile yüzyüze gelmeye başlaması, antibiyotiklere karşı dirençli bakteri topluluğunun artması ve böylece geleneksel antibiyotik tedavilerinin etkinliğinin azalması gibi konular, bilimi ve endüstriyi bu problemi çözmeye ve önlemeye yönelik alternatif yollar bulmaya çağırılmaktadır. Bu yüzden yeni antibiyofilm stratejilerle bu alanda yapılan araştırmalar hızla artmaktadır. Son yıllarda materyal bilimi ve biyolojiyi birleştiren bir alan olan nanoteknoloji bilimindeki ilerlemeler, bize antimikrobiyal ve antibiyofilm özellikteki nanopartiküllerin kullanımını işaret etmektedir. Bu amaçla, antimikrobiyal, antibiyofilm ve antiadheziv özelliklere sahip metal, metal oksit nanopartiküller ve doğal bir biyopolimer olan kitosan nanopartiküller, çeşitli çalışmalarda biyofilm oluşumuna karşı yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada, yeni antibiyofilm stratejilerin yanısıra mikrobiyal biyofilmlere karşı nanoteknolojik yaklaşımlar da sunulacaktır.

Anahtar kelimeler: Mikroorganizma, Biyofilm, Nanoteknoloji, Nanopartikül

ABSTRACT

A biofilm is a community of microorganisms encased within an exopolysaccharide matrix attached to a surface. Biofilm structures can be found in many surfaces that are alive or inanimate. It is known that conventional methods are inefficient to destroy them completely. In modern medicine, the number of infections related with antibiotic-resistant bacteria has increased and microorganisms growing in biofilms induce many of them. When effectiveness of conventional antibiotics is decreased, there is an urgent need to develop alternative ways to solve and prevent these problems via science and industry. Therefore, the researches done in this area with new antibiofilm strategies are increasing rapidly. Recently, advances in nanotechnology is an area that combines material science and biology points out that the utilization of antimicrobial and antibiofilm activities of nanoparticles. For this purpose, metal, metal oxide, nanoparticles with antimicrobial features, kitosan nanoparticles-natural biopolymers have been used widely against biofilm formation in several studies. In this study, along with the new antibiofilm strategies, nanotechnological approaches against microbial biofilms will be presented.

Keywords: Microorganism, Biofilm, Nanotechnology, Nanoparticle

GİRİŞ

Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluklardır (1). Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen terminolojide “hücre dışı polimerik yapı”, “eksopolisakkarit” ya da “eksopolimer (EPS)” olarak adlandırılan polisakkarit bazlı bir ağ yapısıdır (2). Polisakkarit, protein, deoksiribonükleik asit (DNA) ve sudan oluşan hücre dışı matriks, biyofilm hücrelerinin tutunmasını sağlar. Matriksin en önemli fonksiyonlarından birisi ultraviyole, radyasyon, farklı pH koşulları, ozmotik basınç, su kaybı, antibiyotik gibi birçok faktöre karşı bakteriyi korumaktır (3). Antimikrobiyal kimyasal ajanlardan olan antibiyotik ve surfaktanlar, çevreye zararlı olma riskleri bulunmasına rağmen gerektiği durumlarda mümkün olduğunca az miktarda kullanılarak biyofilmlerin kontrol edilmesinde konvansiyonel yöntem konumundadır. Biyofilm yapısında bulunan eksopolisakkarit yapının antibiyotiklerin penetrasyonunu azaltarak bakteriye ulaşmasına engel olması ve antibiyotik dirençli mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonların sayılarının artmasıyla bu geleneksel yaklaşımlar biyofilm yapısını yok etmede yetersiz kalmaktadır (4). Biyofilmleri uzaklaştırmada başarısız olan mevcut yöntemler aynı zamanda mali yönden avantajlı değildir. Bu gibi olumsuz durumlar biyofilm oluşumunu engellemek için araştırmacıları farklı ve yeni arayışlara itmiştir. Dolayısıyla, bilim ve teknoloji disiplinlerinin iç içe geçtiği nanoteknoloji alanındaki ilerlemeler, antimikrobiyal ve antibiyofilim özellikteki nanopartiküllerin kullanımına da kapı aralamıştır.

Yeni Antibiyofilim Stratejiler

Biyofilm oluşumu, kimyasal ve fiziksel yöntemler kullanılarak kontrol altına alınabilir. Fakat biyofilmlerdeki bakteri yaşamı antibiyotiklere ve dezenfektanlara oldukça dirençlidir ve planktonik formlara kıyasla mekanik olarak uzaklaştırmak daha zordur. Bunun kontrolü için çeşitli antibiyofilim stratejiler kullanılmaktadır (5).

Quorum Sensing İnhibitörleri

Quorum sensing inhibitörleri (QSIs) uygulaması, quorum sensing ve biyofilm oluşumunu önlemek için bakteriyel hücre-hücre haberleşmesinin mekanizmasına yapılan müdahaleyle yeni bir yaklaşım olarak sunulmaktadır (6). *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis* virulansları genellikle quorum sensing mekanizması aracılığıyla düzenlenerek biyofilm oluşturma yeteneği ile ilişkilendirilmektedir. Adhezyon ve biyofilm oluşumu quorum sensing inhibitörlerinden olan RNAIII-inhibiting peptide (RIP) aracılığıyla hem *in vivo* hem *in vitro* çalışmalarla önenebileceği gösterilmiştir (7).

Bakteriyofajlar

Faj terapisi, litik bakteriyofajlarla bakteriyel enfeksiyonlara karşı savaşmak için bir alternatif ya da antibiyotik tedavisine ek olarak, özellikle biyofilmi azaltmak ve oluşumunu bozmak için potansiyel ajan olarak kullanılmaktadır. Fajlar, kendi hedef bakterileri için oldukça spesifik ve etkilidirler aynı zamanda insan için patojen değildirler. Onlar yalnızca hedefte bakteri varoldukça kalıcıdır (8).

Enzimler

Biyofilm matriksi bakteri hücrelerini biyofilm kolonileri ile örtmektedir. Matriksin bozulmasının sonucu olarak kolonilerden hücreler ayrılır ve çevreye yayılır. Glukozidazlar, proteazlar ve deoksiribonükleazlar matriksi bozucu enzimler olarak bilinirler (9). *Pseudomonas aeruginosa*, hem mannuronik ve glukuronik asitlerden oluşan bir biyofilm matriksi olan aljinatı hem de aljinatı yok eden bir enzim olan aljinat liyazı üretir. Aljinat liyazın artışı hücrelerin *P. aeruginosa* biyofilmlerinden ayrılmasına izin verir ve dışarıdan eklenen aljinat liyaz *P. aeruginosa* biyofilmlerine karşı kullanılan bazı antibiyotiklerin etkinliğini artırır (10).

Surfaktanlar

Mikrobiyal oluşum olan biyosurfaktanlar, yüzeylerin fizikokimyasal özelliklerini bakteriyel ilişkileri ve sonuç olarak adhezyonu değiştirerek biyofilm yapısına etki edebilirler. Biyosurfaktanların antiadhesiv özellikleri, yüzeye, mikroorganizmanın bulunduğu sıcaklığa, tipine ve surfaktanın konsantrasyonuna bağlıdır. Erişim zamanı ve biyosurfaktanın konsantrasyonu biyofilmi yok etme yeteneğini etkilemektedir (11).

Fitokimyasallar ve Fonksiyonel Gıdalar

Bakteriyel yapışmalara karşı etkinliği olan biyoaktif bileşenler vardır ve bunların birçoğu kızılcık, çay, kahve, şarap ve süt gibi doğal gıdalar ve içeceklerde bulunmaktadır. Örneğin, yeşil çaydaki kateşin, epigallokatekin-3-gallat bir periodonto- patojenik bakteri olan *Porphyromonas gingivalis*'in ağız epitel hücrelerine yapışmasını inhibe eder (12). Üzüm ve posasının çeşitli tiplerinden farklı konsantrasyonlarda polifenoller EPS üretimini ve *Streptococcus mutans*'a glukozil transferazları inhibe edebilirler (13). Shiitake mantarı sulu özütü, *S. Mutans*'ın yapışmasını inhibe eder ve ayrıca *Fusobacterium nucleatum* ve *S. mutans* ve *F. nucleatum* ve *Neisseria subflava* çiftleri arasında koagregasyonu sağlar (14). Gıda ve içeceklerden elde edilen doğal ürünler, yeni anti-yapışkan bileşiklerin keşfi güvenli antibiyofilim stratejilerinin gelişmesine yol açabilir (15).

Nanoteknolojik Yaklaşımlar: Nanopartiküller

Nanoteknoloji, malzeme bilimi ve biyolojinin de dahil olduğu bilim ve teknolojinin hızla büyüyen disiplinler arası bir alanıdır (16). Nanobiyoteknoloji ise nanoteknoloji ve biyoteknolojinin birlikteliği ve özellikle de sağlık sektöründeki uygulamaları ile nanoteknolojinin en umut verici ve en gelişmiş alanlarından biri olarak kabul edilmektedir (17). Son zamanlarda sağlık alanındaki nanoteknoloji uygulamaları araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir. Bugün birçok tedavi çok fazla zaman almakta ve aynı zamanda çok pahalıdır. Nanoteknoloji kullanılarak, daha hızlı ve çok daha ucuz tedaviler geliştirilebilir. Bu teknoloji üzerinde daha fazla araştırmalar yaparak, bugün için hiçbir çaresi olmayan hastalıklar için de tedaviler bulunabilir (18). Nanoteknoloji, ilaç geliştirme ve ilacın hedeflenen bölgeye ulaşması açısından muazzam bir uygulama alanına sahiptir (19). Aynı zamanda nanoteknoloji uygulamaları, tedavi sürecinde yüksek bir tehdit oluşturan cerrahi ve tıbbi cihazlardaki

biyofilm oluşumunun engellenmesi için de kullanılabilir (18).

Mikrobiyal biyofilmler geliştikleri zaman mikroorganizmaların geri dönüşümsüz olarak bir yüzeye yapışmasını kolaylaştırır ve yapısal bir matriks sağlayan hücre dışı polimerler üretirler (20). Bu yüzey, atıl, cansız materyal veya canlı doku olabilir (21). Bakteriyel bir enfeksiyonun oluşmasında biyofilm, bakteriyel bir topluluğa bağlı 3 boyutlu bir kompleks olarak konak savunması yapar ve terapötik ajanlardan bakterileri korur (22). Biyofilmler tarafından sağlanan koruma, daha fazla sayıda kalıcı hücre, quorum algılama sistemleri, biyosorbsiyon, gen ifadesine tepki ve akış sistemleri dahil birçok mekanizmadan ortaya çıkar. Biyofilmler içinde sınırlı maddelerin pasif taşınması antimikrobiyallerin hareketini bastırır (23). Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar, büyüme oranları açısından ve antimikrobiyal tedavilere karşı oluşturdıkları direnç ile serbest organizmalardan farklı davranırlar ve bu yüzden bir halk sağlığı sorunu oluşturlar. Antibiyotik, biyosit ve mekanik strese biyofilm topluluğunun artan toleransı nedeniyle, olgun biyofilmi ortadan kaldırmak tamamen zorlaşmıştır (21). Biyofilmi tamamen yok etmek veya gelişimini önlemek için yaygın olarak yapılan işlemler, kimyasal ya da mekanik kesme yoluyla olgun biyofilmi kaldırmak veya bakteriyel yapışmayı önlemek ya da yerinde temizlemek için, beslenmedeki nutrientleri sınırlandırmak veya değişen yüzey materyallerinin dezenfeksiyonlarını içerir (24). Biyofilm oluşumu ayrıca, bakteriyel kolonizasyonu kısıtlayan yüzeyler dizayn edilerek de önlenebilir (25). Nanoteknolojinin devreye girdiği bu noktada nanopartiküller, boyut ve biyolojik moleküllerle yapısal benzerliği nedeniyle biyomedikal uygulamalarda büyük bir ilgi çekmektedir. Günümüzde bu amaçla nanopartiküllerin kullanımı tıbbi cihazlarda kalıcı biyofilm enfeksiyonlarıyla ilgili mücadelede en umut verici stratejilerinden biri olarak kabul edilmiştir (26). Yüzeylerin nanoışlevselliği, kaplama, emdirme veya gömme ile nanomateryaller bakteriyel yapışmayı ve biyofilm oluşumunu inhibe edebilir (25). Dolayısıyla nano ölçekli malzemeler özellikle, eşsiz kimyasal ve fiziksel özellikleri ve hacim oranı, yüksek yüzey alanına sahip olması nedeniyle, tıbbi cihazlarda kalıcı biyofilm enfeksiyonlarını kontrol etmek için son yıllarda kullanılmıştır (24). Nanomateryaller 1-100 nm arasında değişen bir çapa sahiptir ve bakır, çinko, titanyum, magnezyum, altın, alginat, gümüş gibi farklı malzemelerden yapılabilir (26). Nanopartiküller, bakterilere kıyasla küçüktürler ve sulu sistemlerde kolayca hareket edebilirler (27). Sulu sistemlerde ilerleyen nanopartikül metal ve metal oksitler, stabilitelelerinden dolayı organik bileşiklere göre daha avantajlıdır (28). Nanopartiküllerin çoğu antibakteriyel aktivite gösterirler. Nanopartiküllerin antibakteriyel aktiviteleri iki temel faktöre dayanır. Bunlardan birincisi nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri ikincisi ise bakterinin türüdür (29). Bakterilerin metal nanopartiküllerine karşı direnç kazanma ihtimali, diğer geleneksel ve dar spektrumlu antibiyotiklerden daha azdır (30). Nanopartikül metal oksitler çok sayıda kenar, köşe ve diğer potansiyel reaktif bölgelere sahip alışılmamış kristal morfolojileri ve son derece yüksek yüzey alanları ile antimikrobiyal ajan olarak büyük ilgi görmüşlerdir fakat toksik etkilerinden dolayı belirli metal oksitler halen inceleme aşamasında-

dırlar (31). Bu metal oksitler arasında çinko oksit ZnO antibakteriyel ajan olarak dikkat çekmektedir (32). Buna ilaveten çinko oksit ZnO nanopartiküller (ZnO-NPs) biyofilmi inhibe eder ve dolayısıyla biyomedikal yüzeylerdeki bağlantıyı ve mikroorganizmaların canlılığını azaltabilir (33). Biyofilm ilişkili enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisinde, farklı mikroorganizmalara karşı metal nanopartiküllerinin de antibiyofilm aktivitesi araştırılmış, gümüş nanopartikülleri (Ag-NPs) biyofilm oluşumunu etkili bir şekilde önlediği ve biyofilm oluşturan bakterileri öldürdüğü sonucuna varılmıştır (34). Anasri ve ark. (35) metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ve metisilin dirençli *S. epidermidis* (MRSE)'ye karşı gümüş nanopartiküllerinin antibiyofilm etkisini araştırmışlardır. Çalışmada, gümüş nanopartiküllerinin antibiyotik dirençli biyofilm kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde gelecekte büyük rol oynayacağı sonucuna varılmıştır. Antibiyofilm aktivitenin artırılması için gümüş ve kurkumin nanopartiküllerinin (Cur-NPs) kombinasyonu araştırıldığında ise, Cur-NPs ve AgNPs olgun biyofilmleri yok ettiği ve biyofilm oluşumunu inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (36). Bunun yanı sıra, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *Proteus mirabilis*'e karşı selenyum ve selenyum dioksit nanopartiküllerinin antibiyofilm etkisinin araştırıldığı *in vitro* çalışmada, elde edilen sonuçlara göre selenyum nanopartiküllerinin biyofilmi inhibe ettiği görülmüştür (37). Sathyanarayanan ve ark. (38) çinko oksit ve titanyum dioksit nanopartikülleri ile yaptıkları başka bir çalışmada ise; *Streptococcus mitis*'in biyofilm oluşum aktivitesini azalttığı sonucuna varmışlardır. Forier ve ark. (39) bakteriyel biyofilmlere karşı lipid ve polimer nanopartiküllerinin ilaç geçişi üzerine yaptıkları çalışma sonucunda, ilaçlarla birlikte lipid ve polimer nanopartiküllerinin önemli bir strateji olarak görüldüğünü belirtmişlerdir. Enkapsüle halde verilen ilaç tedavisinde, bakteri hücrelerine bu nanopartiküller sayesinde daha çok antibiyotik geçerek tedavinin etkinliğinin artacağı ifade edilmiştir.

Doğal bir polimer olan kitosan, metal nanopartikülleri stabilize etmek için polimer bazlı koruyucu bir ajan olarak rapor edilmiştir (40). Kitosan, biyoyoumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği, toksik olmayan ve adsorpsiyon özellikleri nedeniyle, Ag, Altın (Au) ve Platin (Pt) nanopartiküllerini hazırlamak için stabilize edici bir madde olarak kullanılmıştır. Bu kitosan korumalı nanopartiküller, ilaç, biyomedikal ve biyosensör uygulamaları için ilgili sistemlere kolayca entegre edilebilmektedir. Kitosanın antimikrobiyal etkisi molekül ağırlığı, deasetilleme derecesi, pH, sıcaklık gibi iç ve dış faktörlerden etkilenmektedir. Son yıllarda kitosanın modifiye edilmesi yoluna gidilerek bu faktörleri minimize etme yolunda çalışmalar bulunmaktadır (41).

SONUÇ

Tıbbi uygulamalarda girişimsel tekniklerin ve kalıcı tıbbi araçların kullanımının artışı biyofilm enfeksiyonlarının da artışına neden olmuştur (42). Bu enfeksiyonların tedavisi için kullanılan antibiyotik tedavisi, biyofilmlerin bakterileri antimikrobiyallere karşı koruması ve dirençli mikroorganizmalar oluşturmaları sebebiyle günümüzde artık tek başına yetersiz olmaya başlamıştır. Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde etkisiz

olan antibiyotikler, olası antibiyofilm ajanlarıyla kombine edilirse antibiyotiklerin etkisini artıracak ve böylece biyofilm ilişkili enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilir hale gelecektir. Son on yılda, bakteriyel biyofilm oluşumunu değiştiren küçük moleküllerin keşfi ile nanoteknoloji bilimi, sağlık alanında, teşhis ve tedavi metodlarıyla ilgili alanlarda kullanılmaya başlanmıştır (43). Bu amaçla son zamanlarda yapılan çalışmalarla elde edilen veriler ışığında, antimikrobiyal ve antibiyofilm özelliklere sahip nanopartiküllerin mikrobiyal biyofilmlere karşı kullanımı, yeni nanoteknolojik yaklaşımların gerekliliğini göstermiştir. Tıp ve eczacılıkta kullanılan nanopartiküllerin uzun süreli antimikrobiyal, antibiyofilm, toksik, fiziksel ve klinik etkileri ise gelecek çalışmalarda araştırılması gereken konular arasında yerini alacaktır.

KAYNAKLAR

1. Leone S, Molinaro A, Alfieri F, et al. The biofilm matrix of *Pseudomonas* spp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydr Res* 2006; 341:2456-2461.
2. 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; 1:79-88.
3. Gün İ, Ekinci Y. Biyofilmler: Yüzeylerdeki Mikrobiyal Yaşam. *Gıda* 2009; 34(3):165-173.
4. Ferreira C, Pereira A, Melo LF, et al. Advances in industrial biofilm control with micro-nanotechnology. *Microbiol Microbial Biotechnol* 2010; 845-854.
5. Aswathanarayan J, Vittal R. Microbial biofilms and their control by various antimicrobial strategies. *Formatex* 2013; 1:124-133.
6. Lonn-Stensrud Jr, Landin MA, Petersen FC, et al. Furanones, potential agents for preventing *Staphylococcus epidermidis* biofilm infections. *J Antimicrob Agents Chemother* 2009; 63:309-316.
7. Balban N, Giacometti A, Cirioni O, et al. Use of the quorum-sensing inhibitor RNA-III inhibiting peptide to prevent biofilm formation *in vivo* by drug resistant *Staphylococcus epidermidis*. *J Infect Dis* 2003; 187:625-630.
8. Pires D, Sillankorva S, Faustino A, et al. Use of newly isolated phages for control of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and ATCC 10145 biofilms. *Res Microbiol* 2011; 162:798-806.
9. Kaplan JB. Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J Dental Res* 2010; 89:205-218.
10. Alipour M, Suntres ZE, Omri A. Importance of DNase and alginate lyase for enhancing free and liposome encapsulated aminoglycoside activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64:317-325.
11. Gomes MZV, Nitschke M. Evaluation of rhamnolipid and surfactin to reduce the adhesion and remove biofilms of individual and mixed cultures of food pathogenic bacteria. *Food Cont* 2012; 25:441-447.
12. Sakanaka S, Aizawa M, Kim M, et al. Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Porphyromonas gingivalis*. *Biosci Biotechnol Biochem* 1996; 60:745-749.
13. Timothe J, Bonsi IA, Padilla-Zakour IP, et al. Chemical characterization of red wine grape (*Vitis vinifera* and *Vitis* interspecific hybrids) and pomace phenolic extracts and their biological activity against *Streptococcus mutans*. *J Agric Food Chem* 2007; 55:10200-10207.
14. Shouji N, Takada K, Fukushima K, et al. Anticaries effect of a component from shiitake (an edible mushroom). *Caries Res* 2000; 34:94-98.
15. Signoretto C, Canepari P, Stauder M, et al. Functional foods and strategies contrasting bacterial adhesion. *Cur Op Biotechnol* 2012; 23:160-167.
16. Panda K, Achary V, Krishnaveni R, et al. In vitro biosynthesis and genotoxicity bioassay of silver nanoparticles using plants. *Toxicol In Vitro* 2011; 25:1097-1105.
17. Anastas PT, Warner JC. *Green Chemistry: Theory and Practice*. Oxford University Press Inc New York 2000; pp 132.
18. Namasivayam SKR, Roy EA. Enhanced Antibiofilm Activity of Chitosan Stabilized Chemogenic Silver Nanoparticles Against *Escherichia coli*. *Int J Sci Res Pub* 2013; 3:1-9.
19. Murugan K, Krishnasamy S, Kalyanasundara VB, et al. Nanotechnological approach for exploring the antibiofilm a potential of an ethanomedicinal herb *Andrographis paniculata* for controlling lung infection causing *Pseudomonas aeruginosa*. *Digest J Nanomate Biostruc* 2013; 8:117-126.
20. Baker BJ, Banfield JF. Microbial communities in acid mine drainage. *FEMS Microbiol Ecol* 2003; 44:139-152.
21. Joseph RL. Prosthetic joint infections: Bane of orthopaedists. *Clin Infect Dis* 2004; 36:1157-1161.
22. Junker L, Clardy J. High-Throughput Screens for Small-Molecule Inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Development. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:3582-3590.
23. Choi O, Yu C, Fernandez G, et al. Interactions of nanosilver with *Escherichia coli* cells in planktonic and biofilm cultures. *Water Res* 2010; 44:6095-6103.
24. Darouiche RO, Raad II, Heard SO, et al. A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. *N Engl. J. Med* 2008; 340:1-8.
25. Lellouche J, Friedman A, Gedanken A, et al. Antibacterial and antibiofilm properties of yttrium fluoride nanoparticles. *Int J Nanomed* 2012; 7:5611-5624.
26. Kamal GD, Pfaller MA, Rempe LE, et al. Reduced intravascular catheter infection by antibiotic bonding. A prospective, randomized controlled trial. *Jama* 1991; 265:2364-2368.
27. <http://www.asph.sc.edu/enhs/decho/nanoenviro.htm> Erişim Tarihi: 12 Aralık 2016

28. Sawai J. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxidepowders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. *J Microbiol Methods* 2003; 54:177-182.
29. Hajipour MJ, Fromm KM, Ashkarran AA, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends Biotechnol* 2012; 30:499-501.
30. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gramnegative bacterium *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73:712-720.
31. Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, et al. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir* 2002; 18:6679-6686.
32. Roselli M, Finamore A, Garaguso I, et al. Zinc oxide protects cultured enterocytes from the damage induced by *E. coli*. *J Nutr* 2003; 133:4077-4082.
33. Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, et al. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *Nano Lett* 2006; 6(4):866-870.
34. Martinez-Gutierrez F, Boegli L, Agostinho A, et al. Anti-biofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. *Biofouling* 2013; 29(6):651-660.
35. Anasri MA, Khan MA, Khan AA, et al. Anti-biofilm efficacy of silver nanoparticles against MRSA and MRSE isolated from wounds in a tertiary care hospital. *Indian J Med Microbiol* 2015; 33:101-109.
36. Loo CY, Rohanizadeh R, Young PM, et al. Combination of silver nanoparticles and curcumin nanoparticles for enhanced anti-biofilm activities. *J Agric Food Chem* 2016; 64:2513-2522.
37. Shakibaie M, Forootanfar H, Golkari Y, et al. Anti-biofilm activity of biogenic selenium nanoparticles and selenium dioxide against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Proteus mirabilis*. *J Trace Elem Med Biol* 2015; 29:235-241.
38. Sathyanarayanan MB, Balachandranath R, Srinivasulu YG, et al. The effect of gold and iron-oxide nanoparticles on biofilm-forming pathogens. *ISRN Microbiol* 2013; 272086.
39. Forier K, Raemdonck K, Smedt SC, et al. Lipid and polymer nanoparticles for drug delivery to bacterial biofilms. *J Control Release* 2014; 190:607-623.
40. Maki DG, Mermel LA. Infections due to infusion therapy. In: Bennett, J Brachman P (eds), *Hospital infections*. Lippincott-Raven Philadelphia 1998; pp 689-724.
41. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial Properties of Chitosan and Mode of Action: A State of the Art Review. *Int. J Food Microbiol* 2010; 144:51-63.
42. Acar Doğanlı G. Medikal İmplantlarda Biyofilm Oluşumu. *Tıp Teknolojileri Ulusal Dergisi* 2015; 459-462.
43. Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, et al. Agents that inhibit bacterial biofilm formation. *Future Med Chem* 2015; 5:647-671.