



## Bacterial biofilm: Prevention of biofilm-associated infections

### *Bakteriyel biyofilm: Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların önlenmesi*

Abdulhamit Çalı

Öğ.Gör., Lokman Hekim Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, abdulhamit.cali@lokmanhekim.edu.tr, 0000-0001-6423-9609

#### ABSTRACT

Bacterial biofilm formation, which causes serious problems in the field of health, is an important threat because it increases morbidity and mortality and therefore creates heavy economic pressure on the health sector. Biofilms are aggregations of microorganisms embedded in an extracellular matrix of their own production. Bacteria living in biofilms are more resistant to antibiotics, chemicals or disinfectants than bacteria in planktonic form. There are various mechanisms for this resistance of biofilms to antibiotics, such as the complex and heterogeneous matrix structure of the biofilm, the expression of efflux pumps, horizontal gene transfer and quorum sensing. It also provides protection against the host's immune system cells. In this review, the characteristics and antibiotic resistance mechanisms of bacterial biofilm-associated chronic infections were investigated. New therapeutic options are needed to prevent and control biofilm-associated infections. This review focuses on important new strategies for the prevention of biofilm-associated bacterial infections.

#### ÖZ

Sağlık alanında ciddi sorunlara neden olan bakteriyel biyofilm oluşumu, morbidite ve mortaliteyi artırdığı ve dolayısıyla sağlık sektörü üzerinde ağır ekonomik baskı oluşturduğundan dolayı önemli bir tehdittir. Biyofilmler, kendi ürettikleri bir hücre dışı matrikse gömülü mikroorganizmaların bir araya gelmesidir. Biyofilm içerisinde yaşayan bakteriler antibiyotiklere, kimyasallara veya dezenfektanlara planktonik formda olan bakterilerden daha dirençlidirler. Biyofilmlerin antibiyotiklere karşı göstermiş olduğu bu direnç için biyofilmin karmaşık ve heterojen matriks yapısı, efluks pompalarının ekspresyonu, yatay gen transferi ve yeter sayı farkındalığı gibi çeşitli mekanizmalar mevcuttur. Ayrıca biyofilm konağın bağışıklık sistemi hücrelerine karşıda koruma sağlamaktadır. Bu derlemede bakteriyel biyofilm ile ilişkili kronik enfeksiyonların özellikleri ve antibiyotik direnç mekanizmaları incelenmiştir. Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların önlenmesi ve kontrol edilebilmesi için yeni terapötik seçeneklere ihtiyaç vardır. Bu derlemede, biyofilm ile ilişkili bakteriyel enfeksiyonların önlenmesi için önemli yeni stratejilere odaklanılmıştır

#### ARTICLE INFO/MAKALE BİLGİSİ

Key Words: Biofilms, Antibiotic Resistance, Quorum Sensing

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, Antibiyotik Direnci, Çoğunluk Algısı

DOI: 10.5281/zenodo.5819648

Corresponding Author/Sorumlu Yazar: Öğ.Gör., Lokman Hekim Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, abdulhamit.cali@lokmanhekim.edu.tr

Received Date/Gönderme Tarihi: 17.12.2021

Accepted Date/Kabul Tarihi: 31.12.2021

Published Online/Yayımlanma Tarihi: 31.12.2021

## GİRİŞ

Bakteriyel biyofilm, genellikle eDNA, proteinler ve polisakaritlerden oluşan bir hücre dışı polimerik matrikse gömülü olarak bulunan aynı veya farklı tip bakteri hücrelerinin bir araya geldiği karmaşık bir mikrobiyomdur (1). Biyofilmler, çoklu ilaç direnci, konak savunması ve diğer stresleri tolere edebilme yetenekleri nedeniyle ciddi küresel sağlık sorunları arasında yer almaktadır (2,3). Bakteriler metal, cam ve plastik yüzeyler, dokular ve klinik cihazlar gibi birçok yüzeyde biyofilm oluşturabilme yetenekleri ile bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların oluşmasına neden olurlar (4).

Biyofilmler bakterilere yalnızca değişen pH, besin kıtlığı ve diğer mekanik kuvvetlerden koruma sağlamakla kalmaz, aynı zamanda bakterilerin konak bağışıklık sistemi hücrelerinden korunma ve antibiyotiklere de direnç kazanmasına yol açar (2,5,6). Biyofilme gömülü olan bakteriler planktonik formdaki bakterilere kıyasla antibiyotik ajanlara 1000 kata kadar dirençlidirler (7).

Bakterilerin antibiyotik direncini artıran bu biyofilmlerin oluşumunu engellemek veya kalıcı olarak ortadan kaldırmak için çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Bu konuda çeşitli biyofilm inhibitörleri araştırılmasına rağmen yapılan çalışmalar hala yetersizdir (3,8,9). Bu nedenle biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların önlenmesi ve kontrol edilebilmesi için yeni terapötik seçeneklere



ihtiyaç vardır. Bu derlemede, biyofilm ile ilişkili bakteriyel enfeksiyonların önlenmesi için önemli yeni stratejilere odaklanılmıştır.

## BİYOFİLM YAPISI

Hücre dışı polimerik bir matrisi içine gömülü olan bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapısı bazı ortak bileşenlerden oluşmaktadır. Biyofilm yapısının ana kısmını su (%97) oluşturmaktadır. Biyofilm içindeki kanallar aracılığı ile su heterojen bir şekilde dağıtılır. Besinlerin biyofilm matrisi içerisinde hareketinden sorumludur. Biyofilm matrisinin diğer bileşenleri ise ekzopolisakkarit (%1-2), protein ve glikoproteinler (<%1-2), DNA (<%1), RNA (<%1), lipit ve fosfolipitlerden oluşmaktadır (4,10,11).

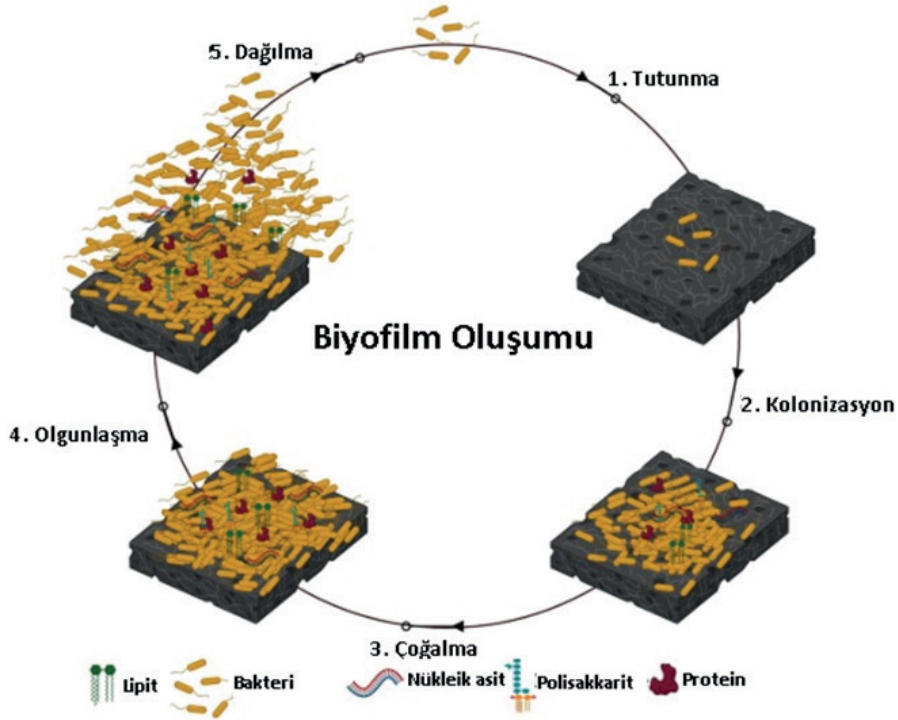
Biyofilm yapısındaki ekzopolisakkaritler (EPS), biyofilm içindeki bakterileri rekabetçi mikroorganizmalardan, sıcaklık değişimlerinden, konak immün sistem hücrelerinden, antibiyotiklerden ve kurumadan korur. Ayrıca EPS, bakterilerin farklı yüzeylere ve konak dokularına yapışmasına yardımcı olabilir (4). Matris bileşenlerinden bir diğeri olan proteinler bakterilerin hücre duvarı yapılarını, yapışmasını, virülansını ve morfogenezini değiştirerek bakterileri zararlı koşullardan ve fagositlerden korur (12). Biyofilm yapısının bir diğer hayati bileşeni ise biyofilmin yapısal bütünlüğünü, stabilitesini, genetik bilgi alışverişini ve antibiyotik veya dezenfektan direncini artıran e-DNA'dır (13).

## BİYOFİLM OLUŞUMU

Canlı veya cansız bir yüzey üzerinde bakteriyel patojenlerin biyofilm oluşturması beş ana basmaktan oluşmaktadır (14,15) (Şekil 1). İlk aşama dönüşümlü tutunma aşamasıdır. Bu aşamada inorganik ve organik moleküllerin yüzeye yapışmasının ardından planktonik bakteri hücreleri asit-baz, hidrofobik, Van der Waals ve elektrostatik kuvvetler gibi zayıf etkileşimler ile yüzeye dönüşümlü şekilde tutunurlar. İkinci aşama dönüşümsüz tutunma (kolonizasyon) aşamasıdır. Bakteri hücreleri lipopolisakkaritler, ekzopolisakkaritler, kollojen bağlayıcı proteinler, flajella ve pili gibi daha güçlü etkileşimler ile yüzeye geri dönüşümsüz olarak bağlanır. Üçüncü aşama koloni oluşumu aşamasıdır. Çok katmanlı bakteriler çoğalma ile birikir ve EPS üretilir ve salgılanır. Kararlı bir üç boyutlu biyofilm topluluğunun oluşum aşaması olan dördüncü aşamada biyofilm içindeki besinler ve sinyal moleküllerinin etkin bir şekilde dağıtımını sağlayacak su kanalları oluşarak biyofilmin olgunlaşması sağlanır. Beşinci aşama ise aktif dağılım aşamasıdır. Bu aşamada bakteriler iç veya dış faktörlerden dolayı kümeler halinde ya da bireysel olarak ayrılırlar. Dağılan bu bakteriler başka yüzeylerde kolonize olurlar (14–16).

## BİYOFİLM İLE İLİŞKİLİ BAKTERİYEL ENFEKSİYONLAR

Bakteriyel biyofilm enfeksiyonları halk sağlığı için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Biyofilm ile ilişkili



Şekil 1. Biyofilm oluşum aşamaları (17).

enfeksiyonlar, kalıcı tıbbi cihazların yüzeylerinde ve konak dokunun üzerinde oluşan biyofilmlerin neden oldukları enfeksiyonlar olmak üzere iki grupta incelenir (18). İlk olarak, Hoiby ve arkadaşları, kistik fibrozis hastalarında *Pseudomonas aeruginosa*'nın biyofilm oluşturması ile tekrarlayan enfeksiyonlar arasında bir korelasyonun olduğunu göstermişlerdir (19). Daha sonra yapılan çalışmalar ile biyofilmlerin dokuya bağlı enfeksiyonların önemli bir kaynağı olduğu fikri benimsenmiştir (20).

Doku ile ilgili bakteriyel biyofilm enfeksiyonları, kistik fibrozis hastalarının kronik tekrarlayan akciğer enfeksiyonları, kronik osteomyelit, kronik prostatit, kronik rinosinüzit, kronik otitis media, kronik yaralar, tekrarlayan idrar yolları enfeksiyonları, endokardit, periodontit ve diş çürükleri dahil olmak üzere birçok kronik enfeksiyonun gelişmesine neden olmaktadır (4,18,20). Ayrıca kalıcı tıbbi cihazlarda bakteriyel biyofilmlerin oluşması için uygun zemin hazırlamaktadır. Ventilator pnömonisi, kan dolaşımı enfeksiyonları, idrar, kalp pili, kontakt lens, eklem protezleri, rahim içi cihazlar ve diş implantları en yaygın bakteriyel biyofilm enfeksiyonları içerisinde yer alır (18,20).

## SESİL BAKTERİLERİN ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Biyofilm içinde bulunan bakterilere sesil form adı verilmektedir. Sesil bakterilerin antibiyotik direnci kronik enfeksiyonların oluşmasına neden olmaktadır. Yapılan birçok çalışmada geleneksel antibiyotik direnç mekanizmalarının bakteriyel biyofilm enfeksiyonlarındaki antibiyotik direncini açıklayamadığını ileri sürmüştür (3,6,21,22). Planktonik bakteriler hedef bölge mutasyonları, düşük hücre zarı geçirgenliği, efluks pompaları, antibiyotik modifiye edici enzimler gibi direnç mekanizmalarına sahipken sesil bakterilerin antibiyotik direnç mekanizmaları bu mekanizmalardan farklıdır (22–26). Ancak yapılan bu çalışmalara dayanarak biyofilmlerde antibiyotik direncine neden olan geleneksel direnç mekanizmalarının da göz ardı edilmemesi gerekir.

Biyofilmin karmaşık yapısı sesil mikroorganizmalara doğal bir savunma kazandırır. EPS yapısı antibiyotikler ve ultraviyole ışınlar karşı sesil bakterileri koruyan fiziksel bir bariyer olarak görev alır (15). EPS'nin negatif yüklü olmasından dolayı pozitif yüklü aminoglikozit grubu antibiyotiklerin biyofilm içine penetrasyonu bloke edilir (27). EPS bariyeri hidrojen peroksit gibi moleküllerin biyofilm içine penetrasyonunu da engelleyerek bakteri hücrelerinin difüzyonunu geciktirebilmektedir (28). Ayrıca EPS, antibiyotik penetrasyonunu azalttığı için beta-laktamaz ekspresyonunun aktivasyonu gibi zaman alıcı bir direnç mekanizmasının devreye girebilmesi için bakterilere zaman kazandırır (29).

Biyofilm yapısının heterojen olmasından dolayı sesil bakterilerin tamamen yok edilmesinin önüne geçilir. Biyofilm, üst katmandan aşağıya doğru besin ve oksijen gradyanına sahip olduğundan dolayı biyofilm içerisinde heterojenlik oluşmaktadır. Biyofilmin alt tabakasında besin ve oksijen az olduğundan dolayı alt kısımdaki bakteriler metabolik aktivitelerini ve büyüme hızlarını yavaşlatırlar (30). Hemen hemen bütün antibiyotikler metabolik aktivitesi ve büyüme hızı yüksek olan bakteriler üzerine etkilidir. Bu nedenle biyofilm alt kısmında yer alan bakteriler daha dirençlidirler (31).

Geliştirilmiş efluks pompalarının, biyofilmlerde antibiyotik direncinin yaygın ve kritik bir mekanizması olduğu gösterilmiştir. Planktonik bakterilere göre sesil bakterilerde bazı efluks pompalarını kodlayan genler yukarı yönlü düzenlenmektedir (32–34).

Sesil bakterilerin direnç mekanizmalarından bir diğeri ise yatay gen transferidir. Biyofilm yapısı, hücre yoğunluğu, artan genetik çeşitlilik ve genetik materyal birikimi ya da direnç genlerinin konjugasyon ile aktarı için uygun koşullar sağlar. Planktonik bakterilere kıyasla sesil bakterilerde konjugasyon daha etkilidir (29).

## YETER SAYI FARKINDALIĞI

Bakteriler, hem olumsuz çevresel koşullara karşı kendilerini savunmak hem de topluluk davranışlarını koordine etmek için sinyal moleküllerini kullanarak hücreler arası bir iletişim sistemi kullanırlar. Bu sisteme yeter sayı farkındalığı (Quorum sensing; QS) ismi verilmektedir. QS, gerek antibiyotik dirençte gerekse bakteriyel biyofilmlerin oluşumunda kilit bir role sahiptir (35). QS sinyal moleküllerinin konsantrasyonu belirli bir eşik değere ulaştığında, bakteriler arasında yeterlilik farkındalığı oluşarak bakterilerin senkronize davranışları tetiklenir. Böylece biyofilm oluşumu gibi sosyal aktiviteler meydana gelir (36). Bakterilerin salgılama sistemleri, efluks pompaları ve EPS salgılama sistemleri gibi birçok yapının oluşmasını sağlayan genlerin regülasyonu QS sinyal molekülleri aracılığı ile düzenlenmektedir (25).

Bakteriyel QS sinyal moleküllerinin üç ana türü vardır; açıl-homoserin laktonlar (AHL), oligopeptitler ve oto-indükleiyici peptitler (AIP) (37,38). Gram negatif bakteriler sıklıkla AHL'leri kullanırken Gram pozitif bakteriler sıklıkla AIP QS sinyal mekanizmalarını kullanmaktadır (39). Bakteri türlerine göre sinyal moleküllerinin çeşitleri bulunur ve bazı moleküller suş değiştiğinde bile değişiklik gösterebilmektedir. AIP'ler hücre içerisinde üretilip işlendikten sonra hücre dışına salgılanır. Hücre dışında AIP konsantrasyonu arttığında AIP'ler hücre zarındaki histidin kinaz reseptörlerine bağlanarak reseptörün kinaz aktivitesini sağlar. Kinaz aktivitesi sayesinde reseptöre bağlı proteinlerin fosforilasyonu

sonucunda sitoplazmik yanıt düzenleyici protein aktive olur. Böylece bu protein QS regulonundaki genlerin transkripsiyonunu gerçekleştirir. Gram negatiflerde AHL'ler hücre içinde üretildikten sonra iç ve dış zarlar boyunca yayılır. AHL'lerin konsantrasyonu arttığı zaman AHL'ler sitoplazmik reseptörlere bağlanır. Bu resptör-sinyal molekülü kompleksi transkripsiyon faktörü olarak görev yapar ve QS regulondaki genlerin ekspresyonlarını düzenler (37–39).

## BİYOFİLM İLE İLİŞKİLİ ENFEKSİYONLARIN ÖNLENMESİNDE ALTERNATİF YAKLAŞIMLAR

Sesil bakterilerin göstermiş olduğu direnç mekanizmalarından dolayı bakteriyel biyofilmlerin yok edilmesi için uzun süreli tedaviler bile etkili değildir. Tedavi sırasında biyofilmler kronik enfeksiyonların oluşmasına neden olmaktadır. Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlardan etkin bir şekilde kurtulmak veya kontrol altına alabilmek için birçok strateji geliştirilmeye çalışılmaktadır. Tablo 1'de biyofilmlerin yok edilmesi ve biyofilm ile ilişkili enfeksiyonları kontrol etmek için geliştirilen birkaç strateji verilmiştir.

UTMD (Ultrasound-Targeted Microbubble Destruction) yönteminin antibiyotiklerle birlikte kullanılmasının antibiyotiklerin etkinliğini artırdığı gösterilmiştir. He ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre *Staphylococcus epidermidis*'in biyofilmi üzerine UTMD'nin ve vankomisin ile birlikte kullanılması örnek olarak verilebilir (40). Bir diğer fiziksel yöntem olan cerrahi debridman yapıldıktan sonra kombine antibiyotik tedavisinin biyofilm oluşumunu önlediği veya kısıtladığı görülmüştür (61). Ayrıca fotodinamik yaklaşım ile biyofilmlerin parçalanması amaçlanmıştır. Bu yaklaşım ile belirli bir dalga boyundaki ışığı emen lipid, protein ve nükleik asit gibi hedef hücrel bileşenlere bağlanarak ışığa duyarlı hale getiren moleküller kullanılmaktadır. Böylece reaktif oksijen radikalleri üretilerek hedef hücre üzerinde toksik etkinin oluşması sağlanmaktadır (42,43).

QS sinyal molekülleri biyofilm oluşumunu indüklediği için anti-QS ajanlar kullanılarak bakteriyel biyofilm oluşumu engellenebilmektedir (35). Bakterilerin birbirleri ile iletişimini engelleme yöntemlerine genel olarak yeter sayı farkındalığını engelleme (Quorum Quenching; QQ) adı verilir (62). Yeter sayı farkındalığını engelleme

**Tablo 1.** Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların önlenmesi için bazı güncel yaklaşımlar

| Stratejiler              | Mekanizma   | Yöntem   | Mikroorganizma  | Kaynak       |
|--------------------------|---|--|---|--------------|
| Fiziksel Yöntemler       | Biyofilm yapısının fiziksel yıkımı                            | UTMD yöntemi                                     | <i>S. epidermidis</i>   | (40)         |
|                          |   | Cerrahi debridman ve antibiyotik                 | <i>P. aeruginosa</i><br><i>S. aureus</i>  | (41)         |
|                          |   | Fotodinamik yaklaşım                             | <i>S. mutans</i>  | (42,43)      |
|                          |   | QS sinyal molekülü üretiminin bloke edilmesi     | <i>P. aeruginosa</i>  | (44,45)      |
| Quorum Quenching         | Biyofilm oluşumunun önlenmesi için QS'in inhibe edilmesi      | QS sinyal molekülü üretiminin nötralize edilmesi | <i>P. aeruginosa</i><br><i>B. bosea</i><br><i>B. brevis</i>   | (46)         |
|                          |   | Sinyal yolağının inhibe edilmesi                 | <i>P. aeruginosa</i>  | (47)         |
|                          |   | c-di-GMP ve c-di-AMP                             | <i>S. mutans</i>  | (48)         |
| EPS                      | EPS üretiminin veya salgılanmasının engellenmesi              | Glukoziltransferaz                               | <i>S. mutans</i>  | (49)         |
|                          |   | Mannosidler                                      | <i>E. coli</i>  | (50)         |
|                          |   | Glukanohidrolazlar ve dispersin B                | <i>S. aureus</i><br><i>P. aeruginosa</i>  | (51)         |
|                          |   | DNaz I   | <i>P. aeruginosa</i>  | (52)         |
|                          |   | Esp serin proteaz                                | <i>S. aureus</i><br><i>S. epidermidis</i>   | (53)         |
| Uçucu yağ ve bileşenleri | Uçucu yağ ve bileşenleri kullanılarak biyofilmin engellenmesi | Çeşitli uçucu yağ ve bileşenleri                 | Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler   | (54,55)      |
| Nanopartiküller          | Nanopartiküller kullanılarak biyofilmin yıkımı                | TiO <sub>2</sub> NP                              | <i>P. aeruginosa</i><br><i>E. coli</i><br><i>S. aureus</i><br><i>S. Epidermidis</i><br><i>C. albicans</i> | (56)         |
|                          |   | Ag NP  | <i>P. aeruginosa</i>  | (57)         |
| Rekombinant fajlar       | Fajlar aracılığıyla bakteri lizisi                            | Rekombinant faj kokteyli                         | <i>E. faecalis</i><br><i>S. typhimurium</i>   | (58)<br>(59) |
|                          |   | Depolimeraz üretimi                              | <i>K. pneumoniae</i>  | (60)         |

stratejileri arasında sinyal molekülünün bloke veya nötralize edilmesi, sinyal reseptörlerinin bloke edilmesi ve sinyal yolunun inhibe edilmesi yer almaktadır (46,47).

Biyofilm yapısının bozulmasını sağlamak için EPS yapısının bozulması gerekmektedir. EPS üretimini veya salgılanmasını engelleyerek, bakterilerin yüzeye yapışmalarını engelleyerek veya EPS'yi doğrudan bozarak biyofilm yapıları ile mücadele edilebilir (63). EPS yapısının üretimini veya salgılanmasını engellemek için glukosiltransferaz gibi enzimler veya siklik di-GMP (c-di-GMP) ve siklik di-AMP (c-di-AMP) gibi ajanlar etkili bulunmuştur (49,64). Mannosidler gibi küçük peptitler aracılığı ile piluslar inhibe edilerek bakterilerin yüzeye yapışmayı engellenebilir (50). EPS yapısının bozulmasını sağlamak için ise glukonahidrolazlar, dispersin B (DspB), Esp serin proteazlar ve DNaz I gibi enzimler kullanılarak biyofilmin enzimatik olarak parçalanması sağlanabilir (51,53,65,66).

Bitkilerden ekstrakte edilen uçucu yağlar ve bunların bileşenlerinden (terpenler, terpenoidler, fenoller vb.) bazıları antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Yapılan çalışmalar sonucunda bazı uçucu yağların ve bileşenlerinin bakterilere karşı antibiyofilmin aktivitesini bildirmiştir. Bu uçucu yağ ve bileşenlerinin bakteriler üzerinde hücre zar yapısının bozulması, hücre duvar biyosentezini engelleme, reaktif oksijen ürünlerinin üretimi ve biyofilmin dağılımdan görevli genlerin düzenlenmesi gibi birçok etki mekanizmasına sahiptirler (54,55,67).

Nanopartiküller ise günümüzde çoklu ilaç dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavilerinde yeni bir strateji olarak araştırılmaktadır. (68). Nanopartiküller bakteriyel membranın parçalanması, proteinler veya DNA ile etkileşime girmesi veya ROS üretimini teşvik etmesi gibi mekanizmalarla geniş bir antibakteriyel ve antibiyofilmin aktivitesine sahiptir (69).

Birçok litik bakteriyofaj biyofilmlerin EPS yapısını bozan depolimerazlar salgılayarak biyofilmler üzerine etki edebilmektedir. İnsanlar veya hedef dışı mikroplar için toksik etkilerinin olmaması ve antibiyotiğe dirençli bakterilere karşı etkinlikleri gibi bazı avantajlarının yanı sıra türe özgü olmaları gibi dezavantajı vardır (58).

## SONUÇ

Bu derlemede, bakteriyel biyofilmlerin ve biyofilmle ilişkili enfeksiyonların özellikleri incelenmiştir. Biyofilmlerin neden olduğu antibiyotik direncinin mekanizmalarına odaklanılarak biyofilm araştırmalarındaki ilerleme gözden geçirilmiştir. Ayrıca biyofilmle ilişkili enfeksiyonlarda karşılaşılan antibiyotik direncinin nasıl engelleneceğine ilişkin yapılan güncel çalışmalar da incelenmiştir. Biyofilmlerin neden olduğu antibiyotik direncinin

önlenmesi için yapılan çalışmalarda ilerleme olmasına rağmen biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların tedavisinde hala büyük zorluklar yaşanmaktadır. Biyofilm ile ilişkili çoklu antibiyotik dirençli bakteriyel enfeksiyonların ortadan kaldırılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun için biyofilm oluşmadan önce biyofilm oluşmasını engelleyecek yeni stratejilerin geliştirilmesi ya da biyofilm oluşuktan sonra etkili bir şekilde biyofilmin parçalanması ve enfeksiyonun tedavi edilmesi konularında ileri çalışmalar yapılmalıdır. Özellikle doğal uçucu yağ bileşenleri, yeni anti-QS ajanları, EPS üretimini engelleyici ya da azaltıcı etkili olan moleküller, yeni nanopartiküller üzerinde daha fazla çalışmalar yapılması belirli biyofilm enfeksiyonlarıyla başa çıkmak için yeterli terapötik stratejilerin seçimine katkı sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Divakar S, Lama M, Asad U. K. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities | Enhanced Reader. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8(76):1–10.
2. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science* (80- ) [Internet]. 1999 May 21;284(5418):1318–22. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>
3. De la Fuente-Núñez C, Reffuveille F, Fernández L, Hancock REW. Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: Antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16:580–9.
4. Kannappan A, Durgadevi R, Srinivasan R, Lagoa RJL, Packiavathy IASV, Pandian SK, et al. 2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde from *Hemidesmus indicus* is antagonistic to *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. *Biofouling* [Internet]. 2020;36(5):549–63. Available from: <https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1777989>
5. McCarty SM, Cochrane CA, Clegg PD, Percival SL. The role of endogenous and exogenous enzymes in chronic wounds: A focus on the implications of aberrant levels of both host and bacterial proteases in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2012;20:125–36.
6. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*. 2001;358:135–8.
7. Singh S, Singh SK, Chowdhury I, Singh R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *Open Microbiol J*. 2017;11:53–62.
8. Srinivasan R, Vigneshwari L, Rajavel T, Durgadevi R, Kannappan A, Balamurugan K, et al. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using Piper betle aqueous extract and evaluation of its anti-quorum sensing and antibiophilmin potential against uropathogens with cytotoxic effects: an in vitro and in vivo approach. *Environ Sci Pollut Res*. 2018;25:10538–54.
9. Kannappan A, Gowrishankar S, Srinivasan R, Pandian SK, Ravi AV. Antibiofilm activity of *Vetiveria zizanioides* root extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microb Pathog* [Internet]. 2017;110:313–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.07.016>
10. Allison DG. The Biofilm Matrix. *Biofouling*. 2003;19(2):139–49.
11. Nazir R, Zaffar MR, Amin I. Chapter 8 - Bacterial biofilms: the remarkable heterogeneous biological communities and nitrogen fixing microorganisms in lakes. In: Bandh SA, Shafi S, Shameem NBT-FM, editors. *Freshwater Microbiology* [Internet]. Academic Press; 2019. p. 307–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128174951000086>
12. Bridier A, Briandet R, Thomas V, Dubois-Brissonnet F. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: A review. *Biofouling*. 2011;27(9):1017–32.

13. Martins M, Uppuluri P, Thomas DP, Cleary IA, Henriques M, Lopez-Ribot JL, et al. Presence of extracellular DNA in the candida albicans biofilm matrix and its contribution to biofilms. *Mycopathologia*. 2010;169:323–31.
14. Çalı A. Hastanede Yatan Hastalardan İzole Edilen Mikroorganizmaların Biyofilm Formasyon Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Sivas: Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2017.
15. Yin W, Wang Y, Liu L, He J. Biofilms: The microbial “protective clothing” in extreme environments. *Int J Mol Sci*. 2019;20(3423).
16. Srey S, Jahid IK, Ha S Do. Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control* [Internet]. 2013;31:572–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.001>
17. Srinivasan R, Vigneshwari L, Rajavel T, Durgadevi R, Kannappan A, Balamurugan K, et al. Biogenic synthesis of silver nanoparticles using Piper betle aqueous extract and evaluation of its anti-quorum sensing and antibiofilm potential against uropathogens with cytotoxic effects: an in vitro and in vivo approach. *Environ Sci Pollut Res*. 2018;25(11):10538–54.
18. Burmölle M, Thomsen TR, Fazi M, Dige I, Christensen L, Homøe P, et al. Biofilms in chronic infections - A matter of opportunity - Monospecies biofilms in multispecies infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2010;59:324–36.
19. Hoiby N, Flensburg EW, Beck B, Friis B, Jacobsen SV, Jacobsen L. *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. Diagnostic and prognostic significance of *Pseudomonas aeruginosa* precipitins determined by means of crossed immunoelectrophoresis. *Scand J Respir Dis* [Internet]. 1977;58(2):65–79. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/404701>
20. Lebeaux D, Chauhan A, Rendueles O, Beloin C. From in vitro to in vivo models of bacterial biofilm-related infections. *Pathogens*. 2013;2:288–356.
21. Alekshun MN, Levy SB. The mar regulon : multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals. *Trends in Microbiology*. 1999;7(10):410–3.
22. Uruén C, Chopo-escuin G, Tommassen J, Mainar-jaime RC. Biofilms as Promoters of Bacterial Antibiotic Resistance and Tolerance. *Antibiotics*. 2021;10(3):1–36.
23. Kumar B, Sharma D, Sharma P, Mohan V. Proteomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* isolates resistant to kanamycin and amikacin. *J Proteomics* [Internet]. 2013;94:68–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2013.08.025>
24. Lata M, Sharma D, Deo N, Kumar P, Bisht D, Venkatesan K. Proteomic analysis of ofloxacin-mono resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Proteomics* [Internet]. 2015;127:114–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2015.07.031>
25. Luo Y, Yang Q, Zhang D, Yan W. Mechanisms and Control Strategies of Antibiotic Resistance in Pathological Biofilms. *J Microbiol Biotechnol*. 2021;31(1):1–7.
26. Walsh C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature* [Internet]. 2000;406(6797):775–81. Available from: <https://doi.org/10.1038/35021219>
27. Tseng BS, Zhang W, Harrison JJ, Quach TP, Song JL, Penterman J, et al. The extracellular matrix protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by limiting the penetration of tobramycin. *Environ Microbiol*. 2013;15(10):2865–78.
28. Zhou G, Shi QS, Huang XM, Xie XB. The three bacterial lines of defense against antimicrobial agents. *Int J Mol Sci*. 2015;16:21711–33.
29. Divakar S, Lama M, Asad U. K. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;3:1–10.
30. Stewart PS, Zhang T, Xu R, Pitts B, Walters MC, Roe F, et al. Reaction-diffusion theory explains hypoxia and heterogeneous growth within microbial biofilms associated with chronic infections. *npj Biofilms Microbiomes* [Internet]. 2016;2(16012):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/npjbiofilms.2016.12>
31. Singh S, Singh SK, Chowdhury I, Singh R. Understanding the Mechanism of Bacterial Biofilms Resistance to Antimicrobial Agents. *Open Microbiol J*. 2017;11(1):53–62.
32. Zhang Y, Xiao M, Horiyama T, Zhang Y, Li X, Nishino K, et al. The Multidrug Efflux Pump MdtEF Protects against Nitrosative Damage during the Anaerobic Respiration in *Escherichia coli*. *J Biol Chem* [Internet]. 2011;286(30):26576–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M111.243261>
33. Acker H Van, Coenye XT. The Role of Efflux and Physiological Adaptation in Biofilm Tolerance and Resistance. *J Biol Chem*. 2016;291(24):12565–72.
34. Ferrer-Espada R, Shahrour H, Pitts B, Stewart PS, Sánchez-gómez S, Martínez-de-tejada G. A permeability-increasing drug synergizes with bacterial efflux pump inhibitors and restores susceptibility to antibiotics in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Sci Rep*. 2019;9(3452):1–12.
35. Zhao X, Yu Z, Ding T. Quorum-sensing regulation of antimicrobial resistance in bacteria. *Microorganisms*. 2020;8:1–21.
36. Whiteley M, Diggle SP, Greenberg EP. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*. 2017;551(7680):313–20.
37. Jiang Q, Chen J, Yang C, Yin Y, Yao K, Song D. Quorum Sensing: A Prospective Therapeutic Target for Bacterial Diseases. *Biomed Res Int*. 2019;1–15.
38. Pappenfort K, Bassler BL. Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(9):576–88.
39. Abisado RG, Benomar S, Klaus JR, Dandekar AA, Chandler JR. Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. *MBio*. 2018;9(3):1–13.
40. He N, Hu J, Liu H, Zhu T, Huang B, Wang X, et al. Enhancement of vancomycin activity against biofilms by using ultrasound-targeted microbubble destruction. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):5331–7.
41. Wolcott RD, Rumbaugh KP, James G, Schultz G, Phillips P, Yang Q, et al. Biofilm maturity studies indicate sharp debridement opens a time-dependent therapeutic window. *J Wound Care*. 2010;19(8):320–8.
42. Gholibegloo E, Karbasi A, Pourhajabagher M, Chinforush N, Ramazani A, Akbari T, et al. Carnosine-graphene oxide conjugates decorated with hydroxyapatite as promising nanocarrier for ICG loading with enhanced antibacterial effects in photodynamic therapy against *Streptococcus mutans*. *J Photochem Photobiol B Biol*. 2018;181(December 2017):14–22.
43. Darmani H, Tawalbeh KH, Al-Hiyasat AS, Al-Akhras MA. Comparison of the photosensitivity of biofilms of different genera of cariogenic bacteria in tooth slices. *Polish J Microbiol*. 2018;67(4):455–61.
44. Kalia M, Yadav VK, Singh PK, Dohare S, Sharma D, Narvi SS, et al. Designing quorum sensing inhibitors of *Pseudomonas aeruginosa* utilizing FabI: an enzymic drug target from fatty acid synthesis pathway. *3 Biotech*. 2019;9(2):1–10.
45. Zhang Y, Wei J, Chen H, Song Z, Guo H, Yuan Y, et al. Antibacterial activity of essential oils against *Stenotrophomonas maltophilia* and the effect of citral on cell membrane. *Lwt-Food Sci Technol* [Internet]. 2020;117:108667. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108667>
46. Zhang J-W, Xuan C-G, Lu C-H, Guo S, Yu J-F, Asif M, et al. AidB, a Novel Thermostable N-Acylhomoserine Lactonase from the Bacterium *Bosea* sp. *Appl Environ Microbiol*. 2019;85(24):1–15.
47. Wei Q, Bhasme P, Wang Z, Wang L, Wang S, Zeng Y, et al. Chinese medicinal herb extract inhibits PQS-mediated quorum sensing system in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Ethnopharmacol*. 2020;248(May 2019):112272.
48. Peng X, Zhang Y, Baic G, Zhou X, Wua H. Cyclic di-AMP mediates biofilm formation. *Mol Microbiol*. 2016;99(5):945–59.
49. Ren Z, Cui T, Zeng J, Chen L, Zhang W, Xu X, et al. Molecule targeting glucosyltransferase inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation and virulence. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(1):126–35.
50. Cusumano CK, Pinkner JS, Han Z, Greene SE, Ford BA, Crowley JR, et al. Treatment and prevention of urinary tract infection with orally active FimH inhibitors. *Sci Transl Med*. 2011;3(109).
51. Fleming D, Chahin L, Rumbaugh K. Glycoside hydrolases degrade polymicrobial bacterial biofilms in wounds. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(2):1–9.
52. Baelo A, Levato R, Julián E, Crespo A, Astola J, Gavaldà J, et al. Disassembling bacterial extracellular matrix with DNase-coated nanoparticles to enhance antibiotic delivery in biofilm infections. *J Control Release* [Internet]. 2015;209:150–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365915002588>

53. Iwase T, Uehara Y, Shinji H, Tajima A, Seo H, Takada K, et al. Staphylococcus epidermidis Esp inhibits Staphylococcus aureus biofilm formation and nasal colonization. *Nature*. 2010 May;465(7296):346–9.
54. Alibi S, Ben Selma W, Ramos-Vivas J, Smach MA, Touati R, Boukadida J, et al. Anti-oxidant, antibacterial, anti-biofilm, and anti-quorum sensing activities of four essential oils against multidrug-resistant bacterial clinical isolates. *Curr Res Transl Med*. 2020;68(2):59–66.
55. Zhao X, Liu Z, Liu Z, Meng R, Shi C, Chen X, et al. Phenotype and RNA-seq-Based transcriptome profiling of Staphylococcus aureus biofilms in response to tea tree oil. *Microb Pathog*. 2018;123(March):304–13.
56. Hetrick EM, Shin JH, Paul HS, Schoenfisch MH. Anti-Biofilm Efficacy of Nitric Oxide-Releasing Silica Nanoparticles. *Biomaterials*. 2009;30(14):2782–9.
57. LewisOscar F, Nithya C, Vismaya S, Arunkumar M, Pugazhendhi A, Nguyen-Tri P, et al. In vitro analysis of green fabricated silver nanoparticles (AgNPs) against Pseudomonas aeruginosa PA14 biofilm formation, their application on urinary catheter. *Prog Org Coatings [Internet]*. 2021;151(December 2020):106058. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.106058>
58. Khalifa L, Brosh Y, Gelman D, Copenhagen-Glazer S, Beyth S, Poradosu-Cohen R, et al. Targeting Enterococcus faecalis biofilms with phage therapy. *Appl Environ Microbiol*. 2015;81(8):2696–705.
59. Dawan J, Ahn J. Assessment of phage-mediated control of antibiotic-resistant Salmonella Typhimurium during the transition from planktonic to biofilm cells. *Microb Pathog [Internet]*. 2022;162(December 2021):105365. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105365>
60. Verma V, Harjai K, Chhibber S. Structural changes induced by a lytic bacteriophage make ciprofloxacin effective against older biofilm of Klebsiella pneumoniae. *Biofouling*. 2010;26(6):729–37.
61. Vuotto C, Donelli G. Novel Treatment Strategies for Biofilm-Based Infections. *Drugs*. 2019;79(15):1635–55.
62. Paul D, Gopal J, Kumar M, Manikandan M. Nature to the natural rescue: Silencing microbial chats. *Chem Biol Interact*. 2018;280(December 2017):86–98.
63. Koo H, Allan RN, Howlind RP, Hall-Stoodley L, Stoodley P. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(12):740–55.
64. Peng X, Zhang Y, Bai G, Zhou X, Wu H. Cyclic di-AMP mediates biofilm formation. *Mol Microbiol*. 2016;99(5).
65. Kaplan JB. Biofilm Matrix-Degrading Enzymes. In: Donelli G (eds) *Microbial Biofilms*. New York, NY.; 2014. p. 203–13.
66. Okshevsky M, Regina VR, Meyer RL. Extracellular DNA as a target for biofilm control. *Curr Opin Biotechnol*. 2015;33:73–80.
67. Cardoso NNR, Alviano CS, Blank AF, Arrigoni-Blank M de F, Romanos MT V., Cunha MML, et al. Anti-cryptococcal activity of ethanol crude extract and hexane fraction from Ocimum basilicum var. Maria bonita: Mechanisms of action and synergism with amphotericin B and Ocimum basilicum essential oil. *Pharm Biol*. 2017;55(1):1380–8.
68. Lee NY, Ko WC, Hsueh PR. Nanoparticles in the treatment of infections caused by multidrug-resistant organisms. *Front Pharmacol*. 2019;10(October):1–10.
69. Reshma VG, Syama S, Sruthi S, Reshma SC, Remya NS, Mohanan PV. Engineered Nanoparticles with Antimicrobial Property. *Curr Drug Metab*. 2017;18:1040–54.