

Medikal İmplantlarda Biyofilm Oluşumu Biofilm Formation on Medical Implants

Gülümser ACAR DOĞANLI

Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Teknoloji Fakültesi
Pamukkale Üniversitesi

gulumseracar@pau.edu.tr

Özetçe

Biyofilm, canlı veya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polisakkarit bir matris içinde gömülü halde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu bir topluluktur. Biyofilm tabakasına su ile temas eden tüm yüzeylerde rastlamak mümkündür. Biyofilm tabakası, bakterileri besinsizlikten, kuraklıktan, pH dalgalanmalarından ve toksinlerden korur. Biyofilm yapısı insan vücudunda kateterler, kontakt lens, protez, kalp kapakçıkları ve kalp pilleri, rahim içi araç, böbrek taşı, akciğer dokusu gibi canlı ve cansız birçok yüzeyde bulunabilir. Nazokomiyal (hastane) enfeksiyonlarının yaklaşık %65'inden mikroorganizmaların oluşturduğu biyofilmlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Özellikle biyomalzeme veya medikal implantlar üzerinde oluşan biyofilm tabakası implantlara zarar vermekte ve ayrıca enfeksiyon oluşmasına neden olmaktadır. Biyomalzemelerin biyofilm oluşumuna karşı dirençli olmaları için araştırmalar, biyomalzemeler üzerine antibakteriyel madde yükleme, biyomalzemeleri anti-adesev/antibakteriyel immobilize edilmiş ajanlarla kaplama veya nanoyapılarla yüzey kaplama gibi antibiyofilm-biyomalzemeler üretimi üzerine odaklanmıştır.

Anahtar Kelimeler – biyofilm; biyomalzeme; implant; antimikrobiyal.

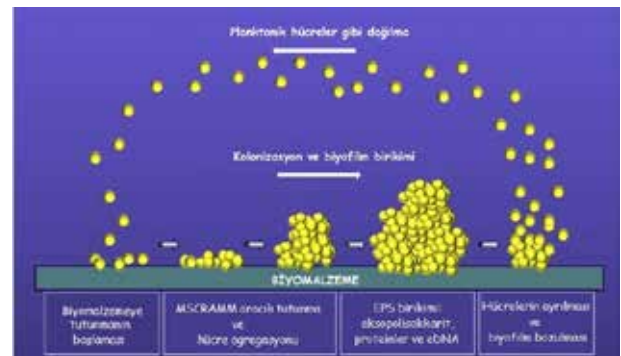
Abstract

Biofilm is a community of microorganisms. These microorganisms live together as buried into a polysaccharide that was produced by them by sticking to a surface alive or inanimate. Biofilm layer can be found on all surfaces that contact with water. Biofilm layer protects bacteria from malnutrition, drought, pH fluctuations and toxins. Biofilms can be found on many animate and inanimate surfaces in human body, such as catheters, contact lenses, prostheses, heart valves and pacemakers, intrauterine device, kidney stones, lung tissue. It is reported that biofilms, which are formed by microorganisms, are responsible for approximately 65% of nosocomial infections. In particular, the biofilm layer formed on the biomaterial or medical implants damages the implants and also causes infection. Researches are focused on production of anti-biofilm biomaterials such as loaded with antibacterial substances, or coated with anti-adhesive/antibacterial immobilized agents, or surfaced with nanostructures for biofilm resistant materials.

Keywords – biofilm; biomaterial; implant; antimicrobial

1. Giriş

Bakteriyel adezyon ve biyofilmler sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyonlarda özellikle intravasküler kateterler, idrar sondaları ve ortopedik implant gibi implante tıbbi cihazlarla ilgili olanlarda esas rol oynar [1]. Bakteri hücreleri tıbbi bir malzemenin yüzeyine yapışır, çoğalır ve implante olmuş yüzeyde biyofilm oluşturmak üzere kolonize olur ve bunun sonucunda biyomalzeme ilişkili enfeksiyon ortaya çıkar (Şekil 1). Biyomalzeme yüzeyindeki enfeksiyonların tek başına antibiyotiklerle tedavisi oldukça zordur. Çünkü biyofilm, bakterileri antimikrobiyal ajanlara karşı korur [2-4]. Enfeksiyon için diğer bir problem, bilinen antibiyotiklere karşı dirençli bakteri popülasyonunun artmasıdır [5-6]. İmplant cihazların cerrahi olarak çıkarılması ve değiştirilmesi tek tedavi yöntemi olur ki böyle bir durum da hem maliyetin hem de hastalığın artışına neden olur [7]. Enfeksiyondan tamamen temizlenmek için implantın değiştirilmesi, tedaviyi geciktirmesi ve modern olmamasına rağmen özellikle ortopedide zorunlu olarak uygulanmaktadır. Bu tür uygulamalara rağmen, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) gibi ölümcül patojenler tarafından enfeksiyon tekrar nüks edebilmektedir [8].



Şekil 1: Biyofilm oluşum döngüsü [9]

Mikrobiyal tutunmaya dirençli malzeme geliştirmek, mikrobiyal adezyonu etkileyen faktörleri ve enfeksiyon öncülünü belirlemek son yıllarda büyük bir ilgi çekmektedir. Günümüzde biyomalzemeler ile ilişkili enfeksiyonları tamamen yok eden tek bir strateji yoktur. Bakteriyel tutunma, biyomalzeme ilişkili enfeksiyonların patojenezinde çok önemli bir adımdır. Başlangıç bakteriyel adezyon biyomalzemenin yüzey özellikleri ile yakından ilişkili olup bakteriler spesifik olmayan interaksiyonlar yoluyla biyomalzemenin yüzeyine



direkt bağlanabilmekte veya malzeme yüzeyindeki moleküllere tutunarak indirekt bağlanabilmektedir. Bu nedenle, implantların yüzey özelliklerinin değiştirilmesi ile mikroorganizmaların başlangıç tutunmalarının önlenmesi antibiyotik tedavisine alternatif bir önlem olarak düşünülebilir [10]. Bunun yanında, biyomalzemelerin yüzeyinin antimikrobiyal maddelerle kaplanarak bakteriyosidal etki kazandırılması da diğer bir yöntem olarak uygulanmaktadır.

2. Tıbbi cihazların çeşitliliği

2.1. Dış ve Yüzeysel Tıbbi Cihazlar

Enfeksiyona dirençli uygun biyomalzemenin seçimi genel olarak medikal cihazın yerleştirileceği bölge, kullanım zamanı, kontaminasyon seviyesi, enfeksiyon olasılığı ve tahribatin ciddiyeti tarafından belirlenir. Tamamen yüzeysel tıbbi cihazlar, sağlıklı cilt bariyerini ihlal etmediği veya savunmasız mukoza ile temas etmediği zaman genellikle hasta için ciddi enfeksiyon riski oluşturmaz (ventilasyona yardımcı endotreakeal tüpler hariç) [11].

Yüzeysel biyomalzemelerin yüzeyi, kesik veya çizik deri ile temas ettiğinde veya derinin yapısını ve koruma fonksiyonunu değiştirdiğinde özel durumlar ortaya çıkar. Bununla beraber, koruyucu bariyeri tekrar oluşturmak için deri örtüsü şeklinde tıbbi cihazlar geliştirilmektedir. Bu amaçla, antimikrobiyal özelliğe sahip, deri kontaminasyonunu önleyen anti-infektif yüzeyler üretilmektedir. Üretilen yapının doğası ne olursa olsun (yapay organik matriks veya in vitro mühendislik ürünü), enfeksiyon riski, yapay doku kademeli olarak kanlanmaya başlayınca ve konağın immun sistemi tarafından korununcaya kadar yüksek olacaktır [11].

2.2. Perkütan ve Permukozal Cihazlar

Perkütan ve permukozal implantlar yüzeysel implantlardan daha kritik bir durum oluşturur ki bu tür cihazlar iç dokulara ve anatomik yapılarla ulaşmak için deri ve mukozayı geçerler. Deri ve mukozal membranlar vücudun doğal koruma bariyerleridir. Sadece virulans yüksek patojenler bu bariyeri başarılı bir şekilde geçebilirler. Perkütan ve permukozal cihazlar bu engelleri ihlal ederler ve daha az virulans olan fırsatçı patojenlerin iç dokuları istila etmeleri için gerekli koşulları oluştururlar. Ortopedik cerrahide perkütan implantlar sıklıkla dış kemik fiksasyonu için kullanılmaktadır. Özellikle deri içine uzanan perkütan iğne veya telin bulunduğu bölge enfeksiyon için yüksek risk oluşturur. Sol ventrikül destek cihazı veya damar hemodiyaliz kateteri gibi bazı perkütan cihazlar kardiyovasküler sistem veya merkezi sinir sistemi gibi hassas dokulara uzandıklarından, enfekte olduklarında hayati tehlikelere neden olurlar [11-13].

Permukozal implantların önemli bir kategorisi ise dental implantlardır. Dental implantların kontaminasyonu, cerrahi prosedür esnasında gelişebilir ve yayılır. Cerrahi müdahale esnasında en önemli kontaminasyon kaynağı dental plaklardır. Dental plak, ağız boşluğu mikroorganizmalarından oluşan oldukça çeşitli ve karmaşık bir topluluktur. Modern moleküler biyolojik tekniklerle dental plakların yaklaşık 1000 farklı bakteri türü içerdiği tespit edilmiştir [14]. Bu nedenle dental plaklar implant enfeksiyonları için yüksek enfeksiyon riski oluşturur. Dental implant prosedürünün tartışılan bir etkisi de bakteriyemi'ye neden olması ve bunun sonucunda vücudun diğer bölgelerine özellikle de diğer implant cihazlara (kalp kapakçığı, ortopedik implantlar..) bulaşmasıdır [11]. Bu

nedenle bu tür enfeksiyonlar sadece lokal olarak kalmamakta, pürüzsüz, adezyon için uygun biyomedikal cihaz yüzeylerinde biyofilm oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle enfeksiyona dirençli biyomalzeme stratejileri mikrobiyal gelişimin ve çapraz enfeksiyonların önlenmesi için önemli bir uygulamadır.

2.3. Vücut İçi İmplant Cihazlar

Vücut içi implant cihazlarla ilişkili enfeksiyonların etkileri, genel olarak implantasyon bölgesi, cihazın temas ettiği doku ve biyolojik sistemlere bağlıdır. Bu noktada, doku tarafından tamamen çevrili tıbbi implante cihazlar, hastaları önemli ve zaman zaman da hayatlarını tehdit eden risklere maruz bırakabilmektedir. Bununla birlikte enfeksiyon gelişimine neden olabilecek olası yollar, özellikle de operasyon öncesinde veya sırasında implant yüzeyinin kontaminasyonu gibi bir kaç durumla sınırlıdır. Ancak, perkütan cihazlar gibi diğer cihazlardan farklı olarak kolonizasyon ve enfeksiyon riski uzun süre boyunca yüksek kalır. Diğer taraftan doğru antibiyotiklerin ideal kombinasyonu, kontamine vaskularize doku ve biyoaktif biyomalzemelerin üzerinde etkili bir şekilde hareketi periprotetik dokuların içine hızlıca girmesini sağlar ve implant cerrahiye takiben en az iki hafta süren anti-infektif etki gösterir [11].

Vücut içi implantların diğer bir etkisi de hematogen yayılma olup kan akımı ve kardiyovasküler sistem ile direkt temas halinde olmasıdır. Kalıcı kalp pili gibi kalp cihazlarının yaklaşık %28'inde cihaz yerleştirildikten 1 yıl sonra gelişen geç *S. aureus* enfeksiyonu tanısı konulmuştur [15]. Ayrıca, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve Enterobacteriaceae familyasına ait diğer bakteriler enfekte ortopedik implantlardan izole edilmiştir [16,17,18]. Bu mikroorganizmaların farklı makromoleküler kompozisyondan oluşan biyofilm üreticisi oldukları da bilinmektedir [18-20].

3. Enfeksiyona Dirençli Biyomalzeme Üretimi

Biyomalzeme ilişkili enfeksiyonları önlemek amacıyla çeşitli yaklaşımlar öne sürülmekte ve bu yaklaşımlar doğrultusunda enfeksiyona dirençli biyomalzemeler üretilmektedir. Anti-infektif biyomalzeme üretiminde üzerinde durulan başlıca stratejiler şöyledir:

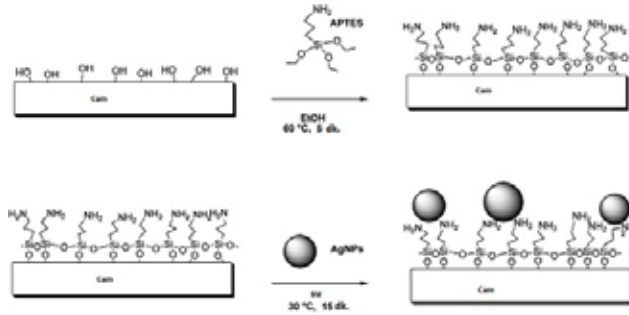
- yüzey modifikasyonu ile bakteriyel tutunmayı önleme,
- yüzey kaplama ile bakteriyel tutunmayı önleme,
- malzeme yüzeyini bakteriyosidal etkiye sahip maddelerle kaplama,
- malzeme yüzeyinde porlar oluşturularak bu porlara antimikrobiyal madde yükleme,
- tutunmayı önleyici ve antimikrobiyal etkiye sahip kombinasyonlarla kaplama

Bu stratejilerden tutunmayı önleme veya antimikrobiyal etki oluşturma amacıyla yapılan yüzey kaplama işlemi için nanopartiküller sıklıkla tercih edilmektedir. Özellikle gümüş-nanopartiküllerinin antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteleri ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcut olup bu tür nanomalzemelerin medikal biyomalzeme üretiminde kullanılabileceği bildirilmiştir. Gubta vd., (2014) *Psidium guajava* yaprakları ile hazırlanan gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs) *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas diminuta*,

Tıbbi Cihaz Tasarımı 6

3. Gün / 17 Ekim 2015, Cumartesi

Mycobacterium smegmatis, *Fusarium oxysporum* ve *Candida albicans*' a karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliğe sahip olduğunu ve biyomedikal alanda potansiyel uygulamalara sahip olabileceğini rapor etmişlerdir [21]. Gümüş nanopartikülleri ile yapılan bir diğer çalışmada (3-aminopropil) triethoksisilan ile modifiye edilen cam bir yüzey AgNPs ile kaplanmış ve bu malzemenin *Staphylococcus epidermidis* RP62A'nin biyofilm oluşumuna karşı etkisi araştırılmıştır (Şekil 2). Üretilen bu malzemenin güçlü antibiyofilm özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir [22]. Polikationik nanopartiküller in-vitro biyoyumlu, geniş spektrumlu bakterisidal özelliğe sahiptir. Sentezlenen çapraz bağlı quaterner amonyum polietilenimin bileşiği yumuşak astar malzemeleri içine malzemenin mekanik ve biyoyumluluk özelliklerini etkilemeyecek şekilde düşük konsantrasyonda ilave edildiğinde güçlü bakterisidal aktivite gösterdiği belirlenmiştir [23]. Demir oksit nanopartikülleri, ilaç dağılımı [24] ve kanser terapisi [25] için biyoyumlu ve paramanyetik özelliğe sahip eşsiz moleküllerdir. Oleik asit ile yüzeyi modifiye edilen demir oksit moleküllerinin de *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı güçlü antibiyofilm özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir [26].



Şekil 2: Cam yüzey modifikasyonu ve AgNP'ler ile kaplanması [22]

Braem vd., (2015) kemik implant malzemesi olarak Ti/SiO₂ 'den yeni bir kompozit malzeme üretmiş ve bu malzemenin kontrollü olarak toremifen salmasını sağlamışlardır. Üretilen malzemenin *Candida albicans*'a karşı antibiyofilm özelliği araştırılmış ve toremifen'in *C. albicans* biyofilm oluşumunu indirdiği tespit edilmiştir [27]. Biyofilm oluşumuna dirençli dental malzeme üretimi için ise cam iyonomer yüzeyi dimetilaminododesil metakrilat ile kaplanmış ve yüzeyi kaplanmamış olana kıyasla biyofilm oluşumunun azaldığı bildirilmiştir [28]. Kateter ilişkili üriner enfeksiyonları önlemek amacıyla; rifampisin, sparfloksasin ve triklosan antibiyotikleri kombinasyonuna emdirilen üriner kateterler *Proteus mirabilis*, *S. aureus* ve *Escherichia coli* gibi üropatojenlerin kolonizasyonu 7-12 hafta süresince önlemiştir [29]. Yüzeye madde yükleme ile ilgili stratejinin uygulamasında ise poli(eter ürean), poli(etilen glikol) ile muamele edilerek yüzeyinde gözenekler oluşturulmuş ve oluşturulan gözenekler çinko (Zn) ve galyum (Ga) ile yüklenmiştir. Ga ve Zn elementel demir analogudur. Bakteri hücreindeki demir ile yer değiştirip oksidatif metabolizmaya engel olarak *P. aeruginosa* ve *S. epidermidis*'in gelişimine engel olmuştur [30]. Yüzey modifikasyonu ile ilgili bir çalışmada, yüzey özellikleri değiştirilen polihidroksi alkaonat'ın yüzeyi antibiyofilm ajan olan dispersin B ile yüklenmiş ve *Staphylococcus epidermidis*'in tutunmasını ve

agregasyonunu engellediği belirlenmiştir [31]. Diğer bir çalışmada ise polilaktid tıbbi malzemenin yüzeyine kovalent modifikasyon ile quaterner poli(2-(dimetilamino)etil metakrilat) bağlayarak modifiye edilip ilgili biyomalzeme tutunma önleyici ve antibiyofilm özelliği kazandırılmıştır [32]. Diğer taraftan, Domingues vd., (2015) yaptıkları bir çalışmada enfeksiyona dirençli biyomalzeme geliştirirken makrofaj fagositozununda dikkate alınması gerektiğini vurgulamışlar ve biyomalzeme yüzey modifikasyonu ile ilgili ilerki çalışmaların fagositozu arttırmaya yönelik olması gerektiği önerisinde bulunmuşlardır [33].

4. Sonuçlar

Biyomalzemeler bakteriyel tutunma ve biyofilm oluşumu için oldukça uygun materyallerdir. Bu nedenle biyomalzeme üzerinde enfeksiyon gelişimi ve biyofilm oluşumu biyomalzeme kullanımında en sık rastlanan problemlerdir. Geleneksel antibiyotik tedavilerinin etkinliğinin azalması, enfeksiyonun biyomalzemenin yerleştirildiği bölgenin dışına yayılması gibi konular bilimi ve endüstriyi bu problemi çözmek ve daha da iyisi önlemek için yeni yollar bulmaya çağırılmaktadır. Bakterilerin biyomalzemenin yüzeyine tutunmasının kontrolü, biyofilm oluşumunun ve biyomalzeme ilişkili enfeksiyonların önlenmesi açısından önemli bir stratejidir. Tutunmanın önlenmesi için yüzey modifikasyonu ve yüzey kaplama gibi teknolojiler geliştirilmektedir. Diğer taraftan yüzeyde bakteri gelişimini önlemek için biyomalzemeyi antimikrobiyal madde veya antibiyotik kombinasyonları ile yükleme veya hem tutunmayı azaltmaya hem de bakteri gelişimini önlemeye yönelik antimikrobiyal ve tutunma önleyici madde kombinasyonları ile kaplama gibi yeni stratejiler geliştirilmektedir.

5. Kaynakça

- [1] Francolini, I. ve Donelli, G., "Prevention and control of biofilm-based medical device-related infections", *FEMS Immunol Med Microbiol*, 59., 227-238, 2010.
- [2] Knobloch, J.K.M., von Osten, H., Horstkotte, M.A., Rohde, H. ve Mack, D., "Minimal attachment killing (MAK): a versatile method for susceptibility testing of attached biofilm-positive and negative *Staphylococcus epidermidis*", *Med Microbiol Immunol*, 19., 107-114, 2002.
- [3] Kong, K.F., Vuong, C. ve Otto, M., "Staphylococcus quorum sensing in biofilm formation and infection", *Int J Med Microbiol*, 296., 133-139, 2006.
- [4] Otto, M., "Quorum-sensing control in Staphylococci—a target for antimicrobial drug therapy?" *FEMS Microbiol Lett*, 24., 135-141, 2004.
- [5] Hench, L.L., ve Thompson I., "Twenty-first century challenges for biomaterials", *JR Soc Interface*, 7., S379-391, 2010.
- [6] Wenzel, R.P., "Health care-associated infections: major issues in the early years of the 21st century", *Clin Infect Dis*, 45., 85-88, 2007.
- [7] Klevens, R.M., et al. "Estimating health care-associated infections and deaths in US hospitals, 2002". *Public Health Rep*, 122, 160-166, 2007.
- [8] Montanaro, L., Speziale, P., Campoccia, D., Ravaioli, S., Cangini, I., Pietrocola, G., et al. "Scenery of Staphylococcus implant infections in orthopedics". *Future Microbiol*, 6(11), 1329-49, 2011.



Tıbbi Cihaz Tasarımı 6

3. Gün / 17 Ekim 2015, Cumartesi

- [9] Arciola, C.R., Campoccia, D., Speziale, P., Montanaro, L. ve Costerton, J.W., "Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials", *Biomaterials* 33., 5967-5982, 2012.
- [10] Moons, P., Michiels, C.W. ve Aertsen, A., "Bacterial interactions in biofilms", *Crit Rev Microbiol*, 35., 157-68, 2009.
- [11] Campoccia, D., Montanaro, L. ve Arciola, C.R., "A review of the clinical implications of anti-infective biomaterials and infection-resistant surfaces", *Biomaterials* 34., 8018-8029, 2013.
- [12] Barraclough, K.A., Hawley, C.M., Playford, E.G. ve Johnson, D.W., "Prevention of access-related infection in dialysis", *Expert Rev Anti Infect Ther*, 7(10):1185-1200, 2009.
- [13] Parker, S.L., Anderson, W.N., Lilienfeld, S., Megerian, J.T., McGirt, M.J., "Cerebrospinal shunt infection in patients receiving antibiotic-impregnated versus standard shunts". *J Neurosurg Pediatr*, 8(3), 259-265, 2011.
- [14] ten Cate, J.M., "Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque", *Odontology*, 94(1), 1-9, 2006.
- [15] Chamis, A.L., Peterson, G.E., Cabell, C.H., Corey, G.R., Sorrentino, R.A., Greenfield, R.A., et al. "Staphylococcus aureus bacteraemia in patients with permanent pacemakers or implantable cardioverter-defibrillators". *Circulation*, 104(9), 1029-33, 2001.
- [16] Arciola, C.R., An, Y.H., Campoccia, D., Donati, M.E. ve Montanaro, L., "Etiology of implant orthopedic infections: a survey on 1027 clinical isolates". *Int J Artif Organs*, 28(11), 1091-1100, 2005.
- [17] Von Eiff, C., Arciola, C.R., Montanaro, L., Becker, K. ve Campoccia, D., "Emerging Staphylococcus species as new pathogens in implant infections". *Int J Artif Organs* 29(4), 360-367, 2006.
- [18] Arciola, C.R., Baldassarri, L., Campoccia, D., Creti, R., Pirini, V., Huebner, J., et al. "Strong biofilm production, antibiotic multi-resistance and high gelE expression in epidemic clones of Enterococcus faecalis from orthopaedic implant infections", *Biomaterials* 29(5), 580-586, 2008.
- [19] Montanaro, L., Poggi, A., Visai, L., Ravaioli, S., Campoccia, D., Speziale, P., et al. "Extracellular DNA in biofilms" *Int J Artif Organs*, 34(9), 824-31, 2011.
- [20] Frank, K.L. ve Patel, R., "Poly-N-acetylglucosamine is not a major component of the extracellular matrix in biofilms formed by icaADBC-positive Staphylococcus lugdunensis isolates", *Infect Immun*, 75(10), 4728-4742, 2007.
- [21] Gupta, K., Hazarika, S.N., Saikia, D., Namsa, N.D. ve Mandal, M., "One step green synthesis and anti-microbial and anti-biofilm properties of Psidium guajava L. leaf extract-mediated silver nanoparticles" *Mater. Lett.*, 125, 67-70, 2014.
- [22] Taglietti, A., Arciola, C.R., D'Agostino, A., Dacarro, G., Montanaro, L., Campoccia, D., Cucca, L., Vercellino, M., Poggi, A., Pallavicini, P. ve Visai, L., "Antibiofilm activity of a monolayer of silver nanoparticles anchored to an amino-silanized glass surface", *Biomaterials*, 35, 1779-1788, 2014.
- [23] Atar-Froyman, L., Sharon, A., Weiss, E.I., Hourihaddad, Y., Kesler-Shvero, D., Domb, A.J., Pilo, R. ve Beyth, N., "Anti-biofilm properties of wound dressing incorporating nonrelease polycationic antimicrobials", *Biomaterials*, 46, 141-148, 2015.
- [24] Fahima, D., Abhalaxmi, S., Chandana, M. ve Sanjeeb, K.S., "Dual drug loaded super- paramagnetic iron oxide nanoparticles for targeted cancer therapy". *Biomaterials*, 31, 3694-706, 2010.
- [25] Amanda, L.G., James, B.B., Jeremy, S.P., Sarah, M.N., David, E.N., Jacqueline, A.N., et al. "Magnetic heating of iron oxide nanoparticles and magnetic micelles for cancer therapy". *IEEE Trans Magn*, 49, 231-235, 2013.
- [26] Velusamy, P., Chia-Hung, S., Shritama, A., Venkat, K.G., Jeyanthi, V. ve Pandian, K., "Synthesis of oleic acid coated iron oxide nanoparticles and its role in anti-biofilm activity against clinical isolates of bacterial pathogens", *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 1-7, 2015 (Article in Press).
- [27] Braem, A., De Cremer, K., Delattin, N., De Brucker, K., Neirinck, B., Vandamme, K., Martens, J.A., Michiels, J., Vleugels, J., Cammue, B.P.A. ve Thevissen, K., "Novel anti-infective implant substrates: Controlled release of antibiofilm compounds from mesoporous silica-containing macroporous titanium", *Colloids Surf; B*, 126, 481-488, 2015.
- [28] Feng, J., Cheng, L., Zhou, X., Xu, H.H.K., Weir, M.D., Meyer, M., Maurer, H., Li, Q., Hannig, M. ve Rupf, S., "In situ antibiofilm effect of glass-ionomer cement containing dimethylaminododecyl methacrylate" *Dent. Mater.*, 31, 992-1002, 20015.
- [29] Fisher, L.E., Hook, A.L., Ashraf, W., Yousef, A., Barrett, D.A., Scurr, D.J., Chen, X., Smith, E.F., Fay, M., Parmenter, C.D.J., Parkinson, R. ve Bayston, R., "Biomaterial modification of urinary catheters with antimicrobials to give long-term broadspectrum antibiofilm activity", *J. Controlled Release*, 202, 57-64, 2015.
- [30] Ma, H., Darmawan, E.T., Zhang, M., Zhang, L. ve Bryers, J.D., "Development of a poly(ether urethane) system for the controlled release of two novel antibiofilm agents based on gallium or zinc and its efficacy to prevent bacterial biofilm formation" *J. Controlled Release*, 172, 1035-1044, 2013.
- [31] Aracelys Marciano, Ousmane Ba, Pascal Thebault, Raphaël Crétois, Stéphane Marais, Anthony C. Duncan, "Elucidation of innovative antibiofilm materials", *Colloids Surf; B*, 136, 56-63, 2015.
- [32] Habnoui, S., Lavigne, J-P., Darcos, V., Porsio, B., Garric, X., Coudane, J. ve Nottelet, B., "Toward potent antibiofilm degradable medical devices: A generic method for the antibacterial surface modification of polylactide" *Acta Biomater.*, 9, 7709-7718, 2013.
- [33] Domingues, J.F.S., Roest, S., Wang, Y., van der Mei, H.C., Libera, M., van Kooten, T.G. ve Busscher, H.J., "Macrophage phagocytic activity toward adhering staphylococci on cationic and patterned hydrogel coatings versus common biomaterials", *Acta Biomater.*, 18, 1-8, 2015.