

Sosyomikrobiyoloji: Biyofilm ve antibiyotik sonrası çağ

Prof. Dr. Mustafa Samastı



1951 yılında Sakarya'da doğdu. İstanbul Vefa Lisesi (1969) ve İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesinden (1975) mezun oldu. Klinik mikrobiyoloji ve enfeksiyon hastalıkları uzmanlığını aynı fakültede yaptı. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında öğretim üyesi olarak 2010 yılına kadar çalıştı. Daha sonra İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi kurucu dekanı olarak görev yaptı. 2018 yılında yaş haddinden emekli oldu.

Dünyanın en eski ve en yaygın canlıları olan mikroplar; toprak, su, hava ve canlıların vücudunda yoğun şekilde bulunur. "Mikrop" terimi ilk olarak 1878'de Fransız cerrah Sédillot tarafından "ancak mikroskopla görülebilen küçük canlıları" belirtmek için kullanılmıştır. Mikroplarla ilgili ilk gözlem, kendi geliştirdiği basit mikroskobu ile Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) tarafından gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar ortamında besiyerlerinde mikropların saf olarak üretilmesi ve enfeksiyon hastalıklarıyla ilişkilerinin gösterilmesi, mikrobiyolojinin gelişmesinde önemli bir dönüm noktası olmuştur. Mikroplar keşfedilmeden önce de bunların yol açtığı hastalıklar tarihin en eski dönemlerinden beri dikkatleri çekmiş, korunmak için çeşitli çarelere başvurulmuş, çiçek hastalığı gibi bazıları için koruyucu aşılama yöntemleri dahi geliştirilmiştir. Mikroskobun icadından önceki dönemlerde bulaşıcı hastalıkların gözle görünmeyen canlı varlıklar, kurtçuklar veya hastalık tohumlarıyla oluştuğu yönünde spekülasyonlar olmakla birlikte; mikrobiyoloji bilimi ancak mikroskobun kullanılmasıyla ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte mikropların keşfinden itibaren mikrobiyoloji bilimi yakın bir zamana kadar mikroorganizmaların birey özellikleri temelinde ele alınmış; hastalık etkenlerinin virülans özellikleri, hastalıkların patogenezi, tanımlanması ve tedavi stratejileri bu bakış açısına göre şekillenmiştir. Klasik mikrop tanımı bir ölçüde doğal ortamlardaki mikrobik yaşamın anlaşılması önünde perde oluşturmuştur.

'Çıplak gözle görülmeyen tek hücreli müstakil canlılar' olarak tanımlanmış olan mikroorganizmalar serbest (plank-

tonik) halde yaşayabileceği gibi, doğal ortamlarında çoğunlukla ekstraselüler bir matris (slime/glikokaliks) içerisinde topluluklar halinde ve yüzeylere bağlı olarak (biyofilm) bulunurlar. Biyofilm topluluğu genetik bir temele dayalı dinamik ve fonksiyonel bir birlikteliktir. Bu birliktelik, kısmen popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak işlev yapan hücreler arası kimyasal bir iletişim sistemiyle (quorum sensing) kontrol edilmektedir.

Biyofilm, mikroplar için korunmuş bir alan oluşturur; olumsuz çevre şartlarından, konağın bağışıklık sisteminden, antibiyotiklerin etkisinden uzak kalmalarını sağlar. Biyofilm içindeki bakteriler, uygunsuz şartlara karşı üremelerini yavaşlatarak/durdurarak (stasyon/dormant faz) canlılıklarını koruyabilmekte ve gerektiğinde yeniden üreyebilmektedir. Bu nedenle biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlar kronik ve tekrarlayıcı özellikler gösterirler. Aynı zamanda tanım ve tedavi açısından ciddi problemler oluştururlar. Hastanede yatış süresini ve tedavi maliyetini büyük ölçüde artırırlar. Biyofilm enfeksiyonlarının kontrolünde antibiyotikler çoğunlukla yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle biyofilm enfeksiyonları için antibiyotiklere alternatif yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla üzerinde çalışılan ana hedeflerden biri, bakteriler arasındaki iletişim sisteminin (quorum sensing) işleyişinin engellenmesidir (quorum quenching).

Bakteriler arası iletişim ve biyofilm oluşumu, mikroorganizma konseptini yeniden değerlendirmeyi zorunlu kılmaktadır. Artık karşımızda çıplak gözle görünmeyen tek hücreli bireysel canlılardan çok; topluluk halinde gözle görülebilen, birey

özelliğinden ziyade grup özelliği gösteren canlılar bulunmaktadır. Tek hücre perspektifi yerine bütüncül bakış açısıyla ekolojik bir perspektifle konuya yaklaşılması gerekmektedir. "Sosyomikrobiyoloji" kavramı/konsepti işte bu gerçeğin çerçevesini oluşturma gayretlerinin bir yansıması olmuştur.

Sosyomikrobiyoloji

Mikrobiyoloji bilimi büyük ölçüde mikroorganizmaların birey özellikleri temelinde gelişmiş olup diğer canlılar gibi onların da sosyal davranışları olduğu yakın bir zamana kadar fark edilmemiştir. İlk kez Casterton ve arkadaşlarının 1978 yılında yayımladıkları çalışma (How Bacteria Stick) ile dünyanın ilgisi bakterilerin ortak faaliyetle oluşturduğu "biyofilm" konusuna çekilmiştir. Sonraki yıllarda quorum sensing ve biyofilm konusundaki araştırmalar klasik bakış açısının yetersiz olduğunu, bakterilerin doğal ortamlarda aralarında iletişim kurarak sosyal bir topluluk gibi ortak davranışlar sergilediğini ortaya koymuştur. Doğal şartlarda bakteriler arasındaki iş birliği, yardımlaşma, yarışma ve çatışmaların yanı sıra bizzat katı besiyerlerinde özel koloni yapıları dahi birer sosyal davranış türüdür.

Mikroplarda ortak grup davranışı ilk olarak ışımaya (bioluminesens) yapan deniz vibrionlarında dikkati çekmiştir. Belli bir yoğunluğa kadar hiçbir ışımaya göstermeyen bu bakterilerin eşik bir yoğunluğa eriştiklerinde aniden ışımaya başlamaları, aralarında ortak bir mekanizmanın olduğunu düşündürmüştü ve yapılan incelemeler sonunda bu olayın bakteriler tarafından salgılanan bir takım uyarı / sinyal molekül-

leri (otoinducer) aracılığıyla gerçekleştiği anlaşılmıştır. Bu uyarıcı moleküller ancak belli bir yoğunlukta bakterilerin yüzey reseptörleriyle etkileşerek ortak gen ekspresyonunu başlatmaktadır. Bakterilerdeki ortak gen ekspresyonunun kontrolünü sağlayan ve belirli bir uyarıcı molekül yoğunluğunda aktifleşen bu iletişim sistemine yoğunluk / nisap algılaması anlamında 'quorum sensing (QS)' adı verilmiştir.

Edward O. Wilson, hayvan popülasyonlarında görülen sosyal davranışların biyolojik temellerini işlediği kitabında (1975), hayvan davranışlarını etkileyen sosyal ve ekolojik faktörlere atıfla ilk defa 'sosyobioloji' kavramını kullanmıştır. Parsek ve Greenberg ise bakterilerin de diğer canlılarda olduğu gibi aralarında iletişim kurarak genetik temele dayalı sosyal davranışlar göstermelerinden hareketle, 2005 yılında mikropların ortak grup davranışlarını ifade etmek üzere 'sosyomikrobiyoloji' terimini kullanmıştır. 'Sosyomikrobiyoloji', "mikroorganizmaları doğal yaşam koşullarında birbirleriyle, konakları ve çevreleriyle etkileşimlerini esas alarak inceleyen; bu kapsamda enfeksiyon hastalıklarının oluşu, patogenezi, teşhis, tedavi ve korunma konularını bütüncül bir yaklaşımla ele almaya çalışan yeni bir disiplin" olarak ortaya çıkmaya başlamıştır. Bu yeni bakış açısı enfeksiyonların etyolojisinden, patogeneze, tanım yöntemlerinden tedavi ve korunma stratejilerine kadar hemen her konuda köklü değişimleri beraberinde getirmiştir.

Bakteriler Arası İletişim (quorum sensing)

Bakteriler, düşük yoğunlukta serbest (planktonik) şekilde bulunabilmekle birlikte doğal koşullarda genellikle çok hücreli bir yapı/biyofilm şeklinde bulunurlar. Genel olarak popülasyon yoğunluğunun belli bir eşik değerini aşmasıyla birlikte birbirini algılayarak (quorum sensing) ortak grup davranışları gösterirler. Nisap ya da yoğunluğu algılama anlamına gelen quorum sensing, bakterilerin otoinducer denilen uyarı molekülleri aracılığıyla aralarında iletişim kurmaları ve böylece kolektif şekilde gen ekspresyonu yaparak ortak davranış sergilemelerini sağlayan bir mekanizmadır. Quorum sinyallerinin yanı sıra bakterilerin bağlanabileceği yüzey yapıları, nutrisyonel faktörler, subinhibitör yoğunlukta antibiyotiklere maruz kalma, ozmolarite, inorganik maddeler gibi çeşitli faktörler biyofilm oluşumun-

da önem taşımaktadır. Quorum sinyalleri bakterilerin planktonik halden biyofilm fazına geçişini sağlar. Böylece çok hücreli bir organizma gibi ortak davranışlar gösterirler. Hücreler arası iletişim aynı tür içinde olabildiği gibi türler arası ve hatta bakterilerle konakları arasında da olabilir.

Quorum sensing mekanizması; bakteriler tarafından sinyal moleküllerinin üretimi, değişimi ve algılanması süreçlerini içerir. Bu mekanizmanın engellenmesi (quorum quenching/ nisap söndürme), bakteriyel enfeksiyonlarda antibiyotiklere alternatif bir tedavi stratejisi sunmaktadır.

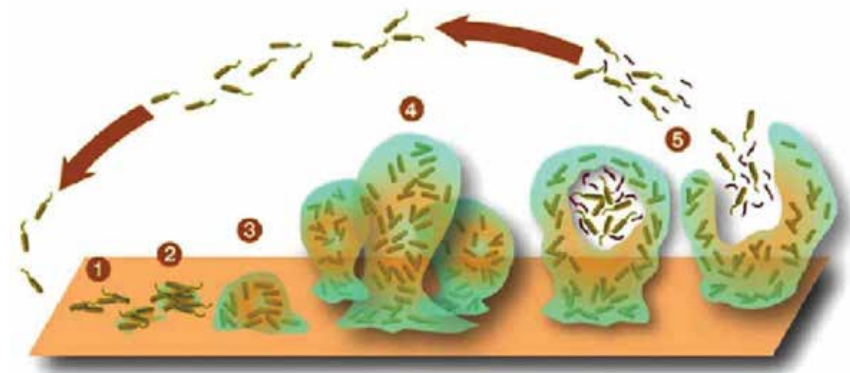
Quorum sensing (QS) sistemi çok çeşitli uyarı molekülleri aracılığı ile aktive olur. Oligopeptidler (5-34 aminoasitli) Gram pozitif bakterilerde, acil hemoserin laktonlar (AHLs) Gram negatiflerde öne çıkan sinyal molekülleridir. Acil yan zinciri bakımından farklı uzunluk ve bağlar gösterirler. Siklik di-GMP hem Gram pozitif hem de Gram negatiflerde etkin olan bir sinyal molekülüdür. Difüze sinyal faktörü (DSF) farklı bakteri türleri arasında etkilidir. Quorum sinyalleri, biyofilm oluşumunun yanı sıra çeşitli virülans faktörlerinin ve stres cevabı genlerinin aktivasyonuna neden olur.

Biyofilmlerin Yapısal ve Fonksiyonel Özellikleri

Biyofilm; mikroorganizmaların doğal yaşamlarının bir özelliği olup çevre şartlarına, olumsuz koşullara uyum sağlamalarını sağlar ve böylece varlıklarını sürdürmelerinin önemli bir mekanizması olur. Biyofilm uygunsuz çevre şartlarına karşı kapalı bir sistem oluşturur. Biyofilm oluşumu, planktonik haldeki bakterilerin bir yüzeye tutunmasıyla başlar. Yüzey özelliklerinin yanı sıra sıvı-katı ve sıvı-hava gibi ara yüzeyler,

biyofilm için uygun ortamları oluşturur. Pürüzlü yüzeyler tutunma alanını çoğalttığından biyofilm oluşumunu kolaylaştırır. Yüzey yapısı, elektrik yükü, hidrofobik özelliği, besin maddelerinin varlığı, ortamın ısı ve pH'sı yapışmada etkili faktörlerdir. Bakterilerin ilk tutunma aşaması, mekanik yıkama ve dezenfektanlarla engellenebilen geri dönüşümlü bir olaydır. Bakterilerin salgıladığı eksopolisakkarit (EPS) matriksle birlikte geri dönüşsüz bir bağlanma gerçekleşir. Eksopolisakkarit matriksin oluşması, hücrelerarası iletişimin (quorum sensing) bir sonucudur. Biyofilm matriksi polisakkaritlerin yanı sıra çeşitli proteinler, çekirdek asitleri, lipit ve iyonlar içerir. Olgunlaşan biyofilmlerde oldukça kompleks bir yapı, su ve besin maddelerinin sirkülasyonuna imkân sağlayan kanal sistemleri bulunur.

Biyofilm içindeki bakteriler, serbest şekillere göre farklı fenotipik özellikler gösterirler. Biyofilmler, tek tür veya farklı türlerde mikroorganizmalar içerebilirler. Üremeleri yavaşlamış veya tamamen durmuş olabilir. Antibiyotiklere karşı direnç veya duyarlık azalması gösterirler. Enfeksiyonların uzamasına, kronik seyir ve tekrarlamalar göstermesine neden olurlar. Önceleri yeni bulaşmalarla oluştuğu sanılan reenfeksiyonların, aslında biyofilmlerle ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Biyofilm içerisindeki bakterileri etkileyebilmek için normal dozun bin katı gibi çok yüksek ve pratik açıdan mümkün olmayacak antibiyotik yoğunluğuna gerek olduğu saptanmıştır. Bu nedenle tedavi için biyofilm odağının ortadan kaldırılmasına ya da biyofilmi parçalayabilecek etkili ilaçlara ihtiyaç vardır. Gelişmiş biyofilmler, zamanla dağılma gösterebilir ve biyofilmden kopan bakteriler tekrar serbest (planktonik) forma dönüşerek çoğalabilir. Bunlar metastatik enfeksi-



Şekil: Planktonik hücrelerin geri dönüşümlü tutunması (1) Kolonizasyon ve eksopolisakkarit üretimi ile geri dönüşsüz bağlanma (2) Biyofilm olgunlaşması (3,4) Dağılma süreci (5)

yonlara, klinik aktivasyon ve yeni biyofilm odaklarının oluşmasına neden olabilirler. Biyofilm oluşumu ayrıca tıbbi alet ve malzemelerin temizlik/ dezenfeksiyon/ sterilizasyon işlemlerini olumsuz yönde etkiler. Aletlerde korozyon ve fonksiyon kayıplarına neden olur.

Biyofilm Enfeksiyonları

CDC ve NIH verilerine göre tüm enfeksiyonların %65'i, kronik enfeksiyonların ise %50 kadarı biyofilmlerle ilişkilidir. Hastane enfeksiyonlarının büyük bir kısmı; bakterilerin yapışması ve biyofilm oluşturması için uygun koşullar sağlayan katater, implant, protez gibi yabancı materyallerle ilişkilidir. Protez ve implantlar için en büyük risk biyofilm oluşumudur. Bu durumda kontamine materyali vücuttan çıkarmadan, tek başına antibiyotiklerle tedavi mümkün değildir.

Biyofilm enfeksiyonları arasında başta protez, katater, alet ilişkili enfeksiyonlar olmak üzere kronik enfeksiyonlar (sinüzit, orta kulak iltihabı, tekrarlayan tonsillitler, kronik yara enfeksiyonları, kistik fibroz hastalarında pnömoni vb.), lejyoner hastalığı, kolesistit, prostatit, üriner sistem enfeksiyonları ve osteomyelit sayılabilir. Böbrek taşları ve ateroskleroz patogenezinde de biyofilmlerin rolü olduğu ileri sürülmektedir. Diş plakları, tipik birer biyofilm olup diş çürüklerine ve diş eti hastalıklarına zemin teşkil eder. Bu plaklardaki bakterilerin proteinleri parçalamaıyla açığa çıkan H₂S, metil merkaptan, pütresin, kadaverin gibi bileşikler nefesin kötü kokmasına neden olur. Biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin yetersiz kalmasında pek çok faktör rol oynamaktadır. Bunlar arasında antibiyotiğin biyofilm içine penetre olamaması, matriks tarafından antibiyotiğin bağlanması ve enzimatik yıkıma uğraması, bakterilerin yatay gen (plazmid) aktarımı ile direnç kazanması, biyofilm içerisinde çok yavaş bölünen veya bölünmesi duran (dormant) bakterilere beta-laktamlar gibi duvar sentezini etkileyen antibiyotiklerin tesir etmemesi, farklı mikroortam koşulları ve nihayet stres gen aktivitesi sayılabilir. Biyofilm bakterilerinin planktonik olanlara göre daha fazla mutasyona uğradığı ve plazmik aktarımının 10 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Biyofilm enfeksiyonları, sessiz devreler ve akut alevlenmelerle seyredir. Antibiyotikler akut dönemlerde yararlı olsa da biyofilm odağına etkisiz kaldığından, bir müddet sonra yeni alevlenmeler ortaya çıkar.

Biyofilm Enfeksiyonlarında Tanım Problemleri

Vücutta oluşan biyofilmler, klinik belirtiyi oluşturmadan aylarca/yıllarca gelişimlerini sürdürebilir. Örneğin, kalça protez ameliyatlarında oluşan enfeksiyonlar uzun bir süre belirti göstermeyebilir. Semptomlar oluştuğunda antibiyotik tedavisi kısmen etkili olsa da protezi çıkarmadan enfeksiyonu gidermek mümkün olmaz.

Biyofilm enfeksiyonlarında genellikle uygun materyal elde edilememesi tanımları zorlaştırır. Kaldı ki uygun materyal alınsa dahi biyofilm içindeki bakteriler metabolik olarak inaktif durumda olabildiğinden kültür ortamında üremeyebilir veya çok geç ve az sayıda üreme gösterir. Hasta örnekleri alınırken biyofilm yapılarına ulaşılması çoğunlukla mümkün olmaz. Ayrıca, bakterilerin besilerinde üreyebilmeleri için biyofilm matriksinden serbestleştirilmeleri gerekir. Bu nedenle klasik yöntemler biyofilm enfeksiyonlarının tanımında yetersiz kalmaktadır. Materyal alımından kültür işlemlerine kadar farklı yöntemlere ihtiyaç vardır. Uygun şekilde alınan hasta örneklerinin yüzey gerilimini düşüren maddelerle (tweet 80, lesitin gibi) muamele edilmesi, sonikasyonu ve vortekslenmesi kültür pozitifliğini artırmaktadır. Üremenin olmadığı örneklerde moleküler yöntemlerle de tanım yapılabilmektedir. Örneğin, kronik orta kulak enfeksiyonların %50 kadarında kültürde üreme olmadığı halde bunların çoğunda biyofilm varlığı ve bakteri genetik yapıları saptanabilmektedir. Dolayısıyla canlı bakterilerin kültürde üreyeceği ve kültür negatifliğinin canlı bakteri bulunmadığı anlamına geleceği genel kanaati, özellikle biyofilmler için geçerli değildir.

Korunma ve Tedavi Stratejileri

Biyofilm enfeksiyonlarının kontrolünde, antibiyotikler genellikle yetersiz kalmaktadır. Özellikle vücutta tıbbi alet ve implantların bulunduğu durumlarda ve bağışıklık sisteminin yetersiz olduğu hallerde tedavi başarısızlığı daha belirgindir. Biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinde genel yaklaşım, vücuttaki yabancı materyalin uzaklaştırılmasıyla birlikte uzun süreli yüksek doz antibiyotik kullanılmasıdır. Ancak antibiyotikler konusunda yaşanan sorunlar, antibiyofilm stratejilerinin daha önemli olduğu kanaatini oluşturmaktadır. Bu açıdan biyofilm oluşum mekanizmasını (QS) engelleyecek ya da doğrudan biyofilm üzerinde etkili olacak maddeler ve yöntemler üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Biyofilm enfeksiyonlarını önlemenin en güvenilir yolu, biyofilm oluşumunun engellenmesidir. Bunun temel stratejisi, biyofilm oluşumunu tetikleyen bakteriler arası iletişimin (quorum sensing) etkisiz hale getirilmesidir. Bu amaçla sinyal molekülleri, bunların prekürsörleri ve bağlandıkları reseptör yerleri hedef alınmaktadır. Yapılan in vitro ve in vivo (hayvan deneyleri) çalışmalarında, sinyal mekanizmalarını inhibe edebilen çok sayıda doğal ve sentetik bileşik ortaya konmuştur.

Antibiyofilm etki gösteren doğal maddeler arasında bitkisel kaynaklı fitokimyasallar (fenol bileşikler, uçucu yağlar, terpenoidler, lektinler, alkaloidler, polipeptidler, poliasetlenler), biyosümfaktantlar, antimikrobik peptidler ve mikrobiyal enzimler sayılabilir. Bunlar; QS inhibisyonu (quorum quenching) yanı sıra bakterilerin yüzeylere yapışmasını engelleme, hücre membran yapılarını değiştirme ve efluks pompası inhibisyonu gibi farklı etki mekanizmaları gösterirler. Antimikrobik peptidler, biyofilm oluşumunu engellemeyi yanı sıra oluşmuş biyofilmleri de parçalayabilmektedir. Bu özellikleriyle söz konusu bileşikler, biyofilm enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir potansiyele sahiptir. Doğal kaynaklardan binlerce antimikrobik peptit keşfedilmekle birlikte yan etkileri (sitotoksikite, hemolitik etkiler, böbrek, MSS bozuklukları gibi) nedeniyle klinik çalışma kısıtlılıkları bulunmaktadır. Bunlardan çok azı FDA onayı almıştır. Doğal antimikrobik peptidler dayanıklı olmadığı gibi elde edilmeleri de zaman alıcı ve maliyetlidir. Bu nedenle bunların daha çok ucuz ve hızlı şekilde üretilen sentetik benzerleri üzerinde yapılan çalışmalar yoğunlaşmaktadır.

Yakın zamanda, çeşitli bakterilerde sinyal moleküllerini parçalayan enzimler (laktonazlar, açılazlar, oksidoredüktazlar) keşfedilmiştir. Bunlar, sinyal moleküllerinin yapısını bozarak etkisizleşmelerini sağlamaktadır. Ayrıca ökaryotik canlılardan (hayvan, bitki, mantar, alg) da sinyal molekülleri ile çatışan benzer bileşikler elde edilmektedir. Çeşitli alglerde mikropların toplanmasını engelleyen doğal direnç mekanizmaları tanımlanmıştır. Delisea pulchra'dan (Avustralya makroalgisi) elde edilen halojene furanonfar bunlardan ilk tanımlananı olup sinyal moleküllerine (AHLs) benzerliği ile biyofilm oluşumunu etkin şekilde önlemektedir. Bazı polifenoller (tannik asit, elajik asit gibi) benzer etki göstermekle birlikte yüksek yoğunluk gerektirirler.

Bakteri türleri arasında etkin bir sinyal molekülü yayılabilir ve bu sinyal faktörü (DSF) olarak bilinir. Diğer bakterilerin ürettiği DSF'yi algılayan bakteriler, biyofilm oluşturmaya ve antibiyotiklere direnç göstermeye başlar. DSF analoglarının bu mekanizmayı engellediği gösterilmiştir. DSF analogları, antibiyotiklerin etkisini arttırmak için de (antibiyotik adjuvantı) kullanılabilir. Siklik di-GMP hem Gram pozitif ve hem de Gram negatif bakterilerde biyofilm oluşumunda rolü olan bir sinyal molekülüdür. Nitrik oksit (NO), siklik di-GMP seviyesini düşürerek biyofilm parçalanmasına yol açabilmektedir. Biyofilm bakterilerinin öldürülmesi ve biyofilmin uzaklaştırılmasında NO ve gentamisin sinerji etki gösterdiği bildirilmiştir. Oluşmuş biyofilmler için biyofilm matriksini parçalayabilen enzimler kullanılmaktadır. Deoksiribonukleaz I (DNaseI) enzimi, biyofilm matriksinde bulunan en uzun molekül olan ekstraselüler DNA'yı parçalar. Dispersin B enzimi ise polisakaritlerin parçalanmasını sağlar. Proteaz enzimleri (proteinaz K, tripsin gibi) matriks proteinlerini ve adezinleri parçalar. Doğal enzimlerin stabil olmaması ve saflaştırma işlemlerinin maliyeti nedeniyle daha dayanıklı ve fazla miktarlarda üretilebilen sentetik benzerleri (genellikle peroksidaz aktivitesi gösteren) üzerinde nanopartikül formülasyonlar şeklinde çalışılmaktadır.

Yakın zamanda ekstraselüler polisakaritleri parçalamak ve ilaç difüzyonunu sağlamak için fiziki yöntemler de (ultrason, şok dalgaları gibi) kullanılmaya başlanmıştır. Lazer ışınlarıyla nanobuhar karcıkları oluşturularak ilaçların biyofilme difüzyonu ve etkinliği artırılabilir. Örneğin altın nanopartikülleri, kısa süreli yüksek lazer yoğunluğunu absorbe ettiğinde ısının hızla yükselmesiyle çevresinde oluşan su buharı nanokarcıkları patlayarak biyofilm matriksinde antibiyotığın bakterilere ulaşmasını sağlayacak delikler oluşturmaktadır. Benzer şekilde, manyetik nanopartiküller de biyofilme kanallar oluşturularak antibiyotik penetrasyonunu artırabilmektedir. Demir oksit nanopartikülleri hem manyetik hem de peroksidaz benzeri katalitik aktivite gösterebilmektedir.

Antibiyofilm stratejileri arasında nanopartiküllerin (NPs) kullanımı özel bir öneme sahiptir. Chitosan ve Çinko oksit (ZnO) nanopartikülleri ile *P. aeruginosa* biyofilmlerinin etkin şekilde engellendiği bildirilmiştir. İlaçları (enzimler, antibiyotikler, QS inhibitörleri) etkin şekilde biyofilme

ulaştırmak için de nanopartiküllerden yararlanılmaktadır. Bazı antibiyotiklerin bakterisit/bakteriyostatik aktivitelerinin yanı sıra QS inhibitörü olarak da etki gösterdikleri saptanmıştır. *P. aeruginosa* ile yapılan çalışmalarda, makrolidler ve beta-laktam antibiyotiklerin subinhibitör yoğunluklarda virülans gen ekspresyonunu azalttıkları gösterilmiştir. Ayrıca nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların da benzer etkilerinden bahsedilmektedir. QS inhibitörleri ile antibiyotiklerin birlikte kullanımı sinerjik etki oluşturabilmektedir. Curcumin ile ceftazidim, ciprofloksasin, azitromisin ve gentamisin arasında; linolenik asit ile tabramisin, resveratrol ile aminglikozitler arasında bu tip etkileşimler saptanmıştır.

Biyofilm konusunda bir diğer strateji ise bakterilerin yapışıp biyofilm oluşturmalarına elverişli olmayan tıbbi alet ve malzemelerin üretilmesidir. Bunun için antiadheziv ve antimikrobiyal kaplamalar veya yüzey modifikasyonları üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Ancak, biyofilm oluşmasında malzeme özellikleri yanında konak faktörlerinin de önemli rol oynadığı unutulmamalıdır. Fibrinojen, fibronektin, trombositler gibi konak faktörleri; yabancı materyal üzerinde birikerek bakterilerin yapışmasını kolaylaştırmaktadır. Bu durumu engellemek için çeşitli uygulamalar (ameliyat yerinin irigasyonu, ortopedik cerrahi işlemlerde antibiyotikli sement kullanımı, antibiyotikli kateter lock uygulaması vb.) yapılabilmektedir.

Sonuç ve Gelecek Vizyonu

Quorum sensing ve biyofilm konularındaki gelişmeler, mikroorganizmaların tek hücreli müstakil canlılar olduğu bakış açısını kökünden değiştirmiştir. Öncelikle aralarında iletişim kurarak çok hücreli organizmalar gibi ortak grup davranışları göstermeleri, bütüncül ve ekolojik bir perspektifle ele alınmalarını gerektirmektedir. Diğer yandan modern tıbbın enfeksiyonlara karşı temel dayanağı olan antibiyotiklerin ölçsüz ve yanlış kullanımının hızlandığı direnç sorunu; alternatif tedavi arayışlarına, patojenlerin öldürülmesinden ziyade virülansla ilgili (biyofilm oluşumu dahil olmak üzere) fonksiyonların hedef alınmasına/antivirülans paradigmanın doğmasına neden olmuştur.

Bakteriler arası iletişim (QS), biyofilm oluşumunun yanı sıra virülans faktörlerin aktivasyonu ve antibiyotiklere meydan okumanın temel mekanizması olduğundan enfeksiyon kontrolü için önemli bir hedef

haline gelmiştir. Biyofilm oluşumu engelleme veya ortadan kaldırma potansiyeli olan çok çeşitli doğal ve sentetik bileşik ortaya konmuştur. Bunlar, antibiyotiklerle çalışmadığı gibi onlarla sinerjik aktivite gösterebilmektedir. Bu nedenle, halihazırda antibiyotiklerle birlikte kullanımları daha yararlı görünmektedir. Antibiyofilm stratejileri; sağlık alanı dışında tarımda, sanayide, su ürünleri, tohum üretimi ve su sistemlerinin bulunduğu çok farklı alanlarda biyolojik kirlenme/ bozulmalara karşı ümit verici gelişmeler göstermektedir. Quorum sensing inhibitörlerinin etki mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, etkin ve güvenli optimal dozlarının belirlenmesi için çalışmaların geniş çapta sürdürülmesine ihtiyaç bulunmaktadır. Sinyal sisteminin ve biyofilm oluşumunun genetik bir temele sahip olduğunun anlaşılması, bu konuda öncelikli olarak moleküler mekanizmaların aydınlatılmasını gerekli kılmaktadır.

Kaynaklar

- Bi Y., et al.: *Therapeutic Strategies Against Bacterial Biofilms. Fundamental Research* 2021, 2 (2):193-212. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2021.02.003>. (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Echeverria C., et al.: *Physical Methods for Controlling Bacterial Colonization on Polymer Surfaces. Biotechnol Adv.* 2020, 43. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107586> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Grandclemenc C., et al.: *Quorum Quenching: Role in Nature and Applied Developments. FEMS Microbiol Rev* 2016, 40:86-116. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv038> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Greenberg EP.: *The New Science of Sociomicrobiology and the Realm of Synthetic and Systems Ecology. National Academies Press*:2011. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK84461/> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Hemmati F., et al.: *Quorum Quenching: A Potential Target for Antipseudomonal Therapy. Infection and Drug Resistance* 2020, 13:2989-3005. <https://doi.org/10.2147/IDR.S263196> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Jamal M., et al.: *Bacterial Biofilm and Associated Infections, J Chin Med Assoc* 2017 <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Mishra R., et al.: *Natural Anti-Biofilm Agents: Strategies to Control Biofilm-Forming Pathogens. Front Microbiol.* 2020; 11: 566325. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.566325> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Poluch E., et al.: *Prevention of Biofilm by Quorum Quenching. App Microbiol Biotech* 2020, 104: 1871-1881 <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10349-w> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Roy R., Tiwari M., Danelli G., Tiwari V.: *Strategies for Combatting Bacterial Biofilms: A Focus on Anti-Biofilm Agents and Their Mechanisms of Action. Virulence* 2018, 9: 522-554. <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1313372> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Silva DP, et al: *An Update on the Sociomicrobiology of Quorum Sensing in Gram-Negative Biofilm Development. Pathogens.* 2017, 6(4):51-59. <https://doi.org/10.3390/pathogens6040051> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)
- Xavier JB: *Sociomicrobiology and Pathogenic Bacteria. Microbiol Spectr* 2016, 4 (3) <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0019-2015> (Erişim Tarihi: 01.08.2021)