

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK DEĞERLENDİRMELERİ

Editör: Prof.Dr. Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI

Moleküler Biyoloji ve Genetik Değerlendirmeleri

Editör

Prof.Dr. Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI

yaz
yayınları

2025

**Moleküler Biyoloji ve Genetik
Değerlendirmeleri**

Editör: Prof.Dr. Hatice Aysun MERCİMEK TAKCI

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-5838-68-1

Ekim 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

İn Vitro Model: 3 Boyutlu (3D) Hücre Kültür Çalışmalarının Bibliyometrik Analizi	1
<i>Cesur KIRMANOĞLU</i>	
Biofilm Formation and Its Relation to Infections	20
<i>Baycan MOR</i>	
Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Tekniğı ile Gıda İntoleransının Belirlenmesi	45
<i>Gözde SELEK</i>	

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

İN VİTRO MODEL: 3 BOYUTLU (3D) HÜCRE KÜLTÜR ÇALIŞMALARININ BİBLİYOMETRİK ANALİZİ

Cesur KIRMANOĞLU¹

1. GİRİŞ

Tüm canlıların hücre, doku ve organlarını tek ve bir bütün olarak davranışlarının nasıl olduğunun araştırılması hücre kültür çalışmaları için önemlidir. 3 Boyutlu (3D) hücre kültürü tekniği hücre, doku, organ yapılarının mekanik özellikleri ve mikro çevrelerinin biyokimyasal değişkenlerinin belirlenmesinde in vivo' ya yakın sonuçları in vitro' da vermesi ilaç araştırmaları gibi birçok çalışmanın doğru sonuç vermesi için önemlidir (Huh, Hamilton, & Ingber, 2011). Hücre kültürü araştırmaları, İn vivo çalışmalarda deney hayvan kullanımının azaltılmasına katkıda bulunmuş ve araştırmanın, farmasötik keşiflerin ilerlemesini sağlamıştır. İlk 2 boyutlu polistiren kaplarda büyütülen hücre hatları sonradan düz yapışkan yüzeylere taşındı bir sonraki aşamada araştırmacılar hücre dışı matris (ECM)' de 3D bağlama proteinleriyle hücreleri geliştirmeyi başardılar. Tarihsel olarak, 3D kültürü sistemleri 1900'lerin başından beri araştırmalarda kullanılmaktadır. Özellikle Onkolojide biyoaktif moleküllerin performansını değerlendirme uygulanmıştır (Habanjar, Diab-Assaf, Caldefie-Chezet, & Delort, 2021). İn vivo' da hücreler karmaşık 3 boyutlu bir ECM içerisine gömülü formdadır. Hücre ECM yapısı, anlaşılması, mekanizmaları ve terapötik etkileri tahmin etmek için 3D kültürlerin geliştirilmesi önemlidir. ECM

¹ Öğr. Gör., Ordu Üniversitesi, Akkuş Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Ordu, Türkiye. cesurkrmnoglu@gmail.com ORCID:0000-0002-5378-8570.

bileşenleri ile 3D kültürde hazırlanan hücreler canlı forma en yakın gerçekçi morfoloji gösterirler.

Bu nedenle, 3D hücre kültürü çalışmalarında ECM ile benzer biyomalzemelerin kullanılması gerekir (Park, Huh, & Kang, 2021). Hücre, doku, organ yapıları farklılıklar olması farklı morfolojide ECM gerektirmesi nedeniyle; çeşitli 3D kültür tekniklerinin gelişmesine neden olmuştur. 3D kültür tekniklerinde hücresel mikro ortamı modelleme için basit manipüle edilebilen ortamlar oluşturulmalıdır. 3D hücre kültür teknikleri farklı hastalık modellerini çalışmak için modellenabilir (Dhaliwal, 2012). 3D hücre kültür modelleri kanser ilaç keşfi ve geliştirilmesi çalışmalarında başarılı sonuçlar vermektedir. Kanser hücrelerinin diğer hücreler ile ko-kültürü, hücre-hücre ve hücre-ECM ile beraber in vivo' da olduğu gibi parakrin sinyalleme sağlayabilmektedir (Godugu et al., 2013). İlaç araştırmaları için in vitro ve in vivo testler kullanılarak yeni antikanser ilaç çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalar klinik öncesi deneylerin için gerekli olup, 3D hücre kültürü araştırmaları klinik öncesi deneylere, ilaç keşfine ve gelişimine katkı sağlar. Yeni ilaç keşiflerinden olan antikanser ilaçlarının sadece %5' i klinik olarak onaylanmaktadır, geri kalan %95' i toksisite ve etkisiz olması nedeniyle başarısız olmaktadır (Barbosa, Xavier, Pereira, Petrikaitė, & Vasconcelos, 2021). 3D sferoid ve organoid hücre kültürü modelleri kişiselleşmiş tıpta hastalara tek beden yaklaşımından farklı olarak, hastaya özgü genomik analiz, yüksek verimli ilaç taraması ve kanser tedavisini belirlemesi önemlidir. Genellikle hastalara uygulanan standart tedavilere yanıt vermediği için hastaya özgü tedaviler daha etkili ve az toksiktir (Sekeroglu & Sekeroglu, 2025). 3D hücre kültürü çalışmaları ilaç keşfi, kanser araştırmalarında ve tedavi yöntemleri gelişiminde önemli katkı sunan araştırma yöntemlerindendir. 3D hücre kültürü çalışmaları sonucunda yeni ilaçlar, yeni tedavi yöntemleri, kişiye özgü tedavi yöntem ve teknikleri gelişimini

hızla sürdürmektedir. Özellikle gelecekte daha gelişmiş organ nakli ve dokuların in vitro' da 3D biyoyazıcılar ile yeniden tasarımı noktasında 3D hücre kültürü çalışmalarının önemli kılacaktır. Bibliyometrik analizi bir literatür haritalama analiz yöntemidir. 3D biyo-yazıcıları üzerine yapılan bibliyometrik analiz çalışmasında makalelerin atıf sayısı, çalışmanın önemine, hastalığın anlaşılmasının ve geliştirilen tekniğin tedaviye doğru etkiyi yansıtmasına katkı sağlayacaktır (Jin et al., 2022). 3D organoid tekniğinin bibliyometrik araştırması toksikoloji açısından durumuna dair kapsamlı bir çalışma yapılmış ve toksikolojik mekanizmalardaki son gelişmeler incelenmiştir. Bu nesnel analiz ve tartışmalar ışığında gelecek 3D organoid toksikolojik çalışmaların protokol ve yöntemlerinin seçimine referans olabileceği düşünülmektedir (Yang, Niu, Guo, & Xue, 2024). 3D organoid bibliyometrik analizine göre hayvan deneyleri olmadan, klinik ilaç taramaları, kanser araştırmaları çalışmalarının araştırma yöntemlerinin tümünün ele alınarak daha detaylı incelenbilmesini sağlayacaktır (Li, Wang, Ho, & Shan, 2024). Çalışmada, 1991-2025 yılları arasında yayımlanmış makaleler Web of Science (WoS) veri tabanı aracılığıyla incelenmiştir. Analiz sürecinde açık kaynaklı R yazılımı ve VOSviewer kullanılarak, 3D hücre kültürü alanında öne çıkan kavramlar ve araştırma trendleri görselleştirilmiştir. Gelişmelerdir, teorik bilgiyi pratik uygulamalarla ilişkilendirmeyi, bilimsel gelişmeleri desteklemeyi ve gelecekteki araştırmalar için yönlendirici bir çerçeve sunmayı hedeflemektedir. Bu kapsamda elde edilen sonuçlar, literatürdeki boşlukları doldurmanın yanı sıra, araştırmacılar arasındaki bilimsel iş birliğini artırmaya yönelik önemli fırsatlar sağlayabilir.

2. VERİ YÖNTEM

Bu çalışma, 3D hücre kültürü üzerine yayımlanan akademik makalelerin bibliyometrik analizini gerçekleştirmeyi amaçlamaktadır. Araştırmanın sonuçlarının, bu alanda çalışmak isteyenlere olduğu kadar farklı yöntemler ve disiplinlere yönelmek isteyen araştırmacılara da katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Çalışma kapsamında, sık kullanılan akademik veri tabanlarından biri olan Web of Science (Clarivate, 2024) üzerinde 1991-2025 yılları arasında yayımlanmış makaleler incelenmiştir. Bibliyometrik analiz sürecinde, niceliksel değerlendirme yapılabilmesi için açık kaynaklı R yazılımı (BÜYÜKKIDIK, 2022) kullanılmıştır. Ayrıca, ağ verilerinin görselleştirilmesi ve keşfedilmesi amacıyla VOSviewer yazılımından (Van Eck & Waltman, 2023) yararlanılmıştır. VOSviewer ile yapılan analizler, ilgili araştırma alanının genel yapısını ortaya koymak, bilimsel trendleri belirlemek, öne çıkan kavramları analiz etmek ve etkili araştırmacılar ile kurumları ülke ve kaynak düzeyinde değerlendirmek için uygulanmıştır (ARSLAN, 2022). Bu doğrultuda, çalışma kavram birlikteliği ve ortak yazarlık analizi yöntemlerini benimsemiştir. Kavram birlikteliği analizi, belirlenen akademik metinlerde kullanılan anahtar terimlerin birbiriyle ilişkilendirilme sıklığını ve kavramsal bağlantılarını ortaya koymaktadır (Arslan, 2022, s. 40). Bu çalışmada yalnızca yazarlar tarafından eklenen anahtar kelimeler incelenmiştir. Ortak yazarlık analizi ise araştırmacılar arasındaki iş birliği ağlarını, etkileşimlerin yoğunluğunu ve bilimsel ortaklıkların yapısını anlamaya yardımcı olmaktadır (Arslan, 2022, s. 38). VOSviewer yazılımı aracılığıyla, ortak yazarlık ilişkilerinin görselleştirilmesi sağlanmış ve analizde yazarlar ile organizasyonlar arasındaki bağlantılar değerlendirilmiştir.

Çalışmada, Web of Science (WoS) veri tabanında 5 Mayıs 2025 tarihinde Topic kategorisi seçilerek, başlık kısmına "3D cell

culture" ifadesi girilmiş ve "3D printer" kelimesi hariç tutularak tarama yapılmıştır. Bu tarama sonucunda 4201 belge tespit edilmiştir. Belge türü olarak yalnızca makaleler dikkate alınmış ve indeksler SCI EXPANDED ile ESCI olarak belirlenmiştir. Bu kriterlerin uygulanmasının ardından makale sayısı 3115'e ulaşmıştır. Elde edilen veriler, R ve VOSviewer yazılımlarında analiz edilmek üzere Tab Delimited File ve BibTeX formatlarında kaydedilmiştir.

3. BULGULAR

3D hücre kültürü konulu çalışmaya ait genel bilgiler Tablo 2'de yer almaktadır.

Tablo 2. Bulguların Genel Özellikleri

VERİYLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER	
İncelenen Dönem	1997:2025
Kaynaklar (Dergiler, Kitaplar, vb.)	848
Belgeler	3115
Yıllık Büyüme Oranı %	18.48
Belgenin Ortalama Yaşı	5,8
Belge Başına Ortalama Atıf	27,8
BELGE İÇERİĞİ	
Anahtar Kelimeler (ID)	6017
Yazarın Anahtar Kelimeleri (DE)	7317
YAZARLAR	
Yazarlar	14123
Tek yazarlı belgelerin yazarları	14
YAZAR İŞ BİRLİĞİ	
Tek yazarlı belgeler	14
Belge Başına Ortak Yazarlar	6,29
Uluslararası iş birlikleri %	26.07

Tablo 2 incelendiğinde, 1997-2025 yılları arasındaki toplam 3.115 makalenin WoS veri tabanında tespit edildiği görülmektedir. Bu makaleler, 14.123 yazara ait olup, 848 farklı akademik kaynaktan—dergiler, kitaplar ve diğer bilimsel yayınlar yer almıştır. Belgelerin ortalama atıf sayısı 27,8 olarak hesaplanmış olup, araştırmaların %26,07'si uluslararası iş birliği

çerçevesinde yürütülmüştür. Öte yandan, tek yazarlı belge sayısının yalnızca 14 olması, konunun büyük ölçüde ortak çalışmalarla ele alındığını göstermektedir. İlgili çalışmaların yıllık büyüme oranı %18,48 olarak belirlenmiştir ve bu oran, alanın akademik ilgisinin sürekli arttığını ortaya koymaktadır.

Tablo 3'te en çok atıf alan makaleler ve yazarları yer almaktadır.

Tablo 3. En Çok Alıntı Yapılan İlk On Makale ve Yazarları

SIRA NO	YAYIN İSMİ	YAZARLAR	ATIF LAR							
			YILLAR						YIL BA SİN	TO PL
			2013	2014	2015	2016	2017	2018		
1	Hydrogels as Extracellular Matrix Mimics for 3D Cell Culture	Tibbitt, MW ve Anseth, KS	197	182	147	124	42	123.06		2,092
2	Deconstructing the third dimension - how 3D culture microenvironments alter cellular cues	Baker, BM ve Chen, CS	188	143	110	98	30	97.43		1,364
3	The morphologies of breast cancer cell lines in three-dimensional assays correlate with their profiles of gene expression	Kenny, PA; Lee, GY; (...); Bissell, MJ	49	34	47	32	13	42.68		811
4	Method for generation of homogeneous multicellular tumor spheroids applicable to a wide variety of cell types	Kelm, JM; Timmins, NE; (...); Nielsen, LK	49	38	39	23	8	31.87		733
5	Enzyme-catalysed assembly of DNA hydrogel	Um, SH; Lee, JB; (...); Luo, D	62	49	54	51	16	34.35		687
6	Omnidirectional Printing of 3D Microvascular Networks	Wu, W; DeConinck, A and Lewis, JA	77	60	54	59	23	42.4		636
7	Functionalization, preparation and use of cell-laden gelatin methacryloyl-based hydrogels as modular tissue culture platforms	Loessner, D; Meinert, C; (...); Hutmacher, DW	89	85	88	82	29	60.4		604
8	Three-Dimensional Cell Cultures in Drug Discovery and Development	Fang, Y ve Eglen, RM	109	96	64	70	16	66.67		600
9	Dynamic reassembly of peptide RADA16 nanofiber scaffold	Yokoi, H; Kinoshita, T and Zhang, SG	36	38	27	26	2	28.48		598
10	Guided self-organization and cortical plate formation in human brain organoids	Lancaster, MA; Corsini, NS; (...); Knoblich, JA	101	85	82	62	19	60.44		544

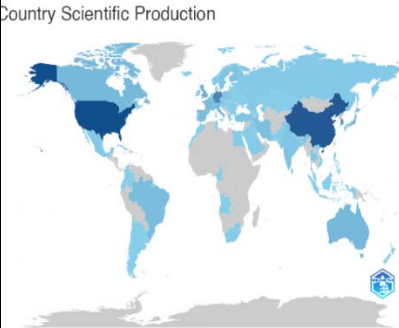
Tablo 3 incelendiğinde, Tibbitt, M.W. ve Anseth, K.S. (2012) tarafından yayımlanan makalenin 2.092 atıf ile WoS veri tabanında en fazla atıf alan çalışma olduğu görülmektedir. İlgili makale, üç boyutlu hidrojenlerin memeli hücre kültüründe kullanımını ele almakta olup, sentetik-biyolojik hidrojel hibritlerinin hücre fizyolojisi ve doku mühendisliği açısından kritik önemini vurgulamaktadır. İkinci sırada, Baker, B.M. ve Chen, C.S. (2012) tarafından kaleme alınan makale 364 atıf almış

ve 3D hücre kültürü sistemlerinin hücresel süreçleri nasıl etkilediğini detaylandırmıştır. Çalışma, geleneksel 2D kültürlerle kıyasla biyolojik araştırmalarda 3D sistemlerin üstünlüğünü ortaya koymaktadır. Üçüncü sırada yer alan Kenny ve arkadaşları (2007) makalesi 811 atıf alarak 3D hücre kültürlerinin meme kanseri araştırmalarındaki önemini vurgulamış, hücresel morfolojinin gen ve protein ifadeleriyle bağlantısını ortaya koymuştur. Tablo 3 verilerine göre, en çok atıf alan ilk 10 makale toplamda 8.669 alıntıya sahip olup, bu çalışmaların atıf sayısı toplam atıf havuzunun %9,99'unu oluşturmaktadır.

Tablo 4'te 3D hücre kültürü konulu en çok yayın yapan ilk on ülkeye ait veriler yer almaktadır.

Tablo 4. En Çok Yayın Ülkelerin Listesi ve Grafikselsel Gösterimi

Sıra No	Ülke	Yayın Sayısı
1	USA	3074
2	CHINA	2761
3	GERMANY	1654
4	SOUTH KOREA	1084
5	UK	739
6	JAPAN	521
7	ITALY	508
8	AUSTRALIA	484
9	CANADA	458
10	FRANCE	392

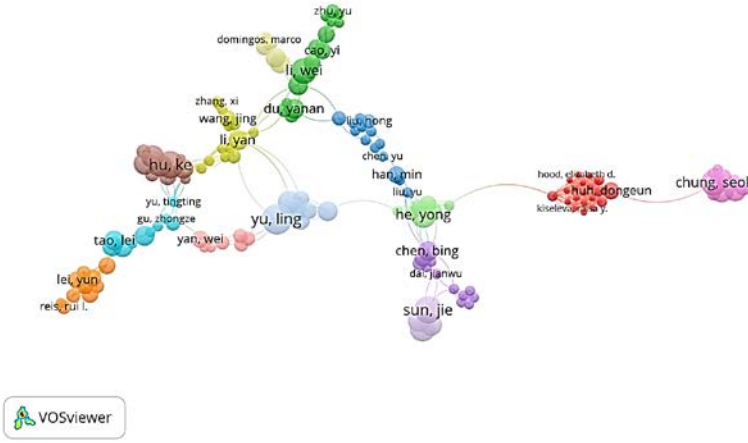


Tablo 4, en fazla akademik yayın yapan ilk on ülkenin sıralamasını içermektedir. Ülkelerin yayın dağılımına ilişkin grafikselsel gösterim ise tablonun hemen yanında yer almakta olup görsel, dünya haritası üzerinde renk yoğunluğu ile verileri sunmaktadır. Yapılan inceleme doğrultusunda, Amerika Birleşik Devletleri toplam 3.074 yayın ile en fazla akademik üretime sahip ülke olarak belirlenmiştir. Çin 2.761 yayınla ikinci sırada yer alırken, Almanya 1.654 yayın ile üçüncü konumda bulunmaktadır. Grafik üzerinde renk yoğunluğu koyu maviden açık maviye doğru değişmekte olup, en yüksek yayın hacmine

sahip ülkeler en koyu renkte gösterilmektedir. Bu bağlamda, Amerika Birleşik Devletleri, Çin ve Almanya, görselde belirgin şekilde öne çıkmaktadır.

3.1. Ortak Yazar Analizi- Yazarlar

3D hücre kültürüne yönelik yapılan çalışmalardaki yazarların iş birliğinin ağ analiz görselleştirmesi Şekil 1’de görülmektedir.



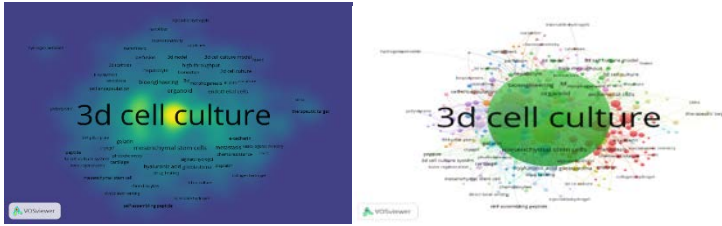
Şekil 1. Ortak Yazar Analizi

Ortak yazar analizinde 25'ten fazla yazarın katkı sağladığı makaleler analiz kapsamı dışında bırakılmıştır. Belirlenen eşik değerler doğrultusunda, bir yazarın en az bir yayında ortak yazar olarak yer alması ve toplamda en az bir atıf almış olması gerekliliği esas alınmıştır. Görselleştirme sürecinde bu kriterler dikkate alınmış ve toplamda 17.287 yazar değerlendirilmiştir. Yapılan inceleme neticesinde, bu yazarların 15.664'ünün belirlenen eşik değerleri karşıladığı tespit edilmiştir. Analizin daha özlü ve etkili olması amacıyla, çalışmaya dahil edilen yazar sayısı 1.000'e indirgenmiş, böylece merkezi konumdaki

yazarların iş birliği yapıları daha belirgin hale getirilmiştir. Son aşamada, görselleştirme 147 yazar üzerinden gerçekleştirilmiş ve yazarlar arasındaki iş birliği yoğunluğuna dayalı olarak 14 farklı küme tespit edilmiştir. Analiz sonucunda, görselde 535 bağlantı ve toplamda 811 bağlantı gücü belirlenmiştir. Üretkenlik açısından yapılan değerlendirmede, Lee, Dong Woo ve Lee, Moo-Yeal sırasıyla 34 ve 19 makalede ortak yazar olarak yer alarak en aktif araştırmacılar olarak öne çıkmıştır. Atıf analizine göre, Anseth, Kristi S., 3.572 toplam atıf sayısı ile akademik etki açısından en fazla atıf alan yazar olarak belirlenmiştir. İş birliği ağının gücüne bakıldığında, Lee, Dong Woo 79 toplam bağlantı gücü ile ağın en etkili katılımcısı olarak tespit edilmiştir.

3.2. Kavram Birlikteliği Analizi- Anahtar Kelimeler

3D hücre kültürü konulu makalelerin kavram birlikteliği ağ ve yoğunluk görselleştirmeleri Şekil 2’de yer almaktadır.



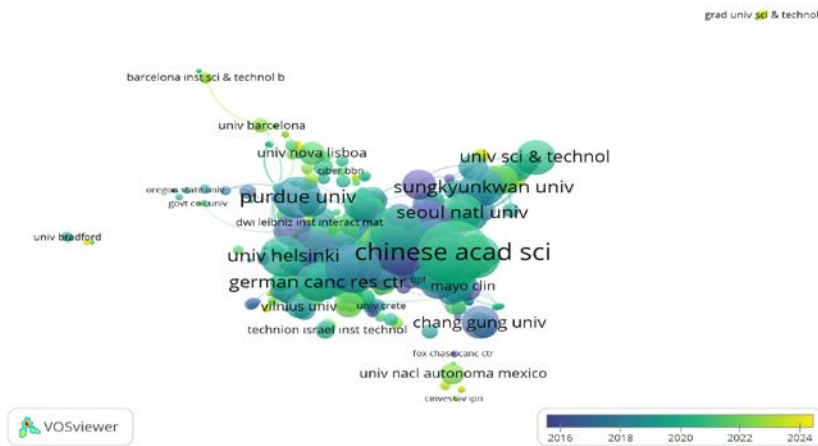
Şekil 2. Kavram Birlikteliği Analizi

Analiz “Author Keywords” seçeneği kullanılarak gerçekleştirilmiş ve yalnızca yazarlar tarafından makalelere eklenen anahtar kelimeler değerlendirme kapsamına alınmıştır. Çalışma sürecinde, 25’ten fazla yazarın katkı sağladığı yayınlar analiz dışında bırakılmıştır. Anahtar kelimeler arasındaki ilişkileri incelemek adına, minimum tekrar sayısı 5 olarak belirlenmiş ve bu eşik değeri doğrultusunda toplam 7.057 anahtar kelimenin 328 tanesinin kriterleri karşıladığı tespit edilmiştir. Bir sonraki aşamada, program eşik değeri sağlayan tüm anahtar kelimeleri analiz sürecine dahil etmiştir. Elde edilen bulgular

doğrultusunda, “3D cell culture” anahtar kelimesi 1.029 kez tekrar edilerek ve 1.727 toplam bağlantı gücü ile literatürde merkezi bir kavram olarak öne çıkmıştır. Bu kavramı “tissue engineering,” “hydrogel” ve “spheroid” takip etmektedir. Görselleştirme aşamasında, kavramsal ilişkisi kurulamayan bir anahtar kelimenin analiz kapsamı dışında bırakıldığı belirlenmiştir.

3.3. Organizasyonlar Arazi Zaman Tabanlı Bilimsel İş Birliği- (Co-Authorship-Organizations)

3D hücre kültürü konulu yazılan makalelerin organizasyonlar arası zaman tabanlı bilimsel iş birliği katman haritalama görselleştirmeleri Şekil 3’te yer almaktadır.

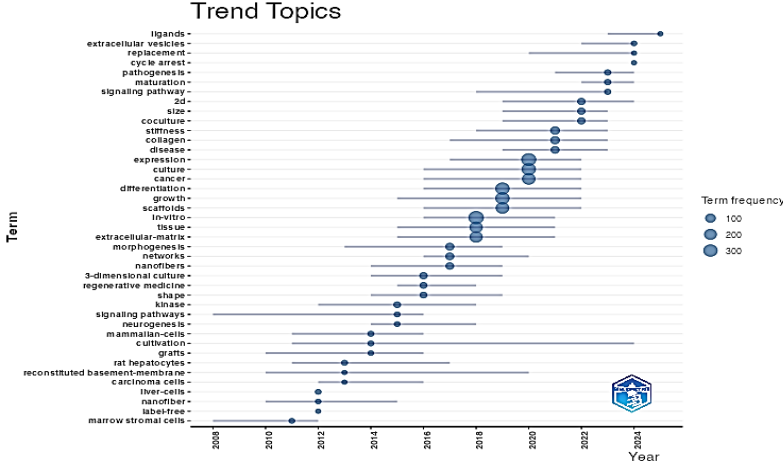


Şekil 3. Organizasyonlar arası Zaman Tabanlı İş birliği

Analizde 25'ten fazla yazarın yer aldığı yayınlar analiz dışında bırakılmıştır. Bir organizasyonun değerlendirmeye dahil edilebilmesi için en az bir yayın üretmesi ve en az bir atıf alması eşik değer olarak belirlenmiştir. Yapılan inceleme sonucunda, toplam 3.308 organizasyon analiz kapsamına alınmış olup, 3.039 organizasyonun belirlenen kriterleri karşıladığı tespit edilmiştir. Görselleştirme sürecinde, eşik değeri geçen tüm ülkelerden 1.000

organizasyon analize dahil edilmiş ve bunlardan 980'ine ait haritalandırma gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları, organizasyonların iş birliği yoğunluklarına bağlı olarak 33 farklı küme oluştuğunu göstermektedir. Görselde, 4.455 bağlantı ve toplamda 5.315 bağlantı gücü belirlenmiştir. Analiz detaylarına göre, Chinese Academy of Sciences 49 yayın, Technische Universität Dresden 32 yayın ve Harvard Medical School ile Harvard University toplam 61 ortak yayın ile bilimsel üretimde önde gelen kurumlar arasında yer almaktadır. Grafiğin renk skalası, 2016-2024 yılları arasında iş birliğinin nasıl değiştiğini görselleştirmektedir. Mor renkten sarıya doğru olan bu geçiş, eski dönemlerdeki yoğun iş birliği ağlarının zaman içinde nasıl dönüşüm geçirdiğini ortaya koymaktadır. Başlangıçta, University of California System (ABD), Harvard University (ABD) ve Chinese Academy of Sciences (Çin) iş birliklerinde baskın konumdayken, Avrupa merkezli kurumlar görece daha az temsil edilmekteydi. Ancak 2019'dan itibaren, Helmholtz Association (Almanya), CNRS (Fransa), INSERM (Fransa) ve Swiss Federal Institutes of Technology Domain (İsviçre) gibi Avrupa merkezli organizasyonların ağırlığının giderek arttığı görülmüştür. Özellikle 2020'den sonra, Karlsruhe Institute of Technology (Almanya), German Cancer Research Center (DKFZ- Almanya) ve Universität Heidelberg (Almanya) gibi kurumların iş birlikleri belirgin bir şekilde artmıştır. Bunun yanında, Massachusetts Institute of Technology (ABD), Tsinghua University (Çin) ve University of Michigan (ABD) gibi organizasyonlar da aktif rol oynamaya devam etmiştir. Genel eğilimler değerlendirildiğinde, ABD merkezli araştırma ağlarının etkisinin azaldığı, Avrupa merkezli iş birliklerinin giderek daha fazla ön plana çıktığı gözlemlenmektedir. Bu değişim, Avrupa'nın bilimsel araştırmalara daha fazla yatırım yapması ve uluslararası iş birliklerinin daha dengeli bir yapıya kavuşmasıyla gerçekleşmiş olabilir.

Şekil 4'te 2005-2024 yılları arasındaki 3D hücre kültürü konularının görselleştirilmesi yer almaktadır.



Şekil 4. Trend Konular

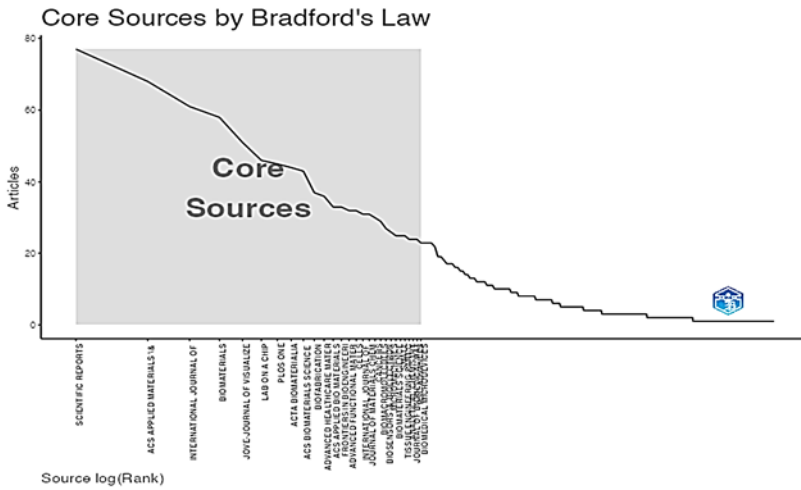
Şekil 4 incelendiğinde, 3D hücre kültürleri biyomedikal araştırmaların giderek daha önemli bir bileşeni haline gelmektedir. 2008-2015 yılları arasında, temel hücresel mikro çevre modelleme çalışmaları öne çıkarken, rejeneratif tıp ve doku mühendisliği ile bağlantılı araştırmalar dikkat çekmiştir. 2015-2020 döneminde, kanser biyolojisi, nano-biyotıp ve ilaç tarama süreçleri ile entegrasyon ivme kazanmış, bu yıllarda 3D hücre kültürlerinin kullanımında belirgin bir artış gözlemlenmiştir. 2020 sonrası dönemde, biyoprinting, organ-on-chip sistemleri, immünoterapi araştırmaları ve kişiselleştirilmiş tıp alanlarının yükselişi, 3D hücre kültürlerinin daha geniş bir bilimsel çerçevede değerlendirildiğini göstermektedir. Son yıllardaki eğilimler, yapay zekâ destekli analizler, biyoprinting teknolojileri, organ-on-chip sistemleri, immünoterapi araştırmaları ve kişiselleştirilmiş tıp gibi gelişen biyoteknolojik yaklaşımlar aracılığıyla hücresel mikroçevrenin daha fizyolojik koşullara uygun hale getirilmesini amaçlamakta ve bu sürecin 3D hücre kültürleri üzerinden klinik uygulanabilirliğini artıracaklarını

göstermektedir. Bu dönüşüm, hücresel ortamların daha doğru modellenmesini sağlarken, ilaç geliştirme, kanser biyolojisi ve rejeneratif tıp gibi alanlarda yenilikçi araştırmaların önünü açmaktadır.

Tablo 5 ve Şekil 5 analize konu olan makalelerin Bradford yasasına göre sıralamalar ve hangi zonlarda yer aldığını göstermektedir. Bradford (BRD) yasasına göre belirli bir konuda yayınlanan makalelerin az sayıda dergide yoğunlaşırken geriye kalanların ise daha az etkili dergilerde yayınlandığını öne sürmektedir(Tonta & Al, 2008) .

Tablo 5. 3D Hücre Kültürü Konulu Çalışmalarında Bradford Dağılımı Tablosu (İlk On İki Dergi)

Dergiler	Sıralama	Sıklık	İçerik Sıklığı	Zone
SCIENTIFIC REPORTS	1	77	77	Zone 1
ACS APPLIED MATERIALS \& INTERFACES	2	68	145	Zone 1
INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES	3	61	206	Zone 1
BIOMATERIALS	4	58	264	Zone 1
JOVE-JOURNAL OF VISUALIZED EXPERIMENTS	5	51	315	Zone 1
LAB ON A CHIP	6	46	361	Zone 1
PLOS ONE	7	45	406	Zone 1
ACTA BIOMATERIALIA	8	44	450	Zone 1
ACS BIOMATERIALS SCIENCE \& ENGINEERING	9	43	493	Zone 1
BIOFABRICATION	10	37	530	Zone 1
ADVANCED HEALTHCARE MATERIALS	11	36	566	Zone 1
ACS APPLIED BIO MATERIALS	12	33	599	Zone 1
FRONTIERS IN BIOENGINEERING AND BIOTECHNOLOGY	13	33	632	Zone 1
ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS	14	32	664	Zone 1
CELLS	15	32	696	Zone 1
INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES	16	31	727	Zone 1
JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY B	17	31	758	Zone 1
CANCERS	18	30	788	Zone 1



Şekil 5. BRD Yasasına Göre Çekirdek Kaynaklar

İncelenen veri seti doğrultusunda, grafik eğimi, belirli kaynaklarda yoğunlaşma eğilimi sergilemekle birlikte klasik Bradford modeline tam uyum göstermemektedir. Zone 1’de yer alan dergiler, akademik literatürde merkezi bir konumda bulunmakla birlikte, beklenen makale üretimi payının altında kalmaktadır (%27,1). Zone 2 ve Zone 3'teki kaynaklar ise sırasıyla %49,7 ve %23,2 oranında katkı sağlamaktadır. Bu durum, literatürdeki bilgi dağılımının yalnızca birkaç çekirdek dergi etrafında şekillenmediğini, aksine daha geniş bir spektruma yayıldığını göstermektedir. Kümülatif frekans analizi, Zone 1 ile Zone 2 arasındaki geçişin beklenen dik düşüş yerine kademeli bir azalma sergilediğini ortaya koymaktadır. Bu bulgu, bilimsel üretimin belirli merkezlerde yoğunlaşmadığını, aksine çeşitliliğin ön plana çıktığını işaret etmektedir. Özellikle Zone 3’teki dergilerin büyük bir kısmının düşük frekans aralığında yer alması (%82’nin Freq=1–2 aralığında olması), bu kaynakların niş alanlarda veya düşük etki faktörlü yayınlarda uzmanlaştığı hipotezini desteklemektedir. Sonuç olarak, Bradford Yasası’nın bu bağlamda mutlak bir geçerliliğe sahip olmadığı, ancak disiplinlerarası dinamikler doğrultusunda esnek bir model olarak

ele alınması gerektiği değerlendirilmektedir. Akademik üretimin tek bir merkezi yapıya bağlı kalmadığı, aksine çeşitli kaynaklar arasında dağılım gösterdiği göz önünde bulundurulduğunda, bilimsel literatürdeki etkinin daha geniş bir perspektiften incelenmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışma, 3D hücre kültürü alanında gerçekleştirilen akademik yayınların bibliyometrik analizini yaparak, bilimsel üretimin mevcut durumunu ve araştırma trendlerini ortaya koymaktadır. Web of Science veri tabanında 1991-2025 yılları arasında yayımlanmış 3D hücre kültürü üzerine odaklanan makaleler, R yazılımı ve VOSviewer araçlarıyla değerlendirildiğinde, alanın sürekli gelişen ve disiplinler arası bir nitelik kazandığı görülmektedir.

Analiz sonuçları, 3D hücre kültürü çalışmalarının özellikle biyomedikal araştırmalar, rejeneratif tıp, doku mühendisliği ve kanser biyolojisi alanlarında büyük bir ivme kazandığını göstermektedir. Yıllık büyüme oranı ve uluslararası iş birlikleri, alanın küresel ölçekte bilimsel üretimde önemli bir yer edindiğini ortaya koymaktadır. Özellikle Amerika Birleşik Devletleri, Çin ve Almanya gibi ülkelerin, yayın ve atıf sayıları bakımından ön plana çıkması, akademik etkinin belirli coğrafyalarda yoğunlaştığını, ancak son yıllarda Avrupa merkezli araştırmaların daha fazla temsil edildiğini göstermektedir.

Atıf analizi, alanın önde gelen araştırmacılarını ve en etkili akademik yayınları belirleyerek, hücresel mikro çevrenin biyolojik sistemlerde daha gerçekçi modellenmesi adına yeni yaklaşımlar sunmaktadır. Kavram birlikteliği analizinde "3D cell culture," "tissue engineering," "hydrogel" ve "spheroid" gibi terimlerin literatürde merkezi konumda olması, bu alandaki temel

kavramsal çerçevenin bilimsel yönelimlerle uyumlu olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, 3D hücre kültürü alanındaki araştırmaların, biyoprinting, organ-on-chip sistemleri, immünoterapi çalışmaları ve kişiselleştirilmiş tıp gibi biyoteknolojik gelişmelerle daha geniş bir çerçevede ele alınması gerektiği ortaya çıkmaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, farklı disiplinlerden gelen araştırmacıların iş birliklerini artırarak alanın daha yenilikçi ve uygulanabilir çözümler üretmesi teşvik edilmelidir. Bu doğrultuda, yeni biyomateriyallerin geliştirilmesi, yapay zekâ destekli analizler ve çok ölçekli modelleme yaklaşımları, 3D hücre kültürlerinin biyomedikal araştırmalara entegrasyonunu güçlendirecek ve klinik uygulanabilirliği artıracaktır.

KAYNAKÇA

- arşlan, E. (2022). Sosyal Bilim Araştırmalarında VOSviewer ile Bibliyometrik Haritalama ve Örnek bir Uygulama. *Anadolu Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 22(Özel Sayı 2), 33–56. <https://doi.org/10.18037/ausbd.1227291>
- Barbosa, M. A. G., Xavier, C. P. R., Pereira, R. F., Petrikaitė, V., & Vasconcelos, M. H. (2021). 3D Cell Culture Models as Recapitulators of the Tumor Microenvironment for the Screening of Anti-Cancer Drugs. *Cancers*, 14(1), 190. <https://doi.org/10.3390/cancers14010190>
- Büyükkıdık, S. (2022). A Bibliometric Analysis: A Tutorial for the Bibliometrix Package in R Using IRT Literature. *Eğitimde ve Psikolojide Ölçme ve Değerlendirme Dergisi*, 13(3), 164–193. <https://doi.org/10.21031/epod.1069307>
- Clarivate. (2024). Scientific & Academic Research. *Clarivate Analytics*. Retrieved from <https://clarivate.com/products/scientific-and-academic-research/research-discovery-and-workflow-solutions/webofscience-platform/#resources>
- Dhaliwal, A. (2012). Three Dimensional Cell Culture : A Review. *Materials and Methods*, 2. <https://doi.org/10.13070/mm.en.2.162>
- Godugu, C., Patel, A. R., Desai, U., Andey, T., Sams, A., & Singh, M. (2013). AlgiMatrix™ Based 3D Cell Culture System as an In-Vitro Tumor Model for Anticancer Studies. *PLoS ONE*, 8(1), e53708. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053708>
- Habanjar, O., Diab-Assaf, M., Caldefie-Chezet, F., & Delort, L. (2021). 3D Cell Culture Systems: Tumor Application, Advantages, and Disadvantages. *International Journal of*

- Molecular Sciences*, 22(22), 12200.
<https://doi.org/10.3390/ijms222212200>
- Huh, D., Hamilton, G. A., & Ingber, D. E. (2011). From 3D cell culture to organs-on-chips. *Trends in Cell Biology*, 21(12), 745–754.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2011.09.005>
- Jin, B., Liu, Y., Du, S., Sang, X., Yang, H., & Mao, Y. (2022). Current trends and research topics regarding liver 3D bioprinting: A bibliometric analysis research. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1047524>
- Li, H., Wang, D., Ho, C. W., & Shan, D. (2024). Bibliometric analysis of global research on human organoids. *Heliyon*, 10(6), e27627.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27627>
- Park, Y., Huh, K. M., & Kang, S.-W. (2021). Applications of Biomaterials in 3D Cell Culture and Contributions of 3D Cell Culture to Drug Development and Basic Biomedical Research. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2491. <https://doi.org/10.3390/ijms22052491>
- Sekeroglu, Z. A., & Sekeroglu, V. (2025). A Review on Patient-derived 3D Micro Cancer Approach for Drug Screen in Personalized Cancer Medicine. *Current Cancer Drug Targets*, 25(2), 118–130.
<https://doi.org/10.2174/0115680096285910240206044830>
- Tonta, Y., & Al, U. (2008). Türkçe Makalelerin Dergilere Dağılımı ve Bradford Yasası. *Bilgi Dünyası*, 9(1), 41–66.
<https://doi.org/10.15612/BD.2008.327>
- Van Eck, N. J., & Waltman, L. (2023). *VOSviewer Manual*, version 1.6. 20. Retrieved from

[https://www.vosviewer.com/documentation/Manual_VO
Sviewer_1.6.20.pdf](https://www.vosviewer.com/documentation/Manual_VO_Sviewer_1.6.20.pdf)

Yang, H., Niu, S., Guo, M., & Xue, Y. (2024). Applications of 3D organoids in toxicological studies: a comprehensive analysis based on bibliometrics and advances in toxicological mechanisms. *Archives of Toxicology*, 98(8), 2309–2330. <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03777-4>

BIOFILM FORMATION AND ITS RELATION TO INFECTIONS

Baycan MOR¹

1. INTRODUCTION

1.1.What is a Biofilm?

A biofilm is a structured community of microorganisms that adhere to biotic or abiotic surfaces and are encased within a self-produced extracellular polymeric substance (EPS) matrix. This matrix, composed of polysaccharides, proteins, and extracellular DNA (eDNA), provides a protective and stable microenvironment that enhances microbial survival under hostile conditions (Sousa et al., 2007). Biofilms can develop on natural surfaces such as rocks and aquatic environments, as well as on artificial surfaces including medical devices, catheters, and implants, making them relevant across ecological, industrial, and clinical settings (Bester et al., 2010).

1.2.The Importance and Historical Development of Biofilms

The importance of biofilms lies in their widespread impact on human health, industry, and the environment. Historically, microbial aggregations resembling biofilms were first described more than a century ago, yet their clinical and ecological significance became widely acknowledged only in the latter half of the 20th century as microbiological and molecular tools advanced (Thieme et al., 2019). Current evidence suggests that

¹ Asst. Prof. Dr, Kafkas University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, e-mail: baycanmor@gmail.com ORCID: 0000-0001-9480-3143.

more than 80% of human infections are biofilm-associated, underlining their central role in chronic and device-related infections (Sousa et al., 2007). Clinically, biofilms contribute to persistent infections such as prosthetic valve endocarditis, chronic wounds, and catheter-associated infections. The recognition of biofilms as highly organized microbial communities has therefore reshaped the understanding of microbial pathogenesis and emphasized their significance in both medical microbiology and environmental science (Pannella et al., 2020).

1.3.Differences Between Planktonic Cells and Biofilm-Formed Cells

A fundamental distinction exists between planktonic cells, which exist in a free-floating form, and biofilm-associated cells, which reside within the protective EPS matrix. Planktonic cells generally display higher metabolic rates and greater susceptibility to antimicrobial agents. In contrast, biofilm cells exhibit altered gene expression, reduced metabolic activity, and increased resistance to environmental stresses, including antibiotics and host immune responses. For instance, biofilm-associated *Staphylococcus epidermidis* cells demonstrate significantly reduced glucose uptake compared to planktonic cells, reflecting metabolic adaptation within biofilms (Sousa et al., 2007). Additionally, genetic regulation and structural differences contribute to enhanced virulence and persistence of biofilm-forming bacteria (Cook & Dunny, 2013; Resch et al., 2005). Importantly, detachment of biofilm fragments can lead to dissemination of planktonic cells that retain the capacity to initiate new biofilms, thus perpetuating chronic infection cycles (May et al., 2009). In summary, biofilms are complex and highly organized microbial ecosystems with critical implications for health and disease. Their formation, persistence, and resistance

mechanisms highlight the urgent need for innovative therapeutic approaches tailored specifically to biofilm-associated infections.

2. BIOLOGICAL STAGES OF BIOFILM FORMATION

The development of biofilms is a dynamic and highly regulated process that occurs in several sequential stages: surface adhesion, microcolony formation, extracellular matrix production, maturation, and dispersion. Each stage is influenced by microbial genetics, environmental conditions, and intercellular communication mechanisms.

2.1.Surface Adhesion

Surface adhesion initiates the biofilm formation process, marked by the attachment of planktonic bacterial cells to a substrate. The mechanics of this process can be influenced by various factors including the microbial genotype and the microenvironment within which the bacteria are situated. In *Pseudomonas aeruginosa*, flagellar motility is important for initial attachment, while type IV pili facilitate microcolony formation (Kievit et al., 2001). Additionally, environmental conditions such as nutrient availability, pH levels, and surface characteristics can affect adhesion efficiency, including the reliance on pyruvate, which enhances initial attachment processes in some *Pseudomonas* strains (Petrova et al., 2012).

2.2.Microcolony Formation

Once a sufficient number of cells have adhered to the surface, they begin to aggregate and form microcolonies. Microcolonies serve as compact clusters of bacteria that are equipped to withstand varying environmental stresses. In *Candida albicans*, the transcription factors Sfl1 and Sfl2 have been identified as crucial for driving the formation and structure

of pathogenic microcolonies (McCall et al., 2018). The formation of these microcolonies entails complex intercellular communication through mechanisms such as quorum sensing, which regulates shared behaviors and responses to environmental stimuli (Matz et al., 2004).

2.3.Matrix Production and Structural Stabilization

The production of an extracellular matrix is a pivotal step in biofilm development, providing structural integrity to the microcolony. The matrix is predominantly made up of EPS, which consist of polysaccharides, proteins, and eDNA (Tan et al., 2018). In *Pseudomonas aeruginosa*, the polysaccharide Psl is known to function as a fibrous component that aids in the enmeshment of bacterial cells and enhances biofilm stability (Luyan et al., 2009). Importantly, eDNA plays a multifaceted role in biofilms, contributing to the structural framework and establishing cohesion among bacterial cells, thereby consolidating the biofilm's integrity (Li et al., 2020).

2.4.Maturation

As biofilms mature, they undergo morphological transformations that enhance their resilience and functionality. Mature biofilms feature dense clusters of bacteria embedded within the extracellular matrix, which provides protection against external insults such as antibiotics and facilitates nutrient exchange among cells (Shen et al., 2011). For example, structural variations in *Escherichia coli* biofilms have been shown to be directly correlated with the capabilities of cell adhesion structures, notably fimbriae and pili (Reisner et al., 2003). Such structural characteristics impart a significant competitive advantage against both biotic and abiotic stressors, confirming the importance of biofilm maturation in diverse contexts, including environmental and clinical settings.

2.5.Dispersion

The detachment of cells from the biofilm, or dispersion, is another critical phase that allows for colonization of new environments, thereby contributing to species dissemination. This process can be influenced by environmental conditions and the biofilm's matrix composition, as well as specific signaling pathways. Studies illustrate that while eDNA is crucial for maintaining biofilm integrity, it can also facilitate the dispersal of cells when triggered by specific environmental cues (Berne et al., 2010). Dispersal mechanisms range from passive detachment due to shear forces in fluid flows to active processes mediated by environmental changes (Xia et al., 2021).

3. STRUCTURAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF BIOFILMS

The structural and molecular characteristics of biofilms present a fascinating area for research, given their importance in both microbial ecology and human health. The composition and functionality of biofilms are primarily dictated by EPS, the communication mechanisms employed by microbial communities through quorum sensing, and the genetic and metabolic adaptations that occur during biofilm development.

3.1.Extracellular Polymeric Substances (EPS)

EPS are essential for biofilm structure and function, providing mechanical stability and facilitating nutrient transfer, waste disposal, and genetic exchange (Flemming et al., 2016). Composed primarily of polysaccharides, proteins, and eDNA, EPS encase microbial cells, forming a matrix that constitutes 75–90% of biofilm biomass (Xin et al., 2024). In *Pseudomonas aeruginosa*, polysaccharides Psl and Pel maintain three-dimensional architecture and contribute to antimicrobial

resistance (Ghafoor et al., 2011). eDNA further supports adhesion and cohesion in bacterial species like *Staphylococcus epidermidis* (Riangrunroj & Polizzi, 2019) and in fungal biofilms such as *Candida albicans*, enhancing structural integrity and reducing antifungal penetration (Srikantha et al., 2013; Daniels et al., 2013).

3.2.Quorum Sensing

Quorum sensing, a critical mechanism for cell-to-cell communication, coordinates biofilm development by regulating formation, virulence, and metabolism. In *Pseudomonas aeruginosa*, Las and Rhl pathways govern gene expression for biofilm maturation and the transition from motile to sessile states (Kim & Lee, 2016). In *Candida albicans*, quorum sensing influences biofilm characteristics, with transcription factors Bcr1 and Tec1 controlling adhesion protein expression to maintain biofilm stability under varying conditions (Song et al., 2011; Srikantha et al., 2013).

3.3.Gene Expression and Metabolic Adaptation

Gene expression differences between biofilm and planktonic states reveal profound metabolic divergence. Biofilm-forming cells overexpress genes linked to adhesion, matrix production, and stress resistance (Daniels et al., 2015; Sato et al., 2019), while shifts in energy metabolism promote fermentation and survival under low-oxygen conditions (Nor & Mohd, 2024). Mixed-species biofilms further optimize resources through cooperative behavior (Flemming et al., 2016). Morphological complexity also arises from gene regulation, as seen in *Candida albicans*, where filamentation and clustering depend on environmental cues (Daniels et al., 2015). Biofilm stratification, shaped by protein expression and metabolic needs, enables functional heterogeneity (Ghafoor et al., 2011; Sun et al., 2022). Cells often transition from aerobic respiration in planktonic states

to anaerobic pathways within biofilms due to nutrient gradients (Kim & Lee, 2016). These metabolic adaptations enhance persistence under stress (Xin et al., 2024). Collectively, the interplay of EPS, quorum sensing, and metabolism underpins biofilm resilience and highlights therapeutic targets to disrupt biofilm-associated infections.

4. MAJOR MICROORGANISMS FORMING BIOFILMS

Biofilm formation is a universal adaptive strategy employed by bacteria and fungi, enabling survival in diverse environments. These communities, whether monospecies or polymicrobial, exhibit distinct structural, physiological, and pathogenic traits that contribute to their resilience. Once established on biotic or abiotic surfaces, their properties are shaped by the constituent microorganisms. Key biofilm-forming species include *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*, each utilizing specific molecular and physiological mechanisms to regulate biofilm development, structural integrity, and functional dynamics.

4.1.Bacteria

Among bacteria, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* are prominent biofilm producers with significant medical relevance. *S. aureus* biofilms are commonly associated with device-related infections such as catheters and prosthetic implants, where biofilm growth enhances resistance to antibiotics and host immunity (Resch et al., 2005). *P. aeruginosa* forms highly structured biofilms, particularly in the lungs of cystic fibrosis patients, where quorum sensing regulates virulence and persistence (Harrison & Diggle, 2016). *E. coli* biofilms, especially those formed by uropathogenic strains, play

a critical role in urinary tract infections, displaying strong adhesion to uroepithelial cells and resistance to conventional therapies (Esmat et al., 2018).

4.2.Fungi

Candida albicans is the most clinically important fungal biofilm former. Its biofilms develop on mucosal surfaces, dental prostheses, and intravascular devices. *C. albicans* biofilms are characterized by a complex architecture involving yeast, pseudohyphal, and hyphal forms, embedded within a dense EPS matrix that provides resistance to antifungal agents (Martins et al., 2016). The ability to transition between morphological forms and to interact with bacterial species further enhances its pathogenic potential (Karaman et al., 2017).

4.3.Polymicrobial Biofilms

In many clinical settings, biofilms are not formed by a single species but by polymicrobial communities. Interactions between bacteria and fungi can enhance virulence, antimicrobial resistance, and biofilm stability. For example, mixed cultures of gram-negative bacteria can reduce ciprofloxacin sensitivity through cooperative mechanisms (Bitar & Yılmaz, 2024). Similarly, *Candida albicans* often coexists with *Staphylococcus aureus* or *Pseudomonas aeruginosa*, leading to enhanced persistence and difficulty in eradication (Martins et al., 2016).

5. MEDICALLY IMPORTANT BIOFILM-ASSOCIATED INFECTIONS

Biofilm-associated infections pose a significant challenge in modern medicine due to their chronic nature, resistance to antimicrobial agents, and capacity to evade host immune responses. These infections are frequently linked to indwelling medical devices, such as catheters, prostheses, and implants, as

well as to chronic wounds, respiratory and urinary tract infections, and endocarditis, contributing substantially to healthcare-associated morbidity and mortality. Understanding the interplay between biofilms and these infections is critical for the development of effective preventive and therapeutic strategies.

5.1.Catheter, Prosthesis, and Implant-Related Infections

Medical devices such as intravascular catheters, orthopedic prostheses, and cardiac implants are highly susceptible to biofilm colonization. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* are leading causes of catheter-related bloodstream infections, where biofilms protect bacteria from host defenses and antibiotics (Bilman et al., 2013). Similarly, prosthetic joint infections are often associated with biofilm formation, necessitating device removal in severe cases (Reffuveille et al., 2018).

5.2.Chronic Wound Infections

Chronic wounds, such as diabetic foot ulcers and pressure injuries, are frequently colonized by polymicrobial biofilms, which induce persistent inflammation, reduce the efficacy of antimicrobial therapies, and consequently delay wound healing (Vatan & Saltoğlu, 2017; Guo et al., 2023; Hurlow et al., 2024). Clinical management of these wounds is particularly challenging due to the frequent involvement of multiple microbial species, including *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. In contrast, the risk of biofilm formation in acute wounds is comparatively lower; therefore, the early implementation of anti-biofilm strategies is recommended to prevent delays in the healing process (Hurlow et al., 2024).

5.3. Respiratory Tract Infections

In patients with cystic fibrosis, *Pseudomonas aeruginosa* forms biofilms in the lungs, where they promote chronic infection and progressive lung damage. Quorum sensing and nutrient limitation within the biofilm microenvironment drive phenotypic changes that contribute to persistence and resistance (Harrison & Diggle, 2016). Viral infections such as respiratory syncytial virus may further enhance biofilm development in the respiratory tract, compounding disease severity (Hendricks et al., 2016).

5.4. Urinary Tract Infections (UTIs)

Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is a major cause of biofilm-associated urinary tract infections, particularly in catheterized patients. UPEC biofilms attach to uroepithelial cells and persist despite antibiotic therapy, leading to recurrent and chronic infections (Esmat et al., 2018). Biofilm-associated UTIs are difficult to eradicate and are a leading cause of nosocomial infections worldwide.

5.5. Endocarditis

Infective endocarditis, often associated with prosthetic heart valves, is strongly linked to biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and viridans group streptococci. Biofilm growth on cardiac tissue and prosthetic materials provides protection against immune clearance and requires prolonged antibiotic therapy or surgical intervention (Percival, 2017).

6. ANTIMICROBIAL RESISTANCE MECHANISMS OF BIOFILMS

Antimicrobial resistance mechanisms within biofilms are a major concern in clinical microbiology, as they significantly hinder the effectiveness of antibiotic therapies and increase the risk of persistent infections. These resistance mechanisms can be

attributed to several factors including the inhibition of antibiotic penetration, the presence of dormant cells known as persisters, the expression of resistance genes and horizontal gene transfer, as well as immune evasion strategies employed by biofilm-forming bacteria.

6.1. Inhibition of Antibiotic Penetration

The structural characteristics of biofilms contribute substantially to the inhibition of antibiotic penetration. Biofilms are typically composed of a dense EPS matrix that acts as a physical barrier, limiting the diffusion of antimicrobial agents into the core of the biofilm (Qi et al., 2016). The presence of this protective matrix is crucial in rendering antibiotics ineffective against biofilm-embedded bacteria. For instance, studies indicate that the matrix can restrict not only drug penetration but also hinder the binding of antibiotics to their target sites within bacteria (Amin et al., 2019). Furthermore, it has been observed that biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* can maintain high levels of antibiotic tolerance, which can be exacerbated by the presence of efflux pumps that actively expel drugs from bacterial cells, further diminishing the effective concentration of antibiotics (Hosseinzadeh et al., 2024).

6.2. Presence of Dormant Cells

Biofilms harbor metabolically inactive or slow-growing persister cells, which tolerate antibiotic exposure by entering a dormant state. Since many antibiotics target active cellular processes, these persisters can survive treatment and later repopulate the biofilm after therapy is withdrawn (Köremezli et al., 2022).

6.3.Expression of Resistance Genes and Horizontal Gene Transfer

Biofilm conditions promote the overexpression of resistance genes, including efflux pumps and β -lactamases, thereby enhancing antimicrobial resistance. Biofilm-associated bacteria often exhibit altered gene expression patterns compared to their planktonic counterparts, which facilitates their survival under antibiotic treatment (Meng et al., 2022; Qi et al., 2016). The dense and stable biofilm environment further supports horizontal gene transfer via plasmids, transposons, and integrons, promoting the dissemination of resistance genes within microbial communities (Cook & Dunny, 2013; Selasi et al., 2016). Consequently, biofilms serve as reservoirs of resistant bacteria, posing significant challenges for the treatment of serious infections, particularly in hospital settings where multi-drug resistant organisms are prevalent (Rodríguez-Miranda et al., 2024).

6.4.Evasion of Host Immune System

In addition to the structural and genetic factors contributing to antibiotic resistance, biofilms employ complex immune evasion strategies that assist in their survival against host defenses. The EPS matrix not only serves as a physical barrier to antibiotic penetration but also protects against phagocytosis and other immune responses, including the action of antibodies (Sandai et al., 2016). Furthermore, specific biofilm-associated genes contribute to the modulation of inflammatory responses, allowing biofilm bacteria to escape detection and elimination by the immune system (Dahi & Al-Yasiri, 2022). Additionally, biofilms can create localized nutrient environments that can influence the overall immune response, complicating effective immune cell attacks (Sandai et al., 2016). The interplay between biofilm growth and immune evasion highlights the need for novel

approaches targeting both the pathogenic mechanisms of biofilms and the immune responses they evade.

7. CLINICAL SIGNIFICANCE AND FUTURE PERSPECTIVES

Biofilm-associated infections pose a considerable clinical challenge, accounting for the majority of persistent and device-related infections in modern healthcare. Their resilience against antibiotics and immune clearance results in prolonged disease courses, increased healthcare costs, and higher morbidity and mortality rates.

7.1.Clinical Management of Biofilm-Related Infections

Effective management requires early diagnosis, appropriate antimicrobial therapy, and in some cases, surgical removal of infected devices. Current clinical guidelines emphasize the importance of combination therapies and long-term treatment regimens, particularly in prosthetic joint infections and endocarditis (Percival, 2017). However, standard therapies remain insufficient, highlighting the need for novel diagnostic and therapeutic tools.

7.2.Improving Diagnostic Processes

Conventional culture-based methods often fail to detect biofilm-associated pathogens due to their altered metabolic state. Advances in molecular techniques such as qPCR, FISH, and next-generation sequencing (NGS) are enhancing diagnostic accuracy by identifying biofilm-related genes and microbial communities directly from clinical samples (Haney et al., 2018). Rapid and reliable diagnostics will be crucial in guiding targeted therapy.

7.3. Personalized Antimicrobial Therapy

Future treatment strategies will likely move toward personalized medicine, tailoring therapies based on the patient's infection profile, biofilm composition, and resistance mechanisms. Combining traditional antibiotics with nanotechnology-based drug delivery systems, quorum sensing inhibitors, or phage therapy may provide individualized and more effective approaches (Abdelghany et al., 2017; Łusiak-Szelachowska et al., 2020).

7.4. Future Directions

The clinical management of biofilm-related infections will increasingly depend on multidisciplinary strategies that integrate microbiology, nanotechnology, immunotherapy, and genomics. Key areas for future research include the development of vaccines against biofilm-forming pathogens, optimization of phage-antibiotic combinations, and CRISPR-based interventions targeting resistance genes (Stanley & Maxwell, 2018).

8. CONCLUSION

Biofilms constitute a highly organized microbial survival strategy whose structural complexity, shaped by extracellular polymeric substances, quorum sensing, and metabolic adaptation, underlies their resilience against antibiotics and host immunity. Consequently, biofilm-associated infections, particularly those linked to medical devices and chronic conditions, remain a major clinical challenge. Current therapies are limited by poor antibiotic penetration, persister cells, and immune evasion, while diagnostic advances have yet to achieve routine clinical integration. Emerging strategies—including nanotechnology-based drug delivery, quorum sensing inhibitors, CRISPR/Cas systems, bacteriophage therapy, and biofilm-targeted immunotherapies—

hold promise, with personalized approaches tailored to infection type and biofilm composition likely to guide future management. Ultimately, effective control of biofilm-related diseases will depend on translating molecular insights into innovative, clinically applicable interventions.

REFERENCES

- Abdelghany, T., Al-Rajhi, A., Al Abboud, M., Alawlaqi, M., Ganash, M., Helmy, E., & Mabrouk, A. (2017). Recent advances in green synthesis of silver nanoparticles and their applications: About future directions. *BioNanoScience*, 8(1), 5–16. <https://doi.org/10.1007/s12668-017-0413-3>
- Amin, M., Navidifar, T., Shooshtari, F., Rashno, M., Savari, M., Jahangirmehr, F., ...& Arshadi, M. (2019). Association between biofilm formation, structure, and the expression levels of genes related to biofilm formation and biofilm-specific resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burn infection in Ahvaz, Iran. *Infection and Drug Resistance*, 12, 3867–3881. <https://doi.org/10.2147/idr.s228981>
- Berne, C., Kysela, D., & Brun, Y. (2010). A bacterial extracellular DNA inhibits settling of motile progeny cells within a biofilm. *Molecular Microbiology*, 77(4), 815–829. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07267.x>
- Bester, E., Kroukamp, O., Hausner, M., Edwards, E., & Wolfaardt, G. (2011). Biofilm form and function: Carbon availability affects biofilm architecture, metabolic activity and planktonic cell yield. *Journal of Applied Microbiology*, 110(2), 387–398. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04894.x>
- Bilman, F., Can, F., Kaya, M., & Yazıcı, A. (2013). Investigation of biofilm-associated antibiotic susceptibilities of methicillin-resistant staphylococci isolated from catheter-related nosocomial infections. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 47(3), 401–416. <https://doi.org/10.5578/mb.5637>

- Bitar, H., & Yılmaz, F. (2024). Biofilm formation by mixed gram-negative bacteria cultures and its effects on ciprofloxacin sensitivity: Cross-sectional research. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 13(1), 1–7. <https://doi.org/10.5336/pharmsci.2023-95234>
- Cook, L., & Dunny, G. (2013). Effects of biofilm growth on plasmid copy number and expression of antibiotic resistance genes in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(4), 1850–1856. <https://doi.org/10.1128/AAC.02010-12>
- Dahi, R., & Al-Yasiri, M. (2022). Measuring BCR1 gene expression in *Candida albicans* biofilm and its relation with persister cell. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 13(S6), 2177–2182. <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.s06.283>
- Daniels, K., Park, Y., Srikantha, T., Pujol, C., & Soll, D. (2013). Impact of environmental conditions on the form and function of *Candida albicans* biofilms. *Eukaryotic Cell*, 12(10), 1389–1402. <https://doi.org/10.1128/EC.00127-13>
- Daniels, K., Srikantha, T., Pujol, C., Park, Y., & Soll, D. (2015). Role of Tec1 in the development, architecture, and integrity of sexual biofilms of *Candida albicans*. *Eukaryotic Cell*, 14(3), 228–240. <https://doi.org/10.1128/ec.00224-14>
- Esmat, M., Galal, A., Hassan, H., & Mohamed, N. (2018). Association of virulence genes of Enterobacteriaceae and biofilm formation in urinary tract infection at Sohag University Hospital. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 27(4), 97–103. <https://doi.org/10.21608/ejmm.2018.285758>

- Flemming, H., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94>
- Ghafoor, A., Hay, I., & Rehm, B. (2011). Role of exopolysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and architecture. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(15), 5238–5246. <https://doi.org/10.1128/AEM.00637-11>
- Guo, Z., Liu, M., & Zhang, D. (2023). Potential of phage depolymerase for the treatment of bacterial biofilms. *Virulence*, 14(1). <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2273567>
- Haney, E., Trimble, M., Cheng, J., Vallé, Q., & Hancock, R. (2018). Critical assessment of methods to quantify biofilm growth and evaluate antibiofilm activity of host defence peptides. *Biomolecules*, 8(2), 29. <https://doi.org/10.3390/biom8020029>
- Harrison, F., & Diggle, S. (2016). An ex vivo lung model to study bronchioles infected with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbiology*, 162(10), 1755–1760. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000352>
- Hendricks, M., Lashua, L., Fischer, D., Flitter, B., Eichinger, K., Durbin, J., ... & Bomberger, J. (2016). Respiratory syncytial virus infection enhances *Pseudomonas aeruginosa* biofilm growth through dysregulation of nutritional immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(6), 1642–1647. <https://doi.org/10.1073/pnas.1516979113>
- Hosseinzadeh, A., Kafil, H., Rajabi, J., Leylabadlo, H., Bialvaei, A., & Soleiman-Meigooni, S. (2024). Evaluation of

- PA0756 and TOXA gene expression in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and its comparison between biofilm-producing and planktonic isolates. *Annals of Military and Health Sciences Research*, 22(1). <https://doi.org/10.5812/amh-142731>
- Hurlow, J., Wolcott, R., & Bowler, P. (2024). Clinical management of chronic wound infections: The battle against biofilm. *Wound Repair and Regeneration*, 33(1), 12–25. <https://doi.org/10.1111/wrr.13241>
- Karaman, M., Alvandian, A., & Bahar, İ. (2017). *Galleria mellonella* larva model in evaluating the effects of biofilm in *Candida albicans*. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 51(1), 32–40. <https://doi.org/10.5578/mb.48622>
- Kievit, T., Gillis, R., Marx, S., Brown, C., & Iglewski, B. (2001). Quorum-sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: Their role and expression patterns. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4), 1865–1873. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1865-1873.2001>
- Kim, S., & Lee, J. (2016). Biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal of Microbiology*, 54(2), 71–85. <https://doi.org/10.1007/s12275-016-5528-7>
- Köremezli, A., Kariptaş, E., & Erdem, B. (2022). Bakteriyel mikroorganizmalarda bir savunma sistemi: “Biyofilm”. *Black Sea Journal of Health Science*, 5(1), 153–161. <https://doi.org/10.19127/bshealthscience.983603>
- Li, W., Wang, J., Qian, H., Tan, L., Zhang, Z., Liu, H., ... Zhao, Y. (2020). Insights into the role of extracellular DNA and extracellular proteins in biofilm formation of *Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 813. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00813>

- Łusiak-Szelachowska, M., Weber-Dąbrowska, B., Międzybrodzki, R., Kłak, M., Fortuna, W., Rogóż, P., ... Górski, A. (2020). Phage therapy: Beyond antibacterial action. *Frontiers in Medicine*, 7, 349. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00349>
- Luyan, Z., Conover, M., Lu, H., Parsek, M., Bayles, K., & Wozniak, D. (2009). Assembly and development of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. *PLoS Pathogens*, 5(3), e1000354. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000354>
- Martins, C., Pires, R., Cunha, A., Pereira, C., Singulani, J., Abrão, F., ... & Mendes-Giannini, M. (2016). *Candida/Candida* biofilms: First description of dual-species *Candida albicans/C. rugosa* biofilm. *Fungal Biology*, 120(4), 530–537. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.01.013>
- Matz, C., Bergfeld, T., Rice, S., & Kjelleberg, S. (2004). Microcolonies, quorum sensing and cytotoxicity determine the survival of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms exposed to protozoan grazing. *Environmental Microbiology*, 6(3), 218–226. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00556.x>
- May, T., Ito, A., & Okabe, S. (2009). Induction of multidrug resistance mechanism in *Escherichia coli* biofilms by interplay between tetracycline and ampicillin resistance genes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(11), 4628–4639. <https://doi.org/10.1128/AAC.00454-09>
- McCall, A., Kumar, R., & Edgerton, M. (2018). *Candida albicans* Sfl1/Sfl2 regulatory network drives the formation of pathogenic microcolonies. *PLoS Pathogens*, 14(9), e1007316. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007316>

- Meng, F., Tao, H., Yan, M., Yang, T., Wang, X., Go, Y., ...& Wang, G. (2022). Nanocluster-mediated photothermia improves eradication efficiency and antibiotic sensitivity of *Helicobacter pylori*. *Cancer Nanotechnology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12645-022-00121-2>
- Nor, H., & Mohd, Z. (2024). Biofilm-associated proteins as potential drug targets. *African Journal of Research in Biological Sciences*, 1(1), 13–16. <https://doi.org/10.62587/afrijbs.1.1.2024.13-16>
- Pannella, G., Lombardi, S. J., Coppola, F., Vergalito, F., Iorizzo, M., Succi, M., ... Coppola, R. (2020). Effect of biofilm formation by *Lactobacillus plantarum* on the malolactic fermentation in model wine. *Foods*, 9(6), 797. <https://doi.org/10.3390/foods9060797>
- Percival, S. (2017). Importance of biofilm formation in surgical infection. *British Journal of Surgery*, 104(2), e85–e94. <https://doi.org/10.1002/bjs.10433>
- Petrova, O., Schurr, J., Schurr, M., & Sauer, K. (2012). Microcolony formation by the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* requires pyruvate and pyruvate fermentation. *Molecular Microbiology*, 86(4), 819–835. <https://doi.org/10.1111/mmi.12018>
- Qi, L., Li, H., Zhang, C., Liang, B., Li, J., Wang, L., ...& Song, H. (2016). Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, and biofilm-specific resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00483>
- Reffuveille, F., Josse, J., Velard, F., Lamret, F., Varin, J., Dubus, M., ... Gangloff, S. (2018). Bone environment influences irreversible adhesion of a methicillin-susceptible

- Staphylococcus aureus* strain. *Frontiers in Microbiology*, 9, 292. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02865>
- Reisner, A., Haagensen, J., Schembri, M., Zechner, E., & Molin, S. (2003). Development and maturation of *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Molecular Microbiology*, 48(4), 933–946. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03490.x>
- Resch, A., Rosenstein, R., Nerz, C., & Götz, F. (2005). Differential gene expression profiling of *Staphylococcus aureus* cultivated under biofilm and planktonic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(5), 2663–2676. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.5.2663-2676.2005>
- Riangrunroj, P., & Polizzi, K. (2019). Bequik (biosensor engineered quorum induced killing): Designer bacteria for destroying recalcitrant biofilms. *Microbial Biotechnology*, 13(2), 311–314. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13465>
- Rodríguez-Miranda, E., Reyes-Escogido, M., Olmedo-Ramírez, V., Jiménez-Garza, O., López-Briones, S., & Hernández-Luna, M. (2024). Differential expression of *fimH*, *ihf*, *upaB*, and *upaH* genes in biofilms- and suspension-grown bacteria from samples of different uropathogenic strains of *Escherichia coli*. *International Journal of Microbiology*, 2024(1). <https://doi.org/10.1155/ijm/5235071>
- Sandai, D., Tabana, Y., Ouweini, A., & Ayodeji, I. (2016). Resistance of *Candida albicans* biofilms to drugs and the host immune system. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(11). <https://doi.org/10.5812/jjm.37385>
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., ... & Tateda, K. (2019). Morphological and biological characteristics of *Staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma. *Microbial Drug*

- Resistance, 25(5), 668–676.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0068>
- Selasi, G., Asiimwe, N., Jeon, H., Na, S., Kwon, H., Kim, Y., ...& Lee, J. (2016). Differences in biofilm mass, expression of biofilm-associated genes, and resistance to desiccation between epidemic and sporadic clones of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* sequence type 191. *PLoS One*, 11(9), e0162576.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162576>
- Shen, Y., Stojicic, S., & Haapasalo, M. (2011). Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. *Journal of Endodontics*, 37(5), 657–661.
<https://doi.org/10.1016/j.joen.2011.02.007>
- Song, Y., Sahni, N., Daniels, K., Lu, K., Srikantha, T., Huang, G., ... & Soll, D. (2011). Alternative mating type configurations (a/a versus a/a or a/a) of *Candida albicans* result in alternative biofilms regulated by different pathways. *PLoS Biology*, 9(8), e1001117.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001117>
- Sousa, C., Henriques, M., Azeredo, J., Teixeira, P., & Oliveira, R. (2008). *Staphylococcus epidermidis* glucose uptake in biofilm versus planktonic cells. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 423–426.
<https://doi.org/10.1007/s11274-007-9478-4>
- Srikantha, T., Daniels, K., Pujol, C., Kim, E., & Soll, D. (2013). Identification of genes upregulated by the transcription factor Bcr1 that are involved in impermeability, impenetrability, and drug resistance of *Candida albicans* biofilms. *Eukaryotic Cell*, 12(6), 875–888.
<https://doi.org/10.1128/EC.00071-13>

- Stanley, S., & Maxwell, K. (2018). Harnessing CRISPR/Cas systems for programmable transcriptional and post-transcriptional regulation. *Biochemistry*, 57(4), 429–437. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.7b01007>
- Sun, P., Ying-yao, L., Sun, R., Wu, Y., & Dolfing, J. (2022). Geographic imprint and ecological functions of the abiotic component of periphytic biofilms. *iMeta*, 1(4). <https://doi.org/10.1002/imt2.60>
- Tan, L., Zhao, F., Qiao, H., Zhao, A., Malakar, P., Liu, H., ... Zhao, Y. (2018). High correlation between structure development and chemical variation during biofilm formation by *Vibrio parahaemolyticus*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1881. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01881>
- Thieme, L., Hartung, A., Tramm, K., Klinger-Strobel, M., Jandt, K., Makarewicz, O., ...&Pletz, M. (2019). MBEC versus MBIC: The lack of differentiation between biofilm reducing and inhibitory effects as a current problem in biofilm methodology. *Biological Procedures Online*, 21(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12575-019-0106-0>
- Vatan, A., & Saltoğlu, N. (2017). Biofilm and diabetic foot infections. *Klimik Dergisi*, 30(3), 101–107. <https://doi.org/10.5152/kd.2017.27>
- Xia, W., Li, N., Shan, H., Lin, Y., Yin, F., Yu, X., ... Zhou, Z. (2021). Gallium porphyrin and gallium nitrate reduce the high vancomycin tolerance of MRSA biofilms by promoting extracellular DNA-dependent biofilm dispersion. *ACS Infectious Diseases*, 7(8), 2565–2582. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.1c00280>
- Xin, L., Shen, J., Huang, Z., Chen, J., Tao, L., Chen, H., ... & Huang, P. (2024). Ultrasound-launched targeted

nanoparticle enhances antibacterial sonodynamic therapy
for effective eradication of *Pseudomonas aeruginosa*
biofilm. Bio Integration, 5(1).

<https://doi.org/10.15212/bioi-2024-0001>

POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PCR) TEKNİĞİ İLE GIDA İNTOLERANSININ BELİRLENMESİ

Gözde SELEK¹

1. GİRİŞ

Gıda intoleransı, kişilerin tükettikleri besinlere karşı farkında olmadan duyarlılık göstermesidir. Yani, vücudun belirli bir gıdayı veya gıdadaki bir bileşeni sindirememesinden kaynaklanır. Genellikle süt, laktoz, glüten veya fruktoz içeren yiyeceklerden kaynaklanır (Şekil 1). Bu durum, gıda alerjisinden farklıdır. Gıda alerjileri daha hızlı gelişir ve kişiler bunu rahatça fark edebilirler. Ancak gıda intoleransı yavaş geliştiğinden kişilerin tükettikleri hangi besine karşı duyarlılıklarının olduğunu anlamaları oldukça zordur. Özetle, intoleranslar, vücut tarafından düzgün işlenemeyen maddelere karşı verilen tepkilerdir VE alerjilerden farklı olarak sindirim sistemi ile ilişkilidirler (Simons & Sicherer, 2017, Köseoğlu, 2022)).

¹ Dr., Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, gozde.selek@hotmail.com, ORCID: 0009-0008-9215-9401.



Şekil 1

Gıda intoleransı, vücutta Immünglobülin-G'ye bağlı olarak gecikmeli reaksiyon gösteren bir duyarlılık olarak da açıklanabilir. Yaygın semptomları arasında karın ağrısı, şişkinlik, baş ağrısı, deride döküntü gibi cilt problemleri, yorgunluk ve çeşitli sindirim sorunları yer alır (Lomer, Parkes, & Sanderson, 2008).

Süt ve süt ürünleri, gluten, yumurta, kafein, sığır ve kuzu eti en yaygın gıda intoleransı nedenleri arasındadır. Bitkiler de gıda intolerans sebebi olabilmektedir. Yapısal olarak protein, yağ ve karbonhidratlardan oluşurlar. Farklı iklim koşulları ve farklı ekolojik ortamda yetiştiklerinden dolayı kimyasal içerik açısından da farklılıklar gösterirler. Yapılan araştırmalara göre bazı bitkiler hiç duyarlılık yapmazken bazıları da genel olarak duyarlılığa sebep olmaktadır (Uzunismail ve ark, 2012).

Laktoz intoleransı olan bireylerde laktaz enzimi eksiktir ve bu da sindirilmemiş laktozun bağırsağa ulaşmasına neden olur. Burada bakteriler tarafından fermente edilerek gazlar ve kısa zincirli yağ asitleri üretilir. Bu bireylerde özellikle süt ve süt

ürünleri tüketildikten sonra karın ağrısı, şişkinlik ve ishal gibi semptomlara yol açar (Zingone et. Al, 2023). Laktaz eksikliği nadiren doğuştan gelse de genellikle bağırsak hasarını takiben ikincil bir süreç olarak geç başlangıçlı bir enzim aktivitesinde düşüş olarak ortaya çıkar. (Toca et. Al., 2022.)

Gluten intoleransı, buğday hassasiyeti, gluten duyarlılığı ve çölyak hastalığı gibi farklı şekillerde kendini gösterebilir. Bazı bireylerde glutenin sindirimi zorlaşır, bu durum ishal, yağlı dışkı, bulantı ve kusma gibi gastrointestinal şikayetlere; ayrıca yorgunluk, kilo kaybı ve baş ağrısı gibi semptomlara da neden olabilir (Catassi & Fasano, 2020).

Fruktoz intoleransı, vücudun fruktozu metabolize etmekte zorlandığı genetik bir metabolik bozukluktur. Bu durum, fruktoz-1-fosfat aldolaz enziminin eksikliği ya da yetersiz aktivitesi nedeniyle ortaya çıkar. Karın ağrısı, şişkinlik, mide bulantısı, ishal gibi gastrointestinal belirtilerle kendini gösterir (Berry, 2017).

Histamin intoleransı, vücudun histamini yeterince parçalayıp metabolize edememesi sonucu gelişen bir metabolik bozukluktur. Bu durum genellikle diamin oksidaz enziminin yetersiz üretiminden kaynaklanır ve histaminin vücutta birikmesine neden olur. Sonuç olarak, gözlerde sulanma ve kaşıntı, burun akıntısı, baş ağrısı, hırıltılı solunum, nefes darlığı, öksürük, uykusuzluk ve anksiyete gibi çeşitli belirtilerle ortaya çıkabilmektedir (Maintz & Novak, 2007).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), DNA dizilerini çoğaltan bir moleküler biyoloji tekniği olarak, besin intoleransının tespitinde kullanılan geçerli bir yöntemdir. Çalışmada, gerçek zamanlı PCR tekniği ile potansiyel gıda intoleranslarına genel bir bakış sağlamak için, gıda intoleranslarının önemli bir kısmından sorumlu olan 12 spesifik gen mutasyonu analiz edilerek, hastalardan gelen tükürük

örneklerinde Laktoz, Fruktoz, Gluten ve Histamin intoleranslarına bakılmıştır. Gerçekleştirilen test, gıda intoleransları ile ilişkili çeşitli genlerin varyantlarını belirlemeyi hedefler.

Çalışmada, 10 bireyde gerçek zamanlı pcr yöntemi ile gıda intolerans testi gerçekleştirilmiş ve sonuçlar değerlendirilerek ortak intolerans örüntüleri incelenmiştir.

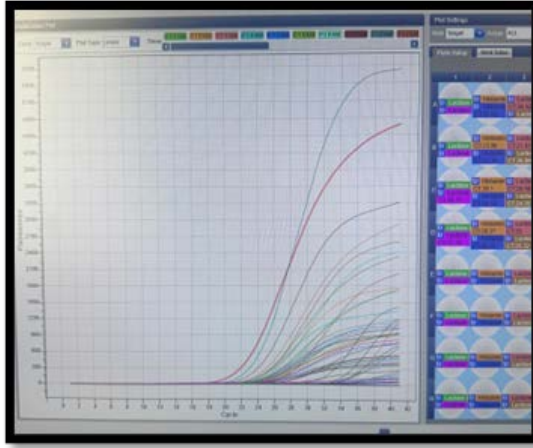
2. METOD

10 bireyden alınan tükürük örneklerinden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen genomik DNA, gıda intoleranslarıyla ilişkili 12 genetik varyantın analizinde kullanılmıştır. Moleküler analizler gerçek zamanlı real time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle yürütülmüştür. Genetik analizde, üretici protokolüne uygun şekilde çalışan ticari bir PCR kiti, Gıda İntolerans Paneli, Kontrol Gen Panelleri kullanılmıştır.

- 700 µL Liziz tamponu, 200 µL örnek (referans numarası yazılı tüplere alınan tükürük örnekleri), 10 µL Manyetik bead, tek bir tüpte karıştırılmıştır.
- Karışım Thermo Shaker cihazında 2 dk 40°C bekletilmiştir.
- Karıştırma işlemi sonunda tüp manyetik raka konulmuş, Beadlerin kenara çekilmesi beklenerek sonrasında tüm sıvı çekilmiştir.
- Yıkama tamponu ile 3 kere yıkama yapılmış üst sıvı çekilerek kurumaya bırakılmıştır.
- Kurumaya bırakılan örneğin olduğu tüpe Elution Tampon eklenmiş, vortexlenmiş, manyetik raka koyularak sıvı kısım (İzole edilen DNA) ayrılmıştır.

- Ticari bir kit olan PCR Mastermix karışımı hazırlanarak plate üzerinde A, B, C, D kuyucuklarına eklenmiştir.
- A sırasına izole edilen DNA örneği ve Gıda İntolerans Gen Paneli, ve B, C, D sıralarına da Panel kontrolleri eklenmiştir.
- Plate üzerine adhesiv fil kapatılır vortexlenir
- Plate Real time PCR cihazına yerleştirilir ve cihaz çalıştırılır.

(Tüm aşamalar Biyogüvenlik kabini içerisinde gerçekleştirilir)



Şekil 2. Gerçek zamanlı PCR sırasında oluşan floresan ışımalar

Özetle, Ekstrakte edilen DNA, hedef alerjenin DNA'sıyla spesifik olarak hibridize olan kısa nükleotidler olan primerlerle karıştırılır. Karışım, yeni DNA zincirlerinin sentezi için örneği ısıtan ve soğutan bir termal döngü cihazına yerleştirilir. Bu döngü birkaç kere tekrarlanarak hedef DNA dizisi çoğaltılır (Şekil 2). Çoğaltılan DNA, alerjenin varlığını

gösteren ölçülebilir bir sinyal sağlayan gerçek zamanlı PCR ile tespit edilir.

3. TARTIŞMA VE SONUÇ

PCR yöntemiyle gerçekleştirilen genetik analiz sonucunda, tüm katılımcılarda laktoz intoleransı ile ilişkili genetik varyantlara rastlanmıştır (Tablo 1). Histamin intoleransı 2 bireyde (H1,H9), gluten intoleransı ise 1 bireyde (H2) saptanmıştır. Fruktoz intoleransına ilişkin herhangi bir varyant tespit edilmemiştir.

Tablo 1. Hastaların Gıda İntoleransı Sonuçları (+ var, - yok)

Hasta	Laktoz	Fruktoz	Gluten	Histamin
H1	+	-	-	+
H2	+	-	+	-
H3	+	-	-	-
H4	+	-	-	-
H5	+	-	-	-
H5	+	-	-	-
H6	+	-	-	-
H7	+	-	-	-
H8	+	-	-	-
H9	+	-	-	+
H10	+	-	-	-

Çalışmada incelenen 10 hastanın tamamında laktoz intoleransına ilişkin genetik varyantların tespit edilmesi, laktoz intoleransının toplum içinde yaygın bir sağlık sorunu olduğunu düşündürmektedir. Yine Türkiye'de yapılan çalışmalarda, yetişkin bireylerin %70' inden fazlasında laktoz intoleransı saptanmıştır (Demirgöl ve Demirgöl, 2019, Yalçın ve ark., 2022). Güney Amerika, Asya ve Afrika'da bu oranın % 50'nin üzerinde olduğu ve bazı Asya ülkelerinde ise yetişkinlerin neredeyse % 100'ünün laktoz intoleransına sahip olduğu yapılan araştırmalarda bildirilmiştir. (Lukito ve ark. 2015).

Histamin intoleransı, bu hasta grubunda yaklaşık %20 prevalansa sahiptir. 2004 yılında yapılan bir epidemiyolojik çalışmaya göre nüfusun yaklaşık %1'inde histamin intoleransı görülmektedir (L.Maintz, et al.2007). 2020 yılında yapılan bir çalışmaya göre ise bu tahmin %1-3'e ulaşmıştır (O. Comas-Basté, et al. 2020). Toplumda oldukça nadir görüldüğü düşünülürse, çalışmada histamin intoleransı bulunan 2 hastanın akrabalık ilişkisi araştırılmalı, akrabalık varsa, genetik yatkınlık daha güçlü olarak düşünülebilmektedir. Akrabalık yoksa, intoleransların çevresel veya başka faktörlerle ortaya çıktığı düşünülebilir.

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, çalışılan biray sayısının fazla olmamasına rağmen, laktoz intoleransının %100 oranında olduğu görülmektedir. Ancak, daha geniş ve heterojen bir hasta grubunda (farklı yaş, cinsiyet gibi) yapılacak ek çalışmalar, laktoz ve diğer gıda intoleranslarının toplumdaki dağılımını daha kapsamlı şekilde ortaya koyacaktır. Bu tür araştırmalar hem tanı yöntemlerinin optimize edilmesini hem de tedavi yaklaşımlarının kişiye özel hale getirilmesini mümkün kılacaktır.

KAYNAKÇA

- Berry, G. T. (2017). Hereditary fructose intolerance: Diagnosis and management. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 40(5), 761–768. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0059-7>
- Catassi, C., & Fasano, A. (2020). Celiac disease. *The New England Journal of Medicine*, 383(14), 1355–1367. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1800687>
- Demirgöl, F., Demirgöl, R. 2019. Laktoz intoleransın prevalansı, teşhisi ve laktozsuz beslenme tavsiyeleri. *Food and Health* 5(4):281-290, 281-290.
- L. Maintz, et al. (2007). Histamine And Histamine Intolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, sf: 1185-1196.
- Lomer, M. C. E., Parkes, G. C., & Sanderson, J. D. (2008). Review article: lactose intolerance in clinical practice – myths and realities. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 27(2), 93–103. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03557.x>
- Lukito, W., Malik, SG., Surono, IS., Wahlqvist, ML., 2015. From ‘lactose intolerance’ to ‘lactose nutrition’. *Asia Pac J Clin Nutr*. 24(Suppl 1): S1-S8
- Maintz, L., & Novak, N. (2007). Histamine and histamine intolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(5), 1185–1196. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.5.1185>
- Myths and Facts about Food Intolerance: A Narrative Review
Fabiana Zingone 1,2,* ,† , Luisa Bertin 1,2,†, Daria Maniero 1 , Michela Palo 1 , Greta Lorenzon 1 , Brigida Barberio 2 , Carolina Ciacci 3 and Edoardo Vincenzo Savarino 1, *Nutrients* 2023, 15(23), 4969; <https://doi.org/10.3390/nu15234969>

- National Health Service (NHS). (2022). Food intolerance. <https://www.nhs.uk/conditions/food-intolerance/>
- O. Comas-Basté, et al. (2020). Histamine Intolerance: The Current State Of The Art. *Biomolecules*, sf: 1181.
- Sabiha Zeynep Aydenk Köseoğlu (2020). Besin İntoleransı ve Tanı Testleri, *European Journal of Science and Technology*, No. 18, pp. 616-620
- Simons, F. E. R., & Sicherer, S. H. (2017). Food allergies and intolerances. In *Middleton's Allergy: Principles and Practice* (pp. 1123–1142). Elsevier.
- Toca MDC, Fernández A, Orsi M, Tabacco O, Vinderola G. Laktoz intoleransı: efsaneler ve gerçekler. Bir güncelleme. *Arch Argent Pediatr*. 2022 Şubat; 120 (1):59-66.)
- Uzunismail, H., Cengiz, M., Uzun, H., Özbakır, F., Göksel, S., Demirdağ, F., Can, G., Balcı, H., (2012). The Effects of Provocation By Foods With Raised IgG Antibodies and Additives on the Course of Crohn's Disease: A Pilot Study. *Turk J Gastroenterol*. 23(1):19- 27.
- Yalçın, K. S., Kasapoğlu, B., Alanlı, R., Küçükay, M. B., Yozgat, A., Kekilli, M., & Dönmez, S. (2022). The effect of lactose intolerance on plasma glucose levels and related biochemical parameters. *Journal of Health Sciences and Medicine*, 5(4), 1110–1113.

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK
DEĞERLENDİRMELERİ

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com