

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANTİBAKTERİYEL NANO GÜMÜŞ KATKILI
POLİMER FİLMER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşegül HOŞ

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ
Ortak Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Uğursoy OLGUN

Haziran 2010

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


**ANTİBAKTERİYEL NANO GÜMÜŞ KATKILI
POLİMER FİLMER**

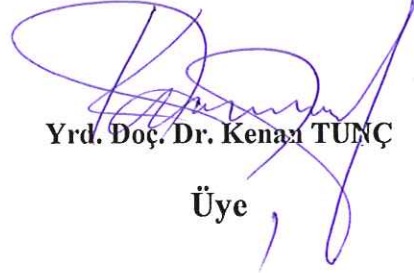
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşegül HOŞ

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Bu tez 07/06/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr. Mustafa
KÜÇÜKİSLAMOĞLU
Jüri Başkanı


Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ
Üye


Yrd. Doç. Dr. E. Selcen
DARÇIN
Üye

TEŞEKKÜR

Tez çalışması ve yüksek lisans eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen, en zor zamanlarımda beni yüreklendiren saygıdeğer hocam ve danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ'a;

Çalışmanın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini paylaşarak beni yönlendiren değerli hocam ve ortak danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Uğursoy OLGUN'a;

Çalışma sırasındaki özverili yardımları için arkadaşım Bilgen GÜNEŞ'e;

Tezimin her aşamasında verdikleri sonsuz destek ve gösterdikleri ilgilerinden dolayı aileme minnetle teşekkür ederim.

Not: Bu çalışma SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje no: BAPK 2009.50.01.005)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	xiv
SUMMARY.....	xv

BÖLÜM 1.

GİRİŞ.....	1
------------	---

BÖLÜM 2.

PATOJENİK MİKROORGANİZMALAR.....	3
2.1. Giriş.....	3
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	3
2.2.1. Morfoloji.....	4
2.2.2. Üreme ve biyokimyasal özellikleri.....	5
2.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> enzim ve toksinleri.....	6
2.2.4. Fiziksel ve kimyasal faktörlere direnç.....	7
2.2.5. <i>Staphylococcus aureus</i> 'un neden olduğu hastalıklar.....	8
2.3. <i>Escherichia coli</i>	8
2.3.1. Morfoloji.....	9
2.3.2. Üreme ve biyokimyasal özellikleri.....	10
2.3.3. Fiziksel ve kimyasal faktörlere direnç.....	11
2.3.4. Virülans faktörleri.....	12
2.3.5. <i>Escherichia coli</i> 'nin neden olduğu hastalıklar.....	13

BÖLÜM 3.

BAKTERİYEL DEZENFEKSİYON VE KORUNMA.....	14
3.1. Giriş.....	14
3.2. Dezenfeksiyon.....	14
3.3. Antiseptik ve Dezenfektanların Etki Mekanizmaları.....	18
3.4. Antimikrobiyallerin Endüstriyel Uygulamaları.....	20
3.5. Antibakteriyel Fenolik Maddeler.....	21
3.5.1. 5- Hidroksi 1,4-naftokinon (juglan).....	23
3.6. Ağır Metal İçeren Antimikrobiyal Maddeler.....	24
3.6.1. Gümüş bileşikleri.....	25
3.6.2. Gümüşün etki mekanizması.....	26
3.6.3. Gümüşün antimikrobiyal aktivitesi.....	27
3.7. Nano Gümüş.....	27

BÖLÜM 4.

ANTİBAKTERİYEL POLİMER KOMPOZİTLER.....	31
4.1. Biyobozunur Polimerler.....	31
4.2. Polikaprolakton (PCL).....	32
4.3. Polimer Kompozitler.....	34

BÖLÜM 5.

MATERYAL VE METOD.....	40
5.1. Materyal.....	40
5.2. Besiyerlerinin Hazırlanması.....	40
5.3. Bakteri Kültürünün Hazırlanması.....	41
5.4. Nano Gümüş Kaplı Kalın Silika (Silika-1) Hazırlanışı.....	41
5.5. Nano Gümüş Kaplı İnce Silika (Silika-2) Hazırlanışı.....	42
5.6. Kompozit Filmlerin Hazırlanması.....	43
5.7. Hazırlanan Kompozit Filmlerin Karakterizasyonu.....	44
5.8. Kompozit Filmlerin Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri.....	44

BÖLÜM 6.	
DENEYSEL BULGULAR.....	45
6.1. Nano Gümüş - Silika - Polikaprolakton Kompozitler.....	45
6.1.1. Nano gümüş kaplı kalın silika (silika-1).....	45
6.1.2. Nano gümüş kaplı ince silika (silika-2).....	49
6.1.3. Nano gümüş kaplı silika kompozit filmlerin hazırlanması....	56
6.1.4. Nano gümüş kaplı silika kompozit filmlerin antibakteriyel aktivite ölçümleri.....	65
6.2. Gümüş - Biyomembran Kompozitler.....	68
6.2.1. Biyomembranların gümüş ile kaplanması (yöntem 1).....	68
6.2.2. Biyomembranların gümüş ile kaplanması (yöntem 2).....	68
6.2.3. Antibakteriyel aktivite ölçümü.....	70
6.3. Juglan- Polikaprolakton-Alimüna Kompozitler.....	72
6.3.1. Juglan-PCL-alimüna kompozit filmlerinin hazırlanması.	72
6.3.2. Juglan-PCL-Al ₂ O ₃ kompozit filmlerinin antibakteriyel aktivite ölçümü.....	73
6.4. Çinko – Juglan Kompleksi.....	74
6.4.1. Çinko asetat (Zn(Ac) ₂ .2H ₂ O) çözeltisinin hazırlanması.	74
6.4.2. Çinko juglan kompleksinin hazırlanması.....	74
6.4.3.Çinko asetat ve çinko juglan kompleksinin MİK değerleri....	75
BÖLÜM 7.	
TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	79
KAYNAKLAR.....	82
ÖZGEÇMİŞ.....	89

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi
ATCC	: American kültür koleksiyonu merkezi (American Type Culture Collection)
°C	: Derece santigrat
CFU	: Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EMB	: Eozin Metilen Blue (Eozin Metilen Mavisini)
ETEC	: Enterotoksigen <i>Escherichia coli</i>
Fc	: Fragment crystallizable (kristalize edilebilen kısım)
FDA	: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
HR-TEM	: Yüksek Çözünürlüklü Geçirimli Elektron Mikroskobu
IgG	: İmmunglobulin G
IL 1	: İnterlökin 1
KAB	: Kuarterner Amonyum Bileşikleri
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LPS	: Lipopolisakkarit
LT	: Labil toksin
MBC	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
nm	: Nanometre
PCL	: Polikaprolakton
PDMS	: Poli (dimetilsilioksan)
PEA	: Poliesteramid
pH	: Çözeltideki hidrojen iyonu konsantrasyonu
PHA	: Polihidroksi-alkonoat
PLA	: Polilaktik asid

PLLA	: Poli-L-laktik asit
ppm	: parts per million (milyonda bir)
PVC	: Polivinil klorür
RNA	: Ribonükleik Asit
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
sp.	: Species (Tür)
SS agar	: <i>Salmonella Shigella</i> agar
ST	: Stabil toksin
subsp.	: Subspecies (Alttür)
UV	: Mor ötesi
% R	: Antimikrobiyal aktivite

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	<i>Staphylococcus aureus</i> genel görünüm.....	4
Şekil 2.2.	<i>Staphylococcus aureus</i> hücre duvarı.....	5
Şekil 2.3.	<i>Escherichia coli</i> genel görünüm.....	9
Şekil 2.4.	<i>Escherichia coli</i> hücre duvarı.....	10
Şekil 3.1.	Triclosan'ın kimyasal yapısı.....	22
Şekil 3.2.	Juglan'ın kimyasal yapısı.....	23
Şekil 4.1.	Biyobozunur polimerler.....	32
Şekil 4.2.	(A) Gümüş silika nanokompozit malzemenin taramalı geçirimli elektron mikroskobu, silika yapısı (gri), gümüş metal partiküller (parlak noktalar), (B) A panelinde kutu içine alınmış bölgenin daha fazla büyütülmüş hali.....	36
Şekil 4.3.	Salınımsız gümüş destekli toz içeren kompozitlerin antibakteriyel etkisinin şematik diyagramı. Antibakteriyel etkiyi oluşturmak amacıyla kompozitlerdeki gümüşün katalitik aktivitesi ile aktif oksijen üretilir.....	39
Şekil 5.1.	Oda sıcaklığındaki nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin (solda) 105 °C'de 1 saat etüvde tutulduktan sonraki (sağda) renk değişimi.....	42
Şekil 5.2.	Oda sıcaklığındaki nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin (solda) 105 °C'de 1 saat etüvde tutulduktan sonraki (sağda) renk değişimi.....	43
Şekil 5.3.	Çift silindirli hadde.....	43
Şekil 6.1.	Silika-1 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	45
Şekil 6.2.	Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	45
Şekil 6.3.	Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	46

Şekil 6.4.	Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	46
Şekil 6.5.	Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin SEM-EDX elementel analiz spektrumu.....	47
Şekil 6.6.	Silika-1 numunesine ait elementel analiz ve haritalama sonuçları	48
Şekil 6.7.	Silika-2 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	49
Şekil 6.8.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü (×20).....	49
Şekil 6.9.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	50
Şekil 6.10.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	50
Şekil 6.11.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin SEM-EDX elementel analiz spektrumu.....	51
Şekil 6.12.	Silika-2 numunesine ait elementel analiz ve haritalama sonuçları	52
Şekil 6.13.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüsü.....	53
Şekil 6.14.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüsü.....	53
Şekil 6.15.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüsü.....	54
Şekil 6.16.	Yaklaşık 25 nm boyutundaki nano gümüşün Silika-2 üzerindeki HR-TEM görüntüsü.....	55
Şekil 6.17.	Antibakteriyel kompozit filmlerin hazırlanmasında kullanılan çift silindirli haddeleme (roll milling) metodu.....	56
Şekil 6.18.	Nano gümüş kaplı Silika-1 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmler, A) %20 silika içeren PCL kompozit film (kontrol film), B) %10 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, C) %20 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, D) %40 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film.....	58
Şekil 6.19.	Nano gümüş kaplı Silika-2 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmler, A) %20 silika içeren PCL kompozit film (kontrol film), B) %10 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, C)	

	%20 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, D) %40 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film.....	58
Şekil 6.20.	%20 Silika-1 içeren PCL kompozit filmin (kontrol film) ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	59
Şekil 6.21.	%10 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü($\times 10$).....	59
Şekil 6.22.	%20 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	60
Şekil 6.23.	%40 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	60
Şekil 6.24.	%20 Silika-2 içeren PCL kompozit filmin (kontrol film) ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	61
Şekil 6.25.	%10 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	61
Şekil 6.26.	%20 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	62
Şekil 6.27.	%40 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$).....	62
Şekil 6.28.	%20 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	63
Şekil 6.29.	%40 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	63
Şekil 6.30.	%20 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	64
Şekil 6.31.	%40 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü.....	64
Şekil 6.32.	A) Kontrol (bağırsak zarı), B) Bordo kırmızı çözeltide bekletilmiş film, C) Bordo kırmızı çözeltide ve ardından oksalik asit çözeltisinde bekletilmiş film, D) AgNO_3 çözeltisinde bekletilmiş film, E) AgNO_3 çözeltisinde ve ardından $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ çözeltisinde bekletilmiş film, F) AgNO_3 çözeltisinde ve ardından oksalik asit çözeltisinde bekletilmiş film, G) AgNO_3 çözeltisinde, ardından oksalik asit çözeltisinde	

	bekletildikten sonra UV ışığa maruz bırakılmış film.....	69
Şekil 6.33.	A) Kontrol filmde (Bağırsak zarı), B) Ag-BM-1 filminde, C) Ag-BM-2 filminde <i>E. coli</i> koloni büyümeleri.....	70
Şekil 6.34.	A) Bağırsak zarı (kontrol film), B) Ag-BM-1 filminde, C) Ag-BM-2 filminde <i>S. aureus</i> koloni büyümeleri.....	71
Şekil 6.35.	A) Kontrol film (PCL-Al ₂ O ₃), B) Juglan (%1)-PCL-Al ₂ O ₃ kompozit film, C) Juglan (%5)-PCL-Al ₂ O ₃ kompozit film.....	72
Şekil 6.36.	Kontrol için (0.2 ml <i>S. aureus</i> ATCC 29213 bakteri süspansiyonu, 0.6 ml Mueller Hinton Broth besiyeri, 0.2 ml %10 alkol çözeltisi) 24 saatlik inkübasyonun ardından besiyerinde meydana gelen <i>S. aureus</i> koloni büyümeleri.....	76
Şekil 6.37.	Zn(Ac) ₂ .2H ₂ O için A) 400 µg/ml, B) 200 µg/ml konsantrasyonlarına karşılık gelen <i>S. aureus</i> koloni büyümeleri...	77
Şekil 6.38.	Çinko juglan kompleksi için A) 50 µg/ml, B) 25 µg/ml, C) 12.5 µg/ml, D) 6.25 µg/ml konsantrasyonlarına karşılık gelen <i>S. aureus</i> koloni büyümeleri.....	78

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1.	Yaygın olarak kullanılan bazı antimikrobiyal maddeler ve uygulama alanları.....	17
Tablo 3.2.	Bazı antiseptik ve dezenfektanların gram pozitif ve gram negatif bakteriler için MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değerleri.....	18
Tablo 3.3.	Antiseptik ve dezenfektan maddelerin etki mekanizmaları.....	19
Tablo 3.4.	Antimikrobiyal maddelerin endüstriyel kullanım alanları.....	20
Tablo 4.1.	Bazı biyobozunur polimerlerin mekanik özellikleri.....	34
Tablo 4.2.	Novaron (%5 gümüş destekli zirkonyum fosfat) uygulama alanları.....	38
Tablo 6.1.	Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin SEM-EDS elementel analiz sonuçları.....	47
Tablo 6.2.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin SEM-EDS elementel analiz sonuçları.....	51
Tablo 6.3.	Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin HR-TEM-EDS element analizi.....	54
Tablo 6.4.	Silika-2 yüzeyinde görüntülenen nano gümüş partikül yüzeyinde yapılan HR-TEM-EDS analiz sonuçları.....	55
Tablo 6.5.	Nano gümüş kaplı Silika-1 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmlerin içeriği.....	57
Tablo 6.6.	Nano gümüş kaplı Silika-2 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmlerin içeriği.....	57
Tablo 6.7.	%10, %20 ve %40 oranında nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmler için besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi).....	66
Tablo 6.8.	%10, %20 ve %40 oranında nano gümüş kaplı Silika-2 içeren	

	PCL kompozit filmler için besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)	66
Tablo 6.9.	Nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri.....	67
Tablo 6.10.	Nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri.....	67
Tablo 6.11.	%40 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit filmler besiyerlerinden alındıktan sonra 24 saat inkübe edilen besiyerlerindeki bakteri üremeleri (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi).....	67
Tablo 6.12.	Yöntem 1’de hazırlanan biyomembran filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri.....	71
Tablo 6.13.	Yöntem 2’de hazırlanan biyomembran filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri.....	72
Tablo 6.14.	Juglan katılarak hazırlanan PCL-Al ₂ O ₃ kompozit filmlerinin içeriği.....	73
Tablo 6.15.	Juglan-PCL-Al ₂ O ₃ kompozit filmleri için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri.....	74
Tablo 6.16.	Farklı dozlardaki çinko asetatın <i>S. aureus</i> için gözlenen test sonuçları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)	75
Tablo 6.17.	Farklı dozlardaki çinko juglan kompleksinin <i>S. aureus</i> için gözlenen test sonuçları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi).	76

ÖZET

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel, polikaprolakton, silika, nano gümüş, kompozit film

Antimikrobiyal katkı polimer kompozitler birçok alanda özellikle hastanelerde, biyouyumlu implantlarda, oyuncak endüstrisinde, gıda üretimi ve paketlenmesinde, medikal cihaz endüstrisinde, yapı elemanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Patojenik bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı gösterdiği direnç günümüzdeki önemli sağlık problemlerinden birisidir. Doğal ve inorganik maddeleri içeren yeni tip güvenilir ve uygun maliyetli biyosidal malzemelerin geliştirilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada yaygın kullanım alanına sahip polikaprolaktonun (PCL) fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla nano gümüş kaplı silika katılarak hazırlanan kompozit filmlerin karakterizasyonu yapılarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısındaki antimikrobiyal aktiviteleri ölçülmüştür. Ayrıca, gümüş ile kaplanmış biyomembranların %100 antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. %1 ve %5 oranında juglan katılarak hazırlanan PCL kompozit filmler, çalışılan her iki bakteri üzerinde %100 antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Metal içerikli başka bir malzeme olan çinko juglan kompleksinin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 için MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değeri 12.5 µg/ml olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmada boyutu 40-63 µm olan Silika-1 ve boyutu 55 µm'den küçük Silika-2 kullanılmıştır. Nano gümüş ile kaplanan silikalar, %10, %20 ve %40 oranında PCL kompozit filmlerin hazırlanmasında kullanılmıştır. Hazırlanan kompozitler, yaklaşık 0.1 mm kalınlığında ince filmler haline getirilerek antimikrobiyal aktiviteleri ölçülmüştür. Nano gümüş kaplı Silika-2 partikül yüzeylerinin HR-TEM analizleri 5-30 nm boyutlarında nano gümüş partiküllerinin oluştuğunu göstermektedir. Deneysel sonuçlar, bu çalışmada kullanılan dozlarda nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit filmlerin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 karşısında antibakteriyel aktivitesinin olmadığını göstermiştir. Nano gümüş kaplı Silika-1(%0.3 Ag) partiküllerinin %10, %20 ve %40 oranında katıldığı PCL kompozit filmler sırasıyla %0.03, %0.06 ve %0.12 Ag içermektedir ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısında sırasıyla %0, %74 ve %100 antibakteriyel aktivite göstermiştir. Nano gümüş kaplı Silika-2 (%0.2 Ag) partiküllerinin %10, %20 ve %40 oranında katıldığı PCL kompozit filmler sırasıyla %0.02, %0.04 ve %0.08 Ag içermektedir ve *E. coli* karşısında sırasıyla %50, %72 ve %100 antibakteriyel aktivite göstermiştir.

ANTIBACTERIAL POLYMER FILMS INCORPORATED WITH NANO SILVER

SUMMARY

Key words: Antibacterial, polycaprolactone, silica, nano silver, composite film

Polymer composites with antimicrobial additives are widely used in many fields, especially in hospitals, bioimplants, toy industry, food production, packaging, medical device industry, and construction elements. Recently, the resistance of pathogenic bacteria against the antimicrobial agents is one of the major health problem. Development of new type reliable and cheap biocidal material that contains organic and inorganic components is important. In this study, the composite films was prepared incorporating silica coated with nano silver, and they were characterized. The antimicrobial activity of this films was measured against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Escherichia coli* ATCC 25922 for the purpose of development of polycaprolactone's functional properties. Also, the antimicrobial activities of biomembrans coated with silver was measured as 100%. PCL composite films incorporated with 1% juglone and 5% juglone showed 100% antimicrobial activity against test microorganisms. MIC (Minimum Inhibition Concentration) value of Zinc juglone complex was measured as 12.5 µg/ml.

In this study, Silica-1 with 40-63 µm particle size and Silica-2 with lower than 55 µm particle size was used. Silica powders coated with nano silver, was used to prepare polycaprolactone composite films. The thickness of this composite films was approximately 0.1 mm. Composites was prepared as thin films and the antimicrobial activity of this films was measured. HR-TEM analysis of surface of Silica-2 particles coated with silver showed that the size of nano silver particles is 5-30 nm. The results of experiments showed that PCL composites containing silica coated with silver, have no antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. PCL composite films that has 10%, 20% and 40% Silica-1 particles coated with nano silver (0.3% Ag) contained 0.03%, 0.06% and 0.12% Ag and showed 0%, 74% and 100% antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 respectively. PCL composite films that has 10%, 20% and 40% Silica-2 particles coated with nano silver (0.2% Ag) contained 0.02%, 0.04% and 0.08% Ag and showed 50%, 72% and 100% antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 respectively.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Mikrobiyal bulaşma, çeşitli alanlarda özellikle medikal cihazlarda, ilaçlarda, sağlık hizmetlerinde, hijyenik uygulamalarda, su arıtma sistemlerinde, hastane ve diş cerrahisi ekipmanında, tekstilde, gıda paketlemede, gıda saklamada en ciddi sorunlardan biri olarak büyük önem taşımaktadır. Antimikrobiyaller, birçok malzemeye kalite ve güvenlik kazandırmaları nedeniyle akademik araştırmalarda ve endüstride ilgi çekmektedir. Bununla birlikte düşük moleküler ağırlığa sahip organik antimikrobiyal ajanların, çevreye toksik olmaları ve kısa süreli antimikrobiyal yeterliliklerinin olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Antimikrobiyallerle ilgili bu sorunların aşılması için antimikrobiyal fonksiyonel gruplar, polimer moleküllerin içine katılmaktadır. Antimikrobiyal polimerlerin kullanımı, bazı mevcut antimikrobiyal ajanların etkisini genişletmek, çevresel problemleri minimize etmek, antimikrobiyal ajanların etkilerini, seçiciliklerini ve ömrünü artırmak için ümit vericidir. Bu polimerlerin geliştirilmesine ilişkin araştırmalar gerek akademik araştırmalar gerekse endüstri için büyük öneme sahiptir [1].

Son yıllarda patojenik bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı gösterdiği direnç önemli bir sağlık problemidir [2]. Bazı antimikrobiyal ajanlar, aşırı toksik ve tahriş edicidir, bu yüzden yeni tip güvenilir ve uygun maliyetli biyosidal malzemelerin geliştirilmesi konusunda yoğun ilgi bulunmaktadır [3].

Antimikrobiyal maddeler plastiklerde uygulanabilmeleri için mikroorganizmalara karşı etkili olmalarının yanı sıra ısıya dayanıklılık, plastikleştiricilerde çözünebilme, polimer ile uyum, düşük sızma hızı, UV'ye dayanıklılık, çevreye zararsız olma gibi özelliklere de sahip olmalıdırlar [4].

Bakteriler, mantarlar ve algler gibi mikroorganizmalar, plastiğin estetik ve fiziksel özelliklerini siyah noktalanmaya veya solmaya, koku oluşumuna ve polimer bozunmasına neden olarak etkiler. Gıda işleme sırasında bitkiler ile temas halindeki cihazlar, mikroorganizmalar için ideal bir ortam sağlar, dolayısıyla bazı ekipman üreticileri antimikrobiyal katkıları kullanmaktadırlar. Gıda işleminde kullanılan sevketme silindirlerine antimikrobiyal madde ilave edilmesi ile temizlik maliyetlerinin düşmesi, ayrıca bakterilere ve mantarlara karşı direnç sağlanır. Ayrıca hastanelerde kullanılan kateterler gibi medikal cihazları, stetoskop, medikal eldivenler gibi harici araçları, zemin ve duvar kaplamalarını içeren birçok alanda antimikrobiyal katkıları kullanım alanı bulmaktadır [5].

İnsanoğlunun bakteriler, küfler, mayalar ve virüsler gibi mikroorganizmalar tarafından yaşadıkları çevrede sık sık enfekte olması çeşitli doğal ve inorganik maddeleri içeren antibakteriyel malzemelerin araştırılmasını yoğunlaştırmıştır. Katalik aktivite, optik özellikler, elektronik özellikler, antimikrobiyal aktivite ve magnetik özellikler gibi fizikokimyasal karakteristiklerinden dolayı metal nanopartiküller, kapsamlı olarak çalışılmaktadır [2]. Metal nanopartiküller arasında gümüş nanopartiküllerin inhibitör ve bakterisidal etkilere sahip oldukları bilinmektedir [6].

İnert doğası ve güçlü antimikrobiyal etkisi nano gümüşü gıda işleme ve medikal ekipman endüstrisinde cazip bir seçenek haline getirmiştir. Nano gümüşün medikal plastiklerde ve gıda işlemede antimikrobiyal kullanımının iki ana nedeni vardır. Bunlardan biri, bakterilerin ve mantarların nesnenin fiziksel özellikleri üzerindeki etkilerini durdurmak, diğeri ise infeksiyon kaynağı olabilecek zararlı bakterilerin gelişimini önlemektir [5].

Yeni tip güvenilir ve uygun maliyetli biyosidal malzemelerin geliştirilmesi günümüzde önem taşımaktadır. Bu çalışmada yaygın kullanım alanına sahip polikaprolaktonun fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla nano gümüş kaplı silika ve juglan katılarak hazırlanan kompozit filmlerin karakterizasyonun yapılması, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısındaki antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesi hedeflenmiştir.

BÖLÜM 2. PATOJENİK MİKROORGANİZMALAR

2.1. Giriş

Bakteriler ciddi hastalıklara yol açabilirler veya masum bir biçimde deriyi kolonize edebilirler. Bakterilerin neden oldukları infeksiyon hastalıkları geniş bir spektruma sahiptir. Uyum yetenekleri çok fazla olan bakteriler, buldukları ortamlarda yaşamlarını sürdürürler ve çoğalırlar; uygun olmayan koşullarda ise spor oluşturarak onlarca yıl canlılıklarını korurlar. Bazı bakteriler hayvanlar için patojendir ancak raslantısal olarak insanı infekte ederler. Bazılarıysa sadece insanda yaşayabilirler [7].

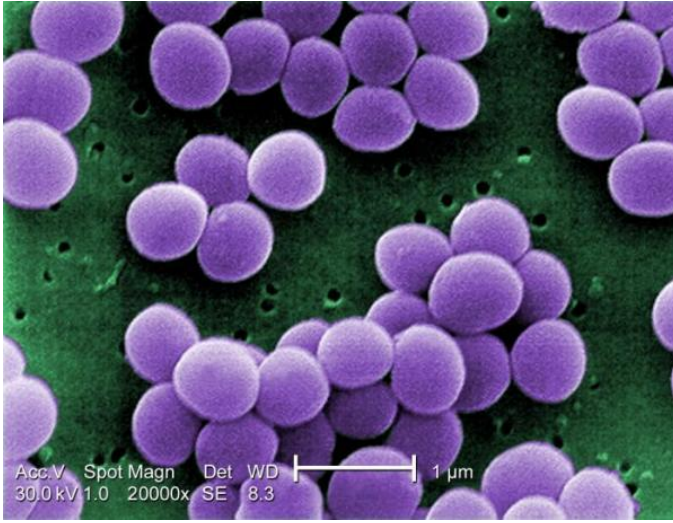
Bakterilerin çoğu, saatler veya günlerle ifade edilen replikasyon süresine sahiptir, kimi bakteriler ise çok daha yavaş ürerler dolayısıyla kronik infeksiyonlara neden olurlar. Bakterilerde genetik varyasyonlar için güçlü bir potansiyel vardır. Aynı tür içindeki bireyler veya farklı türlere ait bireyler arasında genetik madde alışverişini mümkün kılan plazmit DNA, bakterilerin çoğunda bulunmaktadır. Bu önemli özellikleri ile bakteriler, genetik uyum yeteneği, patojenik ve antimikrobiyal maddelere direnç özelliklerini artırırlar ve güçlenirler [7].

2.2. *Staphylococcus aureus*

Çevrede yaygın olarak bulunan insan ve sıcakkanlı hayvanlarda çeşitli infeksiyonlara neden olan önemli bir patojendir [8]. Deri, vajen, nazofarenks ve gastrointestinal sistemde normal flora üyeleri olmalarına rağmen, hayatı tehdit edici ciddi infeksiyonlara yol açabilir [9]. *S. aureus* normal insanların %10-40'ının, hastanelerde çalışanların ve hospitalize hastaların %70'inin burun deliği mukozasında kolonizedir. *S. aureus*'un günümüz için en önemli yönü kemoterapötik maddelerin birçoğuna hızla dayanıklılık kazanmasıdır. [10].

2.2.1. Morfoloji

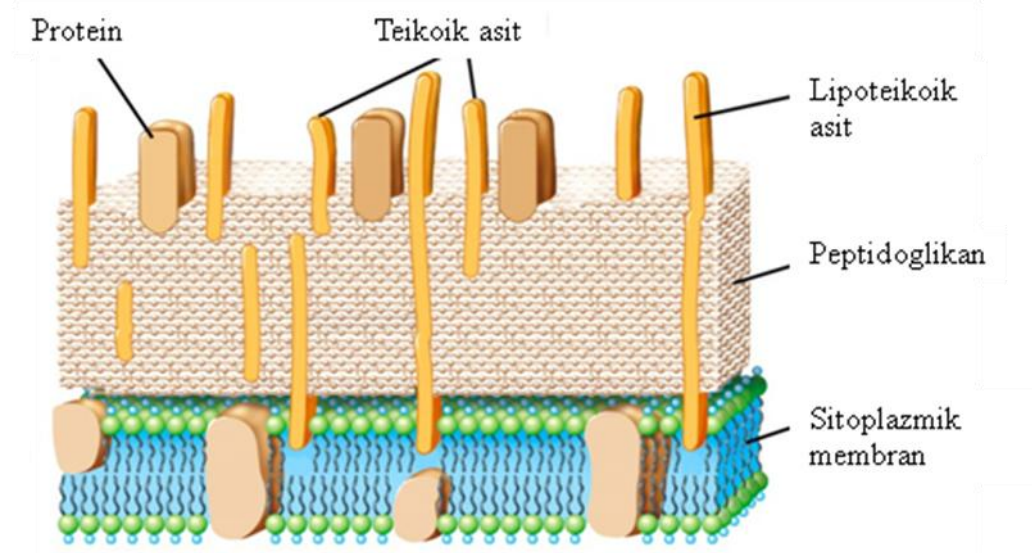
Ortalama 1 µm büyüklüğünde yuvarlak, hareketsiz, sporsuz, gram pozitif koklardır [8]. Hücre bölünmesinin farklı düzlemlerde gerçekleşmesinden dolayı preparatlarda üzüm salkımı şeklinde görülürler [11]. Ayrıca tek tek, ikili veya dörtlü gruplar halinde de görülebilirler [8].



Şekil 2.1. *Staphylococcus aureus* genel görünüm [12]

S. aureus'ta hücre duvarı temel maddesi olan peptidoglikan tabakası gram negatif hücre duvarına göre daha kalındır ve hücre duvarının total ağırlığının yaklaşık %50-60'ını oluşturur. Hücre duvarında bulunan diğer önemli bileşik fosfat içeren bir polisakkarit olan teikoik asittir, bu polisakkarit hücre duvarı ağırlığının yaklaşık %40'ını oluşturur. Peptidoglikan tabakası ve sitoplazma zarına bağlı olan teikoik asit, mukoza hücrelerinin yüzeylerindeki reseptörlere stafilokokların tutunmasını sağlar. Hücre duvarında bulunan bir diğer yapı peptidoglikan tabakaya bağlı olarak bulunan antifagositik özelliğe sahip protein A'dır. *S. aureus*'ta özgül olarak bulunur ve aktif üreme safhasındaki kültürlerde hücre dışına salgılanır. Birçok memeli serumunda bulunan IgG'nin Fc ucuna bağlanarak reaksiyona giren bu madde ayrıca komplemanı inaktive ederek opsonizasyonu engeller [8]. Ayrıca hemen hemen tüm *S. aureus* suşlarında hücre yüzeyinde kümelenme, clumping faktör olarak adlandırılan fibrinojeni fibrine dönüştüren bir enzim bulunmaktadır [11].

Bazı *S. aureus* suşlarında hücre duvarının etrafında bakteriyi fagositozdan koruyan polisakkarit yapıda bir kapsül bulunur. Bazı bakterilerin etrafında ise ancak elektron mikroskobu ile görülebilen ince müköz bir tabaka (slime) vardır. Bu tabaka daha çok klinik araç kullananlardan izole edilen suşlarda saptanır ve bakterinin bu araçlara tutunmasını sağlar [8].



Şekil 2.2. *Staphylococcus aureus* hücre duvarı [13]

2.2.2. Üreme ve biyokimyasal özellikleri

Kanlı jeloz besiyerinde 24 saatlik inkübasyondan sonra porselen görümlü, konveks, düzgün yüzeyli koloniler meydana getirirler [11]. Koloniler çoğu kez karotenoid nedeniyle altın sarısı (latince aureus altın anlamına gelmektedir) rengindedir [9]. Bununla birlikte pigment üretimi değişken özellik gösterir, örneğin bazı *S. aureus* suşları beyaz koloniler meydana getirirler ve oldukça patojeniktirler [14]. Kanlı agardaki kolonilerin etrafında oluşturdukları hemoliz bölgesi salgıladıkları hemolizinin eritrositleri eritmesinden kaynaklanmaktadır. Optimum üreme derecesi 37 °C olmakla beraber 18-40 °C arasında üreyebilirler. *S. aureus* subsp. *anaerobius* hariç fakültatif anaeroptur [8]. Buyyonda başlangıçta homojen bulanıklık meydana getirir. Sonra besiyeri durulanır ve dipte ince bir çöküntü oluşur [10].

Başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratı parçalayarak son ürün olarak laktik asit meydana getirir. Mannitole etki eder. Nitratları nitritlere indirger. Üreaz (zayıf) ve katalaz pozitif, sitokromları olmasına rağmen genellikle oksidaz negatiftir. %10 NaCl ortamında ürer ve Chapman besiyerinde (tuz katılmış) izolasyon oranı yüksektir [8].

2.2.3. *Staphylococcus aureus* enzim ve toksinleri

S. aureus konakta klinik tablonun ortaya çıkmasına neden olan virulansla ilgili çeşitli enzimler ve toksinler salgılar: [8]

Katalaz: Bu enzim hidrojen peroksiti H_2O ve O_2 'e parçalar. Bakteriyi polimorf nüveli lökositlerin etkisinden korur.

Koagülaz: Kan plazmasını pıhtılaştırır ekstrasellüler bir proteindir. Serbest ve hücreye bağlı olmak üzere iki tipi vardır. Antijenik özelliği olan serbest tipi plazmada bulunan koagülaz reaktif faktörü aktive ederek pıhtılaşmaya neden olur. Hücreye bağlı olan ise kümeleşme (clumping) faktörü olarak isimlendirilir. Kümeleşme esnasında koagülaz reaktif faktöre ihtiyacı yoktur ve doğrudan plazmadaki fibrinojene etki eder. Koagülazın etkisiyle oluşan plazma pıhtısı içinde kalan bakterilerin fagositozdan korunmaları virülansı artırır.

Stafilokinaz: Proteolitik bir enzim olan stafilokinaz, plazmadaki plazminojeni aktive edip plazmine dönüşmesini sağlayarak fibrinin erimesine neden olur böylece bakterinin dokular arasında yayılmasını sağlar.

Hiyalüronidaz: Hücre aralarında bulunan hiyalüronik asidi depolimerize ederek bakterinin yayılmasını sağlayan hiyalüronidaz, *S. aureus* suşlarının %30'undan fazlası tarafından salgılanır. Antijenik özelliğe sahiptir ve özgül antikoları ile nötralize olur.

Beta laktamaz: Beta laktam antibiyotikleri etkisiz hale getirerek bakterinin bu antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına neden olur.

Lipaz: Etkisini lipitleri hidrolize ederek gösteren lipaz, bakterinin vücudun yağlı bölgelerinde kolonize olmasını sağlar.

Hemolizinler: Sitotoksik özellik gösteren hemolizinlerin belirli hayvan eritrositlerini eritmelerine göre alfa, beta, gamma ve delta olmak üzere çeşitli tipleri vardır. Alfa hemolizin suşların çoğu tarafından salgılanır ve konak hücre zarına bağlanarak

dermanekrotik ve nörotoksik özellik gösterir. Stafilocokların %90'ından fazlası tarafından salgılanan alfa-delta lizin kombinasyonu dermonekrotik toksin ve letal faktör olarak da etki gösterir. Beta toksin sifingomiyelinazdır ve sifingomiyelin içeren zarlara etki eder.

Lökosidin (Panton-Valentin): Polimorf nüveli lökosit, monosit ve makrofajlar üzerine etkilidir. Lökosidinden etkilenmiş lokositler hücre hareketini kaybederek şişer ve granüllü, yuvarlak bir şekle dönüşerek parçalanır.

Enterotoksin: Isıya dirençli, sindirim sistemi enzimlerine dayanıklı olan toksin besin zehirlenmesine neden olur.

Epidermolitik toksin (Eksfoliatin veya eksfoliatif toksin): Proteaz aktivitesine sahip olan toksin soyulmuş deri sendromuna neden olur, özellikle yeni doğan epidermisinde ciddi sonuçlara neden olur.

Toksik şok sendromu toksini-1: Süper antijen olarak bilinen toksinin makrofajlar tarafından salgılanan IL-1'in üretilmesini stimüle ettiği kabul edilir. Toksik şok sendromuna neden olur.

2.2.4. Fiziksel ve kimyasal faktörlere direnç

Stafilocoklar vejetatif bakteriler olmalarına rağmen, ısıya, bazı dezenfektan ve antiseptik maddelere ve diğer çevre koşullarına vejetatif şekildeki diğer bakterilere göre daha fazla direnç gösterirler. Genellikle sporsuz bakteriler 60 °C ısıda 30 dakikada canlılıklarını yitirdikleri halde stafilocoklar daha yüksek ısıya, daha uzun süre dayanırlar, bu yüzden sporsuz olan bakteriler arasında en dayanıklı cinstir. Yüksek tuz konsantrasyonunda (%10-15) ürerler. Organik maddelerin bulunduğu cerahat ve balgam içerisinde uzun süre canlılıklarını yitirmezler ve kuruluğa oldukça dirençlidirler [8]. Genellikle antibiyotik maddelere karşı diğer bakterilere göre dayanıklı olan stafilocoklar, hızla kemoterapötiklere direnç kazanırlar. Her yeni çıkan antibiyotik başlangıçta etkili iken, zamanla bu bakteriler üzerindeki etkisini yitirir. Bu durum özellikle kemoterapinin en çok uygulandığı hastane ortamlarında gerçekleşir [10].

S. aureus günümüzde kullanılan kemoterapötik maddelerin çoğuna direnç kazanmıştır. Penisilin ilk kullanıldığı 1946-1950 yıllarında en etkili antibiyotik

olmasına rağmen, bakteri salgıladığı beta laktamaz ile bu antibiyotiğe direnç kazanmıştır. Beta laktamaz ile meydana gelen direnci önlemek amacıyla yarı sentetik penisilinler (metisilin, oksasilin) geliştirilmiş ancak bu antibiyotiklere de kısa sürede direnç ortaya çıkmıştır. Penisilin direnci kromozomlar üzerinde kodlanmış penisilin bağlayan proteinlerin penisiline olan duyarlılığının azalması veya yok olması sonucu da ortaya çıkar [8]. *S. aureus* novobiocin'e duyarlı olmaması ile *S. saprophyticus*'dan ayrılır. Bu direnç kromozomal direnç özelliğindedir [10].

2.2.5. *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu hastalıklar

S. aureus organizmaya girdiği yerde lokal olarak üreme ve süpürasyonlara neden olur, ayrıca dokular arasına ve kana yayılarak ve buralarda çeşitli ekstrasellüler maddeler oluşturarak değişik klinik tablolar oluşturabilir [10]. *S. aureus*'un tipik lezyonu absedir. Abse merkezi nekroza uğrayıp genel olarak dışarı açılırsa organizmaya kan yolu ile genel yayılım yapabilir. Dikiş ve damar içi katater gibi yabancı cisimler infeksiyonlara yatkınlık yaratan önemli faktörlerdir [15].

S. aureus deri ve yumuşak doku infeksiyonları, gastroenterit, yara infeksiyonları, septik artrit, bakteriyemi, endokardit ve osteomyelit gibi çeşitli klinik tablolara neden olur. Bakteriyel nedenli piyojenik deri infeksiyonlarının en önemli etkenidir [9].

2.3. *Escherichia coli*

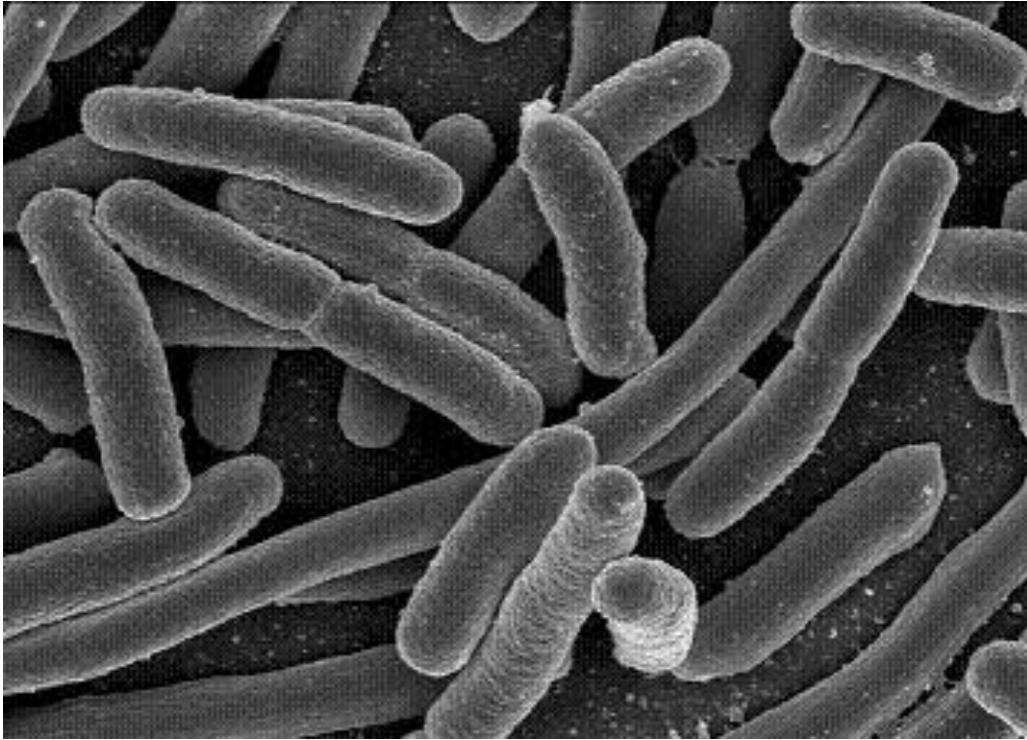
Enterobacteriaceae familyasında *Escherichia* genusu içinde yer alan *Escherichia coli*, insan ve hayvanların kalın bağırsağında yaşayan normal flora bakterisidir [16]. İnsan ve sıcakkanlı hayvanlarda doğumu takip eden 1-2 saat veya gün içinde su ve besinlerle alınarak ince bağırsakların son kısmı ve kalın bağırsak mukozasına tutunurlar. Bir *E. coli* suşu yerleştikten sonra aylarca veya yıllarca normal florada kalır ve zararlı mikroorganizmaların kolonizasyonuna engel olur. Ancak enterik infeksiyonlar ve antibiyotik kullanımı sebebiyle ortamdaki kaybolur [17]. Mikrobiyolojinin model objesi olmasından dolayı ayrıntılı olarak incelenmiştir [16].

E. coli, içme sularındaki, kullanma sularındaki ve besinlerdeki fekal kirlenmenin bir göstergesidir [16].

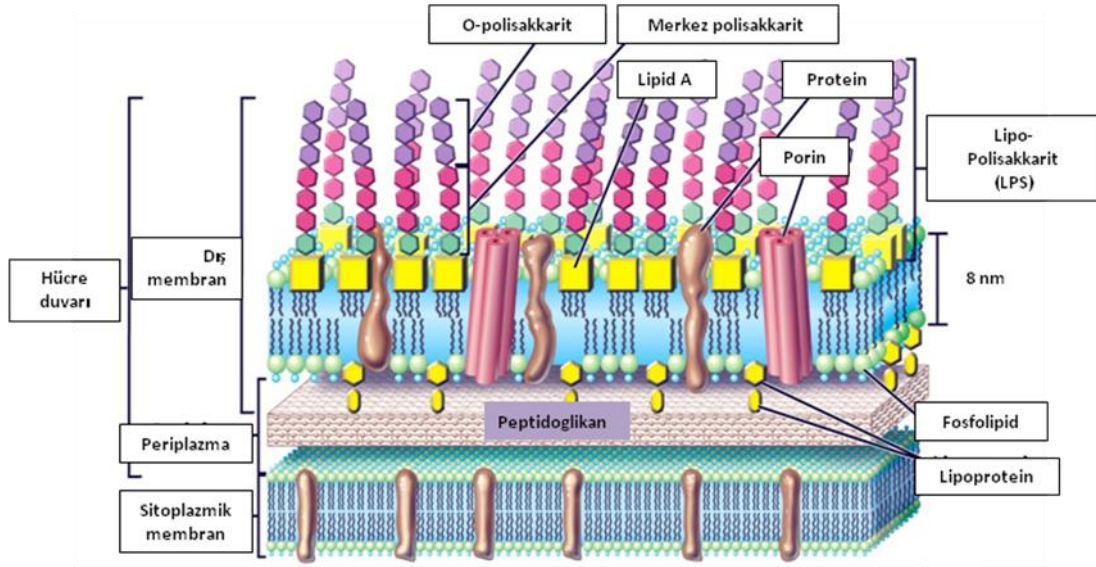
2.3.1. Morfoloji

E. coli yaklaşık 2-6 μm boyunda ve 1-1.5 μm eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa olabildiği gibi; bazı kültürlerde de normalden uzun, Y harfi biçiminde dallanan flamanlı şekilde olabilirler [16].

Kirpiklere sahip oldukları için hareketlidirler ancak yavaş hareket ederler. Hatta hareketsiz bile görünebilirler. Etraflarında kapsül maddeleri bulunur, organizmada bağırsak dışındaki yerlerde çoğunda kapsül veya mikrokapsül bulunur. Bakteriolojik boyalarla kolay boyanırlar, gram negatiftirler [16].



Şekil 2.3. *Escherichia coli* genel görünüm [18]



Şekil 2.4. *Escherichia coli* hücre duvarı [18]

2.3.2. Üreme ve biyokimyasal özellikleri

Basit besiyerinde 18 saatte 3-4 mm çapında S tipi, kapsüllü olanlar M tipi (mukoid) koloniler meydana getirirler [8]. Bu yayında homojen bulanıklık yaparlar. *E. coli*'nin optimal üreme sıcaklığı 37 °C'dir. 15-45 °C'de üreyebilirler özellikle 44 °C'de üreyebilmeleri ile benzer bazı bakterilerden (*Enterobacter* ve *Serratia*) ayırt edilirler. Ortalama pH 7.2'de ürerler [10]. Koyun kanlı agarda triptofandan indolu metabolize etmelerinden kaynaklanan ayırt edici bir koku oluşturur [9].

E. coli laktozu fermente etme özelliği ile *Shigella* ve *Salmonella* gibi barsak patojenlerinden ayırt edilir [15]. Bu sebeple *E. coli*'nin dışkıda bulunan laktoz olumsuz bakterilerden ayırt edilebilmesi amacıyla içinde laktoz ve bir ayıraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. Bu amaçla kullanılan EMB (Eozin Metilen Blue) besiyeri laktoz ve eozin metilen mavisi içerir. *E. coli* bakterilerinin bu besiyerindeki laktozu parçalayıp asit oluşturmaları nedeniyle koloniler mavi siyah parlaktır, laktoz parçalayamayan bakterilerin kolonileri ise renksizdir. MacConkey jelozu ve SS agar (*Salmonella Shigella* agar) vb. gibi besiyerlerinde de koli basilleri kırmızı koloniler meydana getirirler. Bazı koli kökenleri laktozu geç parçalarken (48 saat sonra), pek nadir bazı kökenler ise hiç etki etmezler [16].

Koli basilleri glikoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz sorbitol, trehaloz ve gliserolu asit ve gaz yaparak parçalarlar. Sükroz, salisin dulsitol ve rafinoz üzerine etkileri değişkendir. Adonitol, inozitol ve sellobiozu nadiren fermente ederler, nişastadan ise gaz oluşturmazlar [16].

E. coli bakterileri triptofandan indol oluştururlar. Metil kırmızısı testi olumlu iken Voges Proskauer testi olumsuzdur. Simon'un sitratlı besiyerinde üremezler. Bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar. Sisteinli besiyerlerinde bazı kökenler hariç az miktarda H₂S yaptıkları saptanmıştır [16].

2.3.3. Fiziksel ve kimyasal faktörlere direnç

E. coli 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak şartı ile uzun süre canlı kalabilen oldukça dirençli bir bakteridir. Soęuęa dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Malaşit yeşili, brillant yeşili ve fuksin gibi boyalar, safra, safra tuzları, sodyum tetrasyonat, bizmut sitrat, soydum sülfat, sodyum deoksikolat, selenit tuzlarına karşı dirençleri *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilere göre daha azdır. Bu yüzden belli konsantrasyonlarda bu maddelerden besiyerlerine konularak *E. coli* basili inhibe edilir böylece besiyerleri *Salmonella* ve *Shigella* için ayırt edici ve çoğaltıcı özellik kazanır. *E. coli*'nin %7 NaCl içeren besiyerinde üremesi engellendiğinden bu tür besiyerleri dışkıdan stafilokok izolasyonunda kullanılır [16].

E. coli kökenlerinin çoğunda bakteriden bakteriye kolayca geçebilen bulaşıcı direnç plazmitleri bulunur. Dışkıdan izole edilen *E. coli* bakterilerinin bir kısmı özellikle hastane ortamlarından izole edilenlerin önemli bir kısmı sahip oldukları direnç plazmitleri ile ampicillin, cephalothin, streptomycin, tetracyclin, sulfonamid, bir kısmı da chloramphenicol, kanamycin ve trimetoprim'e ve başka kemoterapötiklere karşı direnç kazanmışlardır [16].

2.3.4. Virülans faktörleri

E. coli'nin çeşitli konaklarda değişik dokuları enfekte edebilmek için çok sayıda virülans faktörleri vardır. Bunlar yapısal faktörler, enzimler, hücre dışına salgılanan toksinler gibi ürünlerdir [16].

Antijenik ve fonksiyonel olmak üzere iki farklı özellik gösteren fimbriyaları, konak hücrelerine tutunmalarını sağlar. Tutunma özelliğine göre infeksiyon yaptığı anatomik bölge farklılık gösterir (P fimbriyalı bakteriler idrar yolu infeksiyonu, S fimbriyalı olanlar yeni doğan sepsis ve menenjit). Kolonizasyon faktörleri ise antijenik özelliğe sahip, gastroenteritten sorumlu virülans faktörleridir. Bazı suşlar hemolizin salgılar. Alfa hemolizin bağırsak dışı organlarda infeksiyonlara yol açar [8].

E. coli toksinleri arasında enterotoksigen *Escherichia coli* (ETEC) suşları tarafından salgılanan ısıya duyarlı LT ve ısıya direçli ST olmak üzere iki tip ekzotoksin vardır. Ayrıca enterohemorajik *Escherichia coli* tarafından salgılanan sitotoksik etki yapabilen verotoksin bulunmaktadır [16].

Virülans faktörleri arasında bakterinin sahip olduğu O, H ve K antijenleri de bulunur. O antijenleri somatik, ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapısında antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksızdır. *E. coli* O antijenleri ile *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter* ve *Providencia* O antijenleri arasında çapraz reaksiyonlar meydana gelir. Hareketli kökenlerde bulunan koli kirpik antijenleri (H antijenleri) ise protein yapısında olup termolabildir. 100 °C ısıtmakla, alkol ve proteolitik fermentlerle bozulurlar, formole dayanıklıdırlar. Ne birbirleri ile ne de diğer bakterilerin H antijenleri ile çapraz reaksiyon vermezler. Polisakkarit yapısında olan kapsül antijenleri (K antijenleri) ise ısıya dayanıklıdır ancak 100 °C ve bazen 120 °C'de bir iki saat kaynatmakla ortadan kaldırılabilirler. Koli basilleri serolojik olarak O antijenlerine göre gruplara, H ve K antijenleriyle de serovarlara ayrılırlar [10].

2.3.5. *Escherichia coli*'nin neden olduğu hastalıklar

E. coli memeli ve kuşlarda normal bağırsak florasında bulunur. Diğer flora bakterileri ve organizma ile birlikte denge içinde bulunduğu sürece hastalığa neden olmaz. Normal koşullarda kokuşma (putrefaksiyon) – mayalaşma (fermantasyon) dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı hususlarda yardımcı olarak rol oynar. Ancak belirli koşullar altında insan ve hayvan için patojen hale gelir. Yangı veya sürgün şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına yol açar [10]. Bağırsak patojeni olarak adlandırılan serotipleri gruplara ayrılır. Bunlardan Enterotoksijenik *E. coli* yalnız insanda bulunur ve gastroenterite neden olur. Gelişmemiş ülke çocuklarında ve başka ülkelere seyahat edenlerde diyareye neden olur. Entero hemorajik *E. coli* ise salgıladığı verotoksin ile kanlı diyare etkenidir. Diğer serotipler arasında besin kaynaklı diyare etkeni Enteroinvaziv *E. coli*, yenidoğanlarda diyareye neden olan Enteropatojenik *E. coli*, ayrıca Enteroaggregatif *E. coli* ve diffüz aderans gösteren *E. coli* bulunmaktadır [8].

E. coli bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşerek de çeşitli klinik tablolara neden olur. Yeni doğanlarda, yaşlılarda, terminal dönemdeki hastalıklarda, immünsüpresyon durumlarında vena ve üretra katerizasyonlarından sonra koliform bakterilerin doku ve kana yayılabilmesi için gerekli koşullar oluşur [10].

E. coli infeksiyonlarının en yaygın görülenleri üropatojenik suşlarla oluşan idrar yolu infeksiyonları ve enteropatojenik suşlarla oluşan ishallerdir. Ayrıca kolesistit, kolanjit, peritonit, perineal abseler, yeni doğan septisemisi ve menenjitleri ve daha seyrek olarak sinüzit, otit, endokardit, flebit, apandisit, yara infeksiyonları gibi hastalıklara neden olur [16]. İdrar yolu infeksiyonlarının ve gram negatif sepsisin en sık rastlanan etkenidir [15].

BÖLÜM 3. BAKTERİYEL DEZENFEKSİYON VE KORUNMA

3.1. Giriş

Antimikrobiyaller mikroorganizmaları öldüren veya gelişimini inhibe eden kimyasal etken maddelerdir. Böyle bir madde, sentetik bir kimyasal veya doğal bir ürün olabilmektedir [19]. Mikroorganizmaların belirli antimikrobiyal maddelere duyarlılıkları değişiklik göstermektedir. Belirli ajanların mikroorganizmaları öldürme yeteneğini belirtmek için -sidal eki kullanılır. Bakteriyosidal, fungisidal ve virisidal ajanlar sırasıyla bakterileri, mantarları ve virüsleri öldürür. Mikroorganizmaların gelişimini durdurma yeteneğini belirtmek için ise -statik eki kullanılır. Bakteriyostatik, fungistatik ve viristatik ajanlar sırasıyla bakterilerin, mantarların ve virüslerin gelişimini inhibe eder [13]. Bakteriyostatik ve bakterisidal ajanlar arasındaki fark belirgin değildir, çünkü yüksek konsantrasyonlarda bakterisidal olan bir ajan düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik olabilir. Bakteriyostatik ajan etkili olabilmek için ortamda sürekli bulunmalıdır, eğer uzaklaştırılır veya aktivitesi nötralize edilirse, organizmalar şartların elverişli olması durumunda gelişim gösterirler [19].

Spesifik yüzeylerde bulunmaları nedeniyle problemlere neden olan mikroorganizmalar, fungal organizmalardan ziyade patojenik bakterilerdir. Bundan dolayı biyosid, bakterilere karşı oldukça aktif olmalıdır [4].

3.2. Dezenfeksiyon

Dezenfeksiyon bakteriyel endosporlar hariç patojenik mikroorganizmaların birçoğunun veya hepsinin cansız cisimlerden elimine edilmesi işlemidir. Dezenfeksiyon sterilizasyondan sporisidal özelliğinin olmaması yönünden farklıdır.

Dezenfektanlardan birkaçı sporlara uzun süre (6-8 saat) uygulanırsa onları öldürecektir, böyle dezenfektanlar kimyasal sterilizan olarak adlandırılır. Benzer konsantrasyonlarda fakat daha kısa süre (30 dakikadan az) muamele ile aynı dezenfektanlar birçok bakteri sporu dışında tüm mikroorganizmaları öldürebilir ve yüksek derecede dezenfektan olarak adlandırılırlar. Diğer dezenfektanlar (düşük derece) birçok vejetatif bakteri, bazı mantarlar ve bazı virüsleri elverişli bir zaman diliminde (10 dakikadan az) öldürebilir oysa orta dereceli dezenfektanlar, tüberkül basilini, vejetatif bakterileri, birçok virüsü ve mantarı öldürebilir. Germisitlerin kendi aralarında antimikrobiyal spektrumları ve etki hızları açısından önemli derecede farklı oldukları görülür [20].

Antisepsi deride veya canlı dokudaki mikroorganizmaların gelişiminin elimine veya inhibe edilmesi işlemidir [20]. Antisepsi işleminde kullanılan antiseptikler, insan dokularına karşı minimal toksisiteye sahiptir ve vücut yüzeylerine güvenli bir şekilde uygulanabilirler. Ancak yutulurlarsa toksik olabilirler [21].

Dezenfektan ve antisepsiyi etkileyen faktörler: [22]

a) Dezenfektan etkili kimyasal maddenin konsantrasyonu: Dezenfektan veya antiseptik etki, kimyasal madde konsantrasyonu artışıyla doğru orantılıdır. Bu sebeple birçok kimyasal düşük konsantrasyonda mikrobiyostatik etki, yüksek konsantrasyonda mikrobisid etki gösterir. Ancak belli bir konsantrasyondan sonra konsantrasyonun artması durumunda bile dezenfektan etkide bir değişme olmaz. Bu durumda her dezenfektan ve antiseptik en iyi etkiyi gösterdikleri optimal konsantrasyonda kullanılmalıdır.

b) Dezenfektanların etki süresi: Bir kimyasal maddenin mikroorganizmalar üzerinde etki gösterebilmesi için yeterli süreye gereksinim vardır. Bu süre kimyasal maddenin yapısına, ortamın nemine, ısıya, mikroorganizmaların cins ve sayısına bağlı olarak değişir.

c) Sıcaklık ve pH: Sıcaklığın yükselmesi ile dezenfektan maddenin içinde eritilmiş veya sulandırılmış olduğu sıvıdaki iyonizasyon miktarı arttığından dezenfektan etki de artar. Sıcaklığın artışı ile bu etkinin artması her dezenfektan ve etkilediği her mikroorganizma için belli bir katsayı oranında artış gösterir. Her dezenfektanın etkisini en iyi gösterdiği pH sahası vardır.

d) Ortamda bulunan ve mikroorganizmayı çevreleyen organik maddeler: Mikroorganizmaları çevreleyen dışkı, hücre atıkları gibi maddeler, mikroorganizma ve dezenfektan maddenin doğrudan temasını engellediklerinden ve kimyasal maddenin yapısını bozduklarından dolayı dezenfektanların etkilerinin azalmasına yol açarlar. Yüzey gerilimini azaltan maddelerin ortamdaki varlığı, dezenfektanın ıslatma ve yayılma yeteneğini arttırdığından mikroorganizmalarla daha kolay ve doğrudan ilişki kurmasını sağlar.

e) Mikroorganizmalara bağlı etmenler: Dezenfektanın etkisi mikroorganizmaların cinsine, türüne ve buldukları yaşam evresine göre değişiklik gösterir. Örneğin, vejetatif şekiller sporlara göre, logaritmik üreme dönemindeki mikroorganizmalar stasyonere üreme dönemindekilere göre daha duyarlıdır.

f) Mikroorganizma sayısı: Mikroorganizma sayısının fazla olduğu durumlarda temas süresi uzun olmalıdır. Aynı topluluk içinde dahi bütün mikroorganizmalar aynı dezenfektana karşı aynı derecede duyarlılık göstermezler, daha duyarlı bireyler olduğu gibi daha dirençli bireyler de bulunabilir.

Tablo 3.1. Yaygın olarak kullanılan bazı antimikrobiyal maddeler ve uygulama alanları [23]

Kimyasal ajan	Antiseptik veya dezenfektan	Uygulamaları
1.Halojenler		
Klor	Klor gazı Sodyum hipoklorit Kloraminler	Su arıtımı Deri antisepsisi Ekipman spreyleme Gıda işleme
İyot	Tendürdiyot İyodoforlar	Deri antisepsisi Ekipman spreyleme Gıda işleme Preoperatif hazırlama
2. Fenoller	Krezoller Bisfenoller Hekzaklorofen Hekzilrezorsinol	Genel koruyucular Sabun ile deri antisepsisi
3.Ağır metaller		
Civa	Civa klorür Merthiolate Metaphen	Deri antisepsisi Dezenfektanlar
Bakır	Bakır sülfat	Yüzme havuzlarında algisit Münisipal su rezervleri
Gümüş	Gümüş nitrat	Deri antisepsisi Yenidoğanda gözler
4.Alkol	% 70 etil alkol	Deri antisepsisi Dezenfektan
5.Alkilleyici ajanlar		
Formaldehit	Formaldehit gazı Formalin	Tahnit Aşı üretimi Gaz sterilizan
Etilen oksit	Etilen oksit gazı	Plastiklerin, aletlerin, ekipmanların, ısıya duyarlı eşyaların sterilizasyonu Cerrahi malzemelerin sterilizasyonu
Glutaraldehit	Glutaraldehit	Yara tedavisi
6.Hidrojen peroksit	Hidrojen peroksit	Endüstriyel sanitizasyon
7.Katyonik deterjanlar	Ticari deterjanlar	Deri antisepsisi Dezenfektan
8.Boyalar		
Trifenil-metan boyalar	Malaşit yeşili Kristal viyole	Yaralar Deri enfeksiyonu
Akridin boyalar	Acriflavine Proflavine	Deri enfeksiyonu
9.Asitler	Benzoik asit Salisilik asit Undecylinic acid Laktik ve propiyonik asit	Deri enfeksiyonu Gıda koruyucuları

Tablo 3.2. Bazı antiseptik ve dezenfektanların gram pozitif ve gram negatif bakteriler için MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu) değerleri [24]

Antimikrobiyal Madde	MİK ($\mu\text{g/ml}$)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Benzalkonyum klorid	0.5	50
Benzetonyum klorid	0.5	32
Setrimid	4	16
Klorhekzidin	0.5-1	1
Hekzaklorofen	0.5	12.5
Fenol	2000	2000
o-Fenilfenol	100	500
Propamidin izotiyonat	2	64
Dibromopropamidin izotiyonat	1	4
Triclosan	0.1	5

3.3. Antiseptik ve Dezenfektanların Etki Mekanizmaları

Antiseptik ve dezenfektanların mikroorganizmalar, özellikle bakteriler üzerindeki etki mekanizmasını araştırmak için bir dizi teknik bulunmaktadır. Bunlar arasında hücre içi bileşenlerin alımının, parçalanmasının ve sızıntısının incelenmesi, enzimlerin, elektron transportunun ve oksidatif fosforilasyonun inhibisyonunun, hücrel hemoostazisin bozulmasının, model membranlardaki etkilerin,

makromoleküller ile etkileşimin, makromoleküler biyosentetik süreç üzerindeki etkilerin araştırılması ve biyoside maruz kalmış hücrelerin mikroskopik incelenmesi yer almaktadır. Bu işlemlerin çoğu, antiseptik veya dezenfektan kombinasyonlarının meydana getirilmesi ve değerlendirilmesinde önem taşımaktadır [24].

Tablo 3.3. Antiseptik ve dezenfektan maddelerin etki mekanizmaları [24]

Hedef	Antiseptik/dezenfektan	Etki Şekli
Hücre duvarı, Dış membran	Gluteraldehid, EDTA ve diğer permeabilizerler	Proteinlerin çapraz bağlanması, gram negatif bakterilerde Mg^{2+} nakli ve LPS salınımı
Sitoplazma zarı	Kuarterner Amonyum Bileşikleri (KAB)	Fosfolipid tabakalarını içeren genel membran hasarı
	Klorhekzidin	Düşük konsantrasyonlarda hücre bütünlüğünün bozulması, yüksek konsantrasyonlarda sitoplazmada katılaşma
	Diaminler	Aminoasit sızıntısının indüklenmesi
	Polihekzametilen biguanid, Aleksidin	Membran lipidlerinin evre ayrışması ve domain formasyonu
Makromoleküllerin çapraz bağlanması	Fenol bileşikleri	Sızıntı
	Formaldehit	Proteinlerin, RNA ve DNA'nın çapraz bağlanması
Tiyol gruplarıyla etkileşim DNA	Gluteraldehit	Hücre duvarı, dış membran ve hücrenin herhangi bir yerindeki proteinlerin çapraz bağlanması
	Gümüş bileşikleri	Membrana bağlı enzimlerin etkilenmesi
	Halojenler	DNA sentezi inhibisyonu
Okside edici maddeler	Hidrojen peroksit, gümüş iyonları	DNA zinciri kırılması
	Halojenler	Tiyol gruplarının disulfidlere, sulfoksitlere veya disulfoksitlere oksidasyonu
	Peroksijenler	Hidrojen peroksit: enzim ve proteinlerdeki tiyol gruplarını oksidize eden serbest hidroksi radikallerin (-OH) oluşumuna bağlı aktivite

3.4. Antimikrobiyallerin Endüstriyel Uygulamaları

Kimyasal antimikrobiyal maddeler iki kategoriye ayrılır. İlk kategori endüstriyel ve ticari çevrelerce mikroorganizmaları kontrol etmek için kullanılan antimikrobiyal ürünlerdir. Bunlar, gıdalarda, havalandırma sisteminde, soğutma kulelerinde, tekstil ve kağıt ürünlerinde kullanılan kimyasalları içermektedir [13].

Tablo 3.4. Antimikrobiyal maddelerin endüstriyel kullanım alanları [13]

Endüstri	Kimyasallar	Kullanımı
Kağıt	Ağır metaller, fenoller, metilizotiyazolinon	Üretim sırasında mikrobiyal gelişimin önlenmesi
Deri	Ağır metaller, fenoller	Son üründeki mikrobiyal gelişimin önlenmesi
Plastik	Katyonik deterjanlar	Plastiklerin sulu dispersiyonunda bakteri gelişiminin önlenmesi
Tekstil	Ağır metaller, fenoller	Tente ve çadır gibi çevre şartlarına maruz kalan dokumaların mikrobiyal bozulmasının önlenmesi
Tahta	Metal tuzları, fenoller	Tahta yapıların bozulmasının önlenmesi
Metal	Katyonik deterjanlar	Sıvı çelik emülsiyonlarında bakteri gelişiminin önlenmesi
Petrol	Civa bileşikleri, fenoller, katyonik deterjanlar, metilizotiyazolinon	Petrol ve petrol ürünlerinin üretimi ve depolanması sırasında bakteri gelişiminin önlenmesi
Havalandırma sistemi	Klor, fenoller, metilizotiyazolinon	Soğutma kulelerinde bakteri (örneğin <i>Legionella</i>) gelişimini önlenmesi
Elektrik	Klor	Kondensatörlerde ve soğutma kulelerinde bakteri gelişiminin önlenmesi
Nükleer	Klor	Nükleer reaktörlerdeki radyasyon-dirençli bakteri gelişiminin önlenmesi

Kimyasal antimikrobiyal ajanların ikinci kategorisi ise çevrede ve dış vücut yüzeylerindeki patojenlerin gelişimini önlemek için tasarlanan ürünleri içerir. Bu kategori sterilizanlar, dezenfektanlar, sanitizerler ve antiseptikleri içerir [13].

3.5. Antibakteriyel Fenolik Maddeler

Fenol, kömür katranından elde edilen monohidroksi-benzendir. Joseph Lister tarafından 1867'de tanıtılan en eski antiseptiklerden biridir. Zayıf asidik özelliğinden dolayı fenol, karbolik asit olarak adlandırılır. Sodyum ve potasyum tuzları suda çözülebilir [25]. Yüksek konsantrasyonlarda hücre duvarını parçalayan ve hücre proteinlerini çökelten protoplazmik zehirdir, düşük konsantrasyonlarda enzim sistemlerini inaktive ederek ve hücre duvarından esansiyel metabolitlerin sızmasına neden olarak bakteri ölümüne yol açar [20]. Çok güçlü olmayan bakterisidal etkisine ilaveten kostik ve zayıf anestezi etkisi vardır [25].

Fenol pahalı, zehirli, deride nekroz yapabilen kokulu bir madde olduğundan artık kullanılmamaktadır, ancak bazı aşılarda % 0.5 oranında yer almaktadır [26]. Fenole çeşitli kimyasal köklerle eklenerek daha az toksik ve bazıları daha çok etkili türevleri (fenolikler) elde edilmiştir [27].

Çoğu fenolikler, bakterilere, mantarlara ve virüslere karşı aktivite gösterir. Genellikle fenolikler, gram pozitif bakterilere gram negatif bakterilerden daha etkilidir. Fenolikler sporostatiktir; sporosidal aktiviteyi ise az veya hiç göstermezler [28].

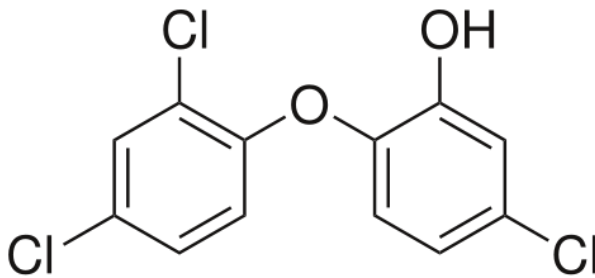
Fenolikler geniş spektrumlu, orta derecede dezenfektan olarak duvar ve zeminleri içeren yüzey dezenfeksiyonunda kullanılırlar. Antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra fenolik bileşikler, ağrı kesici ve herbisid olarak, ayrıca reçine ve sentetik fiberlerin üretiminde kullanılmaktadır. Suda çözünmediklerinden dolayı fenolikler, çözünürleştirme için sabunlarla, yağlarla veya sentetik anyonik deterjanlarla kombine edilmektedirler [28].

Krezoller, metilli fenollerdir [22]. Alkolde veya gliserinde çözünürler [25]. Güçlü germisidal aktivite ve düşük toksisite gibi özelliklere sahiptirler. Krezol en çok

sabunlu krezol halinde kullanılmaktadır. Sabunlu krezol güçlü mikroorganizma öldürücüdür, yerlerin, laboratuvarlarda cam malzemenin ve bazı hallerde ellerin dezenfeksiyonu için kullanılmaktadır [26]. Orto-, meta- ve para-krezol karışımları parmaklık babaları ve telefon direkleri için odun koruyucu olarak kullanılmaktadır [23]. Sudaki sübyemsi durumlarından dolayı krezoller, sıvıda asılı durumdaki mikroorganizmaların üzerine adsorplanır ve etkileri artar; ancak sıvıda asıntı halinde maddeler varsa etkileri azalır [26].

Fenolik bileşiklerden timol, vajinal deodorantlarda %1'lik konsantrasyonlarda [21], heksilresorsinol ise gargaralarda, topikal antiseptiklerde ve boğaz pastillerinde kullanılmaktadır [23]. Bir diğer fenolik bileşik rezorsinol, akne, egzema, sedef hastalığı, dermatit ve diğer cilt lezyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır [21].

İki fenol halkasının birleşmesi ile oluşan bisfenoller gram pozitif bakterilere karşı etki gösteren, fakat mantarlara ve mikobakterilere karşı az etki gösteren fenolik bileşiklerdir [27,28]. Bazı bisfenoller, özellikle triclosan, kalıcı antimikrobiyal aktivite sağlamak amacıyla kesme tahtaları ve diş fırçaları gibi yüzeylerde ve mefruşatlarda bulunan polimerlere başarılı bir şekilde katılmıştır [28].



Şekil 3.1. Triclosanın kimyasal yapısı

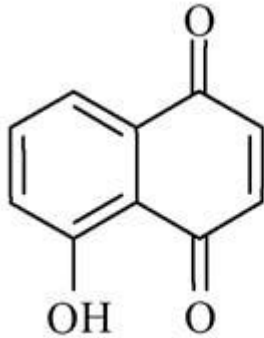
Güvenli profilinden dolayı triclosan (2,4,4'-trikloro-2'-hidroksidifenil eter) ayrıca deodorant sabunlar, koltuk altı deodorantları, duş jelleri gibi kişisel bakım ürünlerinde de kullanılmıştır [29]. Bakteriyel yağ asidi sentezini inhibe ederek etki gösteren triclosanın antibakteriyel etkisi geniş spektrumludur [30].

Hekzaklorofen, sabun ile kombine şekli oldukça etkili olan bir deri dezenfektanıdır. Hekzaklorofenin %3'lük çözeltisi 30 saniye içinde stafilokokları öldürür. Bu

özelliğinden dolayı fatal stafilokok infeksiyonlarını önlemek amacıyla yeni doğanları yıkamak için 1960 yıllarında kullanılmıştır [21]. Ayrıca heksaklorofen, 1950 ve 1960 yıllarında diş macunu, koltuk altı deodorantları ve banyo sabunlarında yaygın olarak kullanılmıştır. Nörotoksik olduğu tespit edildikten sonra 1971’de reçetesiz satılan ürünlerden çıkarılmıştır, günümüzde reçete ile temin etmek mümkündür [23].

3.5.1. 5-Hidroksi 1,4-naftokinon (juglan)

Fenolik bileşikler tüm bitkilerde bolca bulunan ikincil metabolitlerdir. Sentezleri birçok enzimin yer aldığı farklı metabolik yollara bağlıdır. Fenollerin önemli ve en iyi bilinen fonksiyonları bitkilerin savunma mekanizmalarındaki etkileridir. Cevizde naftokinonlar ve flavonoidler major fenolik bileşikler olarak kabul edilmektedir. Juglan, kimyasal reaktivitesinden dolayı naftokinonlar arasında ilgi çekmektedir [31].



Şekil 3.2. Juglanın kimyasal yapısı [32]

Cevizin sadece yeşil doku ve organlarında bulunan juglanın toksik etkileri olduğu bilinmektedir. Domates ve yonca gibi birçok bitkinin petiyolüne enjekte edildiğinde bu bitkilerin ölümüne yol açan juglan aynı zamanda tohum çimlenme inhibitörüdür [33].

Clark ve arkadaşları tarafından juglanın antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı çalışmada *Microsporium gypseum* ve *Trichophyton mentagrophytes* türleri kullanılarak juglanın MİK değerleri tespit edilmiş, diğer ticari antifungal ajanlar (clotrimazole, triacetin, tolnaftate, griseofulvin, zinc undecylenate, selenium sulfide) ve antifungal antibiyotikler (liriodenine ve liriodenine methiodide) ile

karşılaştırılmıştır. Juglanın MİK değerlerinin zinc undecylenate, selenium sulfide gibi ticari antifungal ajanlar kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus fumigatus* için juglanın MİK değerleri tespit edilmiştir. En düşük MİK değerinin *Saccharomyces cerevisiae* için 0.39 µg/ml olduğu, en yüksek MİK değerinin ise *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* türleri için 12.5 µg/ml olduğu belirlenmiştir [34].

Koyu turuncu-kahverengi boyama özelliğine sahip olmasından dolayı juglan gıda ve kozmetik endüstrisinde boyama ajanı olarak kullanılmaktadır [35].

3.6. Ağır Metal İçeren Antimikrobiyal Maddeler

Metaller genellikle ısıyı ve elektriği iyi ileten parlak yüzeyli elementlerdir. Antiseptik ve dezenfektan olarak kullanılan metaller sıklıkla ağır metallerdir. Ağır metaller terimi özgül ağırlığı 4 veya 5'ten büyük olan metalleri tanımlamak için kullanılmakla birlikte bu terim belirsizdir ve kesin kimyasal tanımlaması yoktur. Suda pozitif iyonlar (katyonlar) şeklinde bulunmaları metallerin antimikrobiyal ve toksik etkilerinin temelini oluşturur [28]. Ağır metallerin mikroorganizmalar üzerinde öldürücü ve üremelerini engelleyici tesir yapmasına oligodinamik etki denir. Ağır metaller, mikroorganizmaların enzimlerinin sülfidril (-SH) grupları ile birleşerek onların işlevlerini bozarlar [27]. Ağır metaller, mikrobiyosid veya mikrobiyostatik olmalarına rağmen, sporosidal değillerdir [23].

Birçok metal geçmişte biyosid olarak geleneksel kullanılmıştır, ancak biyoakümülyasyon ve toksisite kaygıları uygulamalarını sınırlandırmıştır. Örneğin, tek sıvı metal olan civa çeşitli formlarda (saf civa, organik bileşikleri, inorganik bileşikleri) antiseptik, dezenfektan ve koruyucu olarak kullanılmıştır [28]. Grekler ve Romalılar tarafından deri hastalıklarının tedavisinde civa klorür (süblime) formunda kullanılan civa, çok toksiktir ve diğer organik maddeler ile birleştiğinde antimikrobiyal aktivitesi düşer [23]. Organik civa bileşikleri küçük yaraların tedavisinde antiseptik olarak; serumlarda ve aşılarında ise koruyucu olarak etkilidir.

Organik civalar bakteriyostatiktir ve göreceli olarak toksik değildir. İlk organik civa antiseptik olarak tanıtılan mercurochrome (merbromin), sınırlı bakteriyostatik etkiye sahipken; metaphen ve merthiolate gibi organik civalar, mercurochrome'a kıyasla daha etkilidirler [21].

Bakır, bitkiler, hayvanlar ve diğer yaşam formları için az miktarda gereken esansiyel elementtir. Kendine özgü rengi (sarı-kahverengi) ile bakır, çeşitli formlarda ticari olarak mevcuttur. Elemental bakır, nadir olarak kullanılırken, bakır sülfat (CuSO_4) ve diğer bakır içeren bileşikler (bakır klorür, bakır-8-kinolinat, bakır naftalate ve bakır oksit) daha sık kullanılır. Bakır bileşikleri boyalarda, çimentoda, dokumalarda ve tahtada koruyucu olarak kullanılır. Yüzeylerde antimikrobiyal bariyer oluşturmak amacıyla bazı boyalarda yüksek konsantrasyonlarda kullanılabilir. Bakır düşük konsantrasyonlarda etkili bir su dezenfektanıdır [28]. Yüzme havuzlarında ve balık tanklarında bakır sülfat algisid olarak kullanılmaktadır [22]. Bakır sülfat ve kalsiyum hidroksit karışımı tarımsal uygulamalarda kullanılır. Bakır, uygun maliyetli, kullanımı kolay, normal konsantrasyonlarda kokusuzdur. Ancak yüksek konsantrasyonlarda toksiktir ve suda yaşayan canlılarda biyobirikimi olabilir [28].

3.6.1. Gümüş bileşikleri

Ağır metal iyonları arasında gümüş, yüksek antimikrobiyal aktivitesi ve dikkat çekecek derecedeki düşük insan toksisitesi ile en yararlısıdır [36]. Antimikrobiyal aktivitesinin ilk modern tanımı gümüş kaplarda *Aspergillus niger* yetiştiremediğini gözlemleyen Raulin tarafından 1869'da yapılmıştır [37].

Kolloidal gümüşün, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA) tarafından yara tedavisi için etkili olduğu 1920'lerde kabul edilmiştir. Bununla birlikte 1940'larda penisilinin tanıtımından sonra antibiyotikler, bakteriyel infeksiyonların standart tedavisi haline gelmiş ve gümüş kullanımı azalmıştır. Gümüşün, yanık tedavisinde tekrar kullanımı 1960'larda % 0.5 AgNO_3 solüsyonu formunda olmuştur. Gümüş sulfadiazin kremi üretmek amacıyla AgNO_3 , sulfonamid antibiyotiği ile 1968'de birleştirilmiştir. Çok yakın geçmişte klinisyenler tarafından, gümüşün değişken miktarlarda katıldığı yara bezlerine dönüş yapılmıştır,

çünkü antibiyotik rezistan bakterilerin ortaya çıkışı ve artışı antibiyotiklerin preskripsiyonunda klinik sınırlamalarla sonuçlanmıştır [38].

3.6.2. Gümüşün etki mekanizması

Gümüş katyonu (Ag^+), sülfür, oksijen veya azot içeren elektron verici gruplara güçlü olarak bağlanır. Biyolojik moleküller, genellikle bu komponentleri thio-, amino-, imidazol, karboksilat ve fosfat grupları formunda içerirler [36].

Bakterilerde gümüş iyonlarının proteinlerdeki nukleofilik amino asit rezidüleri ile reaksiyon verdiği ve membranın veya enzim proteinlerinin sülfidril, amino, imidazol, fosfat ve karboksil gruplarına bağlanarak protein denatürasyonuna yol açtığı bilinmektedir. Gümüşün ayrıca maya alkol dehidrogenaz gibi bir takım oksidatif enzimleri, membran vezikülleri tarafından süksinat alımını ve *E. coli* solunum zincirini inhibe ettiği, yanı sıra metabolit sızıntısına neden olduğu ve DNA replikasyonuna engel olduğu bilinmektedir. Gümüşün ayrıca hücre duvarı, sitoplazma, hücre zarfı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Chappell ve Greville tarafından düşük Ag^+ seviyelerinde bakteri membranlarındaki proton itici kuvvetin çöktüğü bildirilmiştir. Bu, Mitchell'in 1961 ve 1966'daki çalışmaları ile desteklenmiştir. Dibrov ve ark. tarafından düşük Ag^+ konsantrasyonlarının bakteriyel membrandan masif proton sızıntısına neden olduğu gösterilmiştir. Ag^+ ile bakteri ölümünün gerçekleşmesindeki en önemli mekanizmanın yüzeye bağlanma ve membran fonksiyonlarına hasar verme olduğuna dair fikir birliği bulunmaktadır [39].

Gümüş iyonlarının mikroorganizmalarda inhibisyon mekanizmasını araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada gram negatif *E. coli* ve gram pozitif *S. aureus* $AgNO_3$ ile muamele edilmiştir. Elektron mikroskopisi ve X-ray mikroanalizi sonuçlarına göre *E. coli* ve *S. aureus*'un her ikisinde benzer değişiklikler meydana geldiği saptanarak gümüş muamelesinden sonra DNA'nın replikasyon kabiliyetini kaybettiği ve proteinlerin inaktive olduğu ileri sürülmüştür [40].

3.6.3. Gümüşün antimikrobiyal aktivitesi

Stafilokoklara karşı gümüşün minimum inhibitör konsantrasyonları 0.5 mg-10 mg/L aralığında iken, minimum bakterisidal konsantrasyonları 2-20 mg/L aralığındadır. Genelde *Pseudomonas* ve gonokoklar gümüş iyonlarına stafilokoklardan daha duyarlıdır. Bu durum gram negatif bakterilerin ince murein duvara (2-3 nm) sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Gümüş iyonlarının mureine adsorbsiyon işlemleri ile bağlanması bakteriyostatik etkilere neden olur. Oysa daha yüksek Ag^+ konsantrasyonlarında gümüş-DNA-çelat kompleksleri ile bakterisidal etkiler başarılıdır [36].

3.7. Nano Gümüş

Malzemelerin partikül büyüklüğünü azaltmak, biyoyumluluklarını arttırmak için etkili ve güvenilir bir yoldur. Nitekim nanoteknoloji boyut kısıtlamalarını gidermeye yardım etmektedir. Bunun yanında nanomalzemeler, biyobilim ve tıp gibi farklı alanlardaki uygulamaların kolaylaştırılmasında daha iyi verim elde etmek için modifiye edilebilmektedir [41].

Nano ölçekli metal partiküllerin biyoaktivitesi ve moleküler problemler olarak kullanımı ilginin giderek arttığı araştırma alanları arasında yer almaktadır. Normal metal ile karşılaştırıldığında geniş yüzey alanına ve yüksek reaktiviteye sahip nano ölçekli metal partiküller dikkate değer fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler gösterir. Nano Ag 'nin biyosidal ajanların özel bir sınıfı olarak kullanımına giderek artan bir ilgi vardır [42].

Song ve ark. tarafından 10 nm'den daha küçük gümüş nanopartiküller üretilerek, bunların *S. typhi*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *M. tuberculosis* üzerinde mükemmel antimikrobiyal aktivitesi olduğu gösterilmiş, ayrıca antimikrobiyal mekanizmalar tespit edilmiştir. Bu mekanizmalar arasında gram negatif bakterilerde gözlemlenen plazmolizis, bakteriyel hücre duvarının bakteri sitoplazmasından ayrılması, *S. aureus*'ta bakteriyel hücre duvarı sentezinin inhibe edilmesi ve *M.*

tuberculosis sitoplazmasında bulunan nano gümüş partiküllerin metabolik bozukluğa neden olması bulunmaktadır [43].

Gümüş nanopartiküllerin düşük konsantrasyonlarda antimikrobiyal etki gösterdikleri, antibakteriyel özelliklerin nanopartiküllerin yüzey alanı ile ilişkili olduğu, partikül boyutunun küçülmesinin dolayısıyla yüzey alanının artmasının antibakteriyel aktivite için daha fazla etki sağladığı belirlenmiştir [44].

Farklı şekillerdeki gümüş nanopartiküllerin gram negatif bakteri *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada trunkat gümüş nanopartiküllerin, küresel ve çubuk şekilli gümüş nanopartiküllerden daha güçlü biyosidal aktivite gösterdiği belirlenerek gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisinin şekle bağlı olduğu ileri sürülmüştür [45].

Gümüş nanopartiküllerin gram negatif ve gram pozitif (metisilin resistan *S. aureus* dahil) bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktivitesinin nanopartiküllerin büyüklüğüne bağlı olduğu, 25 nm büyüklüğe sahip nanopartiküllerin oldukça yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdikleri ve 1.69 µg/ml konsantrasyonda bakteri hücrelerine toksik olduğu Panacek ve ark. tarafından belirlenmiştir [46].

Gong ve ark. tarafından hazırlanan süperparamagnetik ve antibakteriyel özellikli Fe₃O₄@Ag nanopartiküllerinin *E. coli*, *S. epidermidis* ve *Bacillus subtilis* üzerinde güçlü antibakteriyel aktivite gösterdikleri saptanmıştır. Ayrıca süperparamagnetizm özelliğine sahip olmasından dolayı Fe₃O₄@Ag nanopartiküllerin geri dönüşüm özelliğine sahip oldukları ileri sürülmüştür [47].

Nanomalzemelerin bol uygulama alanları olmasına rağmen, bu malzemelerin insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkileri konusunda ciddi bilgi eksikliği mevcuttur. Nanomalzemelerin risk takdiri için nanopartiküllerin toksisitesi hakkında sınırlı çalışmalar bulunmaktadır [48].

Sıçan karaciğer hücre çizgisinde, 24 saat değişik boyutlardaki gümüş nanopartiküllerine maruz bırakılan hücrelerde mitokondriyal fonksiyonların anlamlı

olarak azaldığı, LDH (Laktat dehidrogenaz) sızıntısının ise anlamlı olarak arttığı, hücrelerin anormal boyutlarda ve düzensiz şekillerde oldukları ve hücresel büzüşme gösterdikleri tespit edilmiştir [49]. Burd ve ark. tarafından yapılan gümüş nanopartiküllerin sitotoksisite çalışmasında beş ticari gümüş nanopartikül emdirilmiş yara örtüsünün üçünün keratinosit ve fibroblastlarda sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir [50]. Fare spermatogoniyal kök hücre çizgisinde yapılan sitotoksisite çalışmasında gümüş nanopartiküllerin hücreler üzerinde toksik etki gösterdiği saptanmıştır [48]. Nanopartiküllerin potansiyel yan etkileri çok az bilindiğinden marketlerde nanotıpla ilişkili ürünler tanıtılmadan önce detaylı çalışmalar gerçekleştirilmelidir [51].

Gümüş ürünlerinin tıp alanındaki en önemli uygulaması yanık, travmatik ve diyabetik yara infeksiyonlarını önlemek amacıyla biyosid olarak kullanılmasıdır. Son yıllarda yavaş salımlı gümüş bileşikler içeren bir dizi yara örtüsü tanıtılmıştır [52]. Gümüş kaplı veya gümüş emdirilmiş yara örtüleri ticari olarak mevcuttur. İp ve ark. tarafından ticari gümüş kaplı/emdirilmiş yara örtülerinin bakterisidal aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir [53].

Son yıllarda tanıtılan çeşitli gümüş esaslı örtüler, yara bakım ürünlerinde en son ve en büyük yenilik olmuştur. Bu örtülerden bazıları aşağıdaki listede verilmiştir: [54]

1. Acticoat-7, nanokristal (<20 nm çap) gümüş ile kaplanmış üç tabaka polietilen mesh ve iki tabaka suni ipek polyesterden meydana gelir.
2. Actisorb silver 220, gümüşün bağlandığı aktif kömür örtüdür ve bakterinin gümüş tarafından öldürüldüğü yer olan kömür komponentine bakteriyi adsorbe ederek çalışır.
3. Aquacel-Ag hydrofiber, emici örtüdür, gümüş iyonu su ile birleştiğinde karboksimetilselüloz taşıyıcısından ayrılır.
4. Arglaes, gümüş aşılınmış polimer filmidir, gümüş rezervi Ag/CaPO₄'tür.
5. Contreet-H, yoğun gümüşün hidrokolloide bağlandığı yoğun hidrokolloid örtüdür.
6. SilvaSorb, gümüş halojenür rezervli poliakrilat matrikstir.
7. Silverlon, otokatalitik kimyasal kaplama yapılarak metalik gümüş ile kaplanmış polimerik bezdir. Pazarın odağı üç boyutlu geniş yüzey alanına sahip, esnek bezdir.

Li ve ark. gümüş nitrat ve titanyum dioksit karışımından oluşan nanopartiküllerin ve nanopartikül kaplı yüz maskelerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını ve deride herhangi bir irritasyona neden olmadıklarını ileri sürmüştür [55]. Ayrıca katater ve vücut içi veya dışı implantların gümüş ile kaplanması gibi uygulamalar da bulunmaktadır [52].

Gümüşün klinik olmayan kullanımları arasında yavaş salınımlı nano gümüş kaplamalı bulaşık makineleri, çamaşır makineleri, buzdolapları ve klozetler yer almaktadır. Ayrıca gümüş kaplı evsel su filtreleri, salata içeriklerindeki virüs ve bakterileri öldürmek amacıyla kullanılan Ag-jelatin agregatı ve ayakkabılardaki kokuları engellemek için kullanılan ayakkabı spreyleri gibi uygulama alanları bulunmaktadır [52].

Fe_3O_4 bağlanmış Ag nanopartiküller su arıtımında kullanılabilir ve çevre kontaminasyonunu engellemek için magnetik alan kullanılarak kolaylıkla uzaklaştırılabilir [47].

Kore’de “Mipan Nano-Magic Silver” lifi adı altında üretilen yeni antibiyotik lif, polimerizasyon işlemi sırasında nanopartikül formunda ilave edilen gümüş metali içermektedir ve antibiyotik açıdan son derece iyi sonuçlar vermiştir [56].

BÖLÜM 4. ANTİBAKTERİYEL POLİMER KOMPOZİTLER

4.1. Biyobozunur Polimerler

Plastik atıkların ortadan kaldırılması büyük bir ekoteknolojik problemdir ve bu problem için çözüm yaklaşımlarından birisi biyobozunur plastikler geliştirmektir [57]. Son yıllarda, plastik atıkların ortadan kaldırılması problemine çözüm olarak sentetik polimerlerin biyodegradasyonuna olan ilgi artmıştır [58].

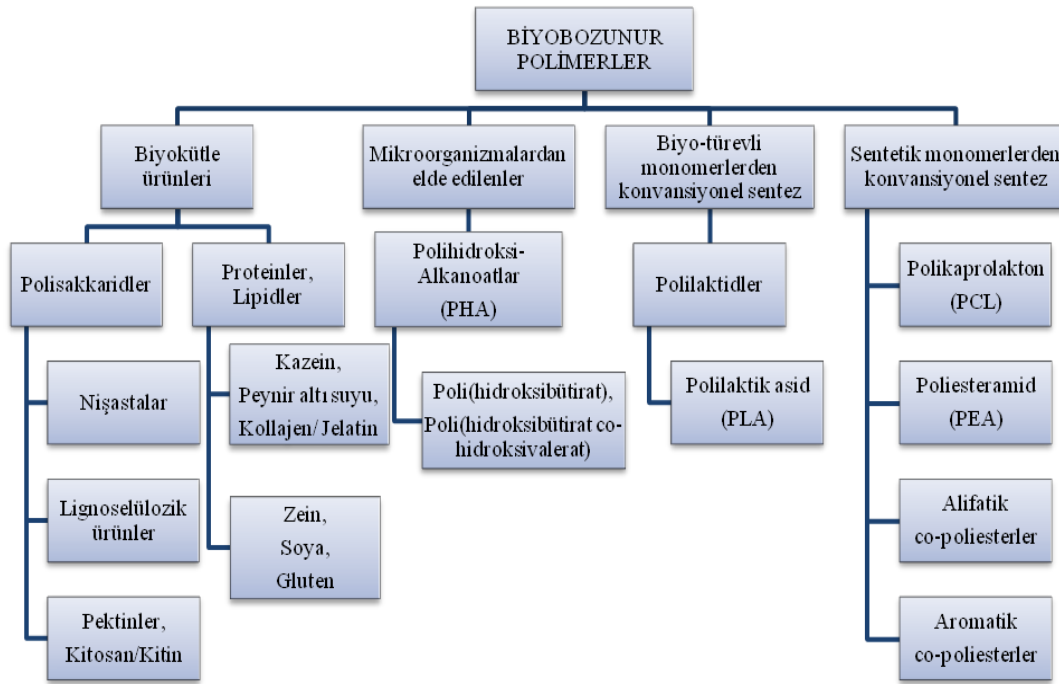
Biyolojik çevrede sentetik polimerlerin degradasyon hızını etkileyen faktörler, polimer yapının hidrofilitesi, ana zincirdeki fonksiyonel grupların varlığı ve moleküler ağırlığı, polimerin fiziksel ve morfolojik durumu, özellikle kristal veya amorf olup olmaması, kristalitenin formu ve derecesi, amorf fazın cam geçiş sıcaklığı ve çevre koşullarıdır (sıcaklık, pH, nem, oksijen avabilitesi gibi) [58].

Tıpta biyobozunur polimerlerin yapıştırıcı, geçici iskele, geçici bariyer ve ilaç taşıma matriksi gibi uygulama alanları vardır. En çok ilginin yöneltildiği geçici iskeleler arasında emilebilir (veya çözülebilir) dikiş ipliği bulunmaktadır. Dikiş ipliğine göre uygulanabilirliğinin az olmasına rağmen geçici bariyerler, tendon, spinal ve açık kalp cerrahisi alanlarında önemlidir [58].

Biyobozunur polimerler, diğer polimerlere göre insan vücudu tarafından azar azar absorbe edilmelerinden ötürü kronik yabancı cisim reaksiyonlarına neden olmamaları, biyodegradasyonlarının makrofajlar gibi immünolojik hücreler ile interaksyonundan dolayı bazılarının dokuları tamir etme yeteneklerinin bulunması gibi iki büyük avantaja sahiptirler. Bu yüzden biyobozunur materyallerden yapılan cerrahi implantlar, doku rejenerasyonu için geçici yapı iskelesi olarak kullanılabilir. Bu yaklaşım yaralı, hastalıklı ve yaşlı dokuların rekonstrüksiyonunda 21. yüzyılda en ümit verici alanlardan biridir [59].

Sentez işlemlerinin oluşumuna bağlı olarak biyobozunur polimerlerle ilgili farklı sınıflandırılmalar ileri sürülmüştür. Bu girişimlerden birinde biyobozunur polimerler dört farklı kategoriye ayrılmıştır: [60]

1. Biyokütleden elde edilen polimerler (tarım- kaynaklı polimerler gibi)
2. Mikrobiyal ürünlerden elde edilen polimerler (polihidroksialkanoatlar gibi)
3. Monomerleri tarım kaynaklı olan konvansiyonel olarak veya kimyasal olarak sentezlenen polimerler (polilaktik asit gibi)
4. Monomer veya polimerleri konvansiyonel olarak elde edilip kimyasal olarak sentezlenen polimerler



Şekil 4.1. Biyobozunur polimerler

4.2. Polikaprolakton (PCL)

Biyobozunur polimerlerden biri olan polikaprolakton (PCL) yüksek derecedeki kristallik ve hidrofobisite özelliğine sahip yarı kristal poliesterdir [61]. Düşük cam geçiş sıcaklığı (yaklaşık $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$) ve erime sıcaklığı (yaklaşık $60\text{ }^{\circ}\text{C}$) ile PCL, işlemlenebilen, yüksek dayanımlı ve uygun maliyetli biyobozunur polimer olarak oldukça fazla ilgi çekmiştir [62].

PCL ham petrolden kimyasal sentez yoluyla elde edilen biyobozunur termoplastik polimerdir. PCL üreticisi Solvay, monomerleri tek bir proses kullanarak hazırlar. İlk adımda yüksek dayanımlı sulu hidrojen peroksit ajanını ve asetik asidi perasetik asit üretmek için kullanır. Bu, ikinci adımda Bayer-Villiger reaksiyonu ile siklohekzanonu (cyclohexanone) kaprolaktona okside etmek için kullanılır. Polimer, poliester üretimi için kullanılan kondensasyon polimerizasyon reaksiyonu yerine halka açılması ve polimerizasyonu ile üretilir. Bu uzmanlaşmış Solvay prosesi kalıcı polimer üretimi için uygun olan oldukça reaktif ve saf kaprolakton monomeri oluşturur. PCL, su, yağ, çözücü ve klor direncine sahiptir. Düşük erime noktası ve viskozitesi ile PCL işlenmesi kolay bir polimerdir [57].

Degradasyon süresi çok kısadır. İsveç'te PCL çanta üretimi girişiminde bulunulmuş ancak çantalar müşteriye ulaşmadan degrade olmuştur [57]. Sanchez ve arkadaşları tarafından PCL biyodegradasyonunun termotoleran *Aspergillus* sp. tarafından 50 °C'de meydana geldiği ileri sürülmüştür. Malzemenin 6 gün sonra degrade ve asimile edildiği ve degradasyon ürünlerinin süksinik, bütirik, valerik ve kaproik asit olduğu belirlenmiştir [63].

Poli-L-laktik asit (PLLA) ve polikaprolakton (PCL) fiberinin karıştırılması ile hazırlanan biyoemilebilir ipliğin yorgunluk dayanımı paslanmaz çelik tellerden daha yüksektir, bu iplik kemiklerin sıkı bağlanması için kullanılmaktadır [64]. Petrol esaslı biyobozunur poliesterlerden biri olan PCL yaygın olarak Polivinil klorür (PVC) katı plastikleştirici olarak veya poliüretan uygulamalarında kullanılmaktadır. PCL biyobozunur karakteristiği ile ilaçların kontrollü salınımı ve paketlenme gibi uygulama alanlarında yer almaktadır [60]. PCL ayrıca termoplastik poliüretanda, yüzey kaplamada kullanılan reçinede, yapıştırıcılarda, sentetik deri ve kumaşlarda kullanılmaktadır [57].

Geniş çaplı in vitro ve in vivo testlerin ardından FDA tarafından PCL'nin bir takım medikal aletlerin ve ilaç salım cihazlarının üretiminde kullanılması onaylanmıştır [65]. İlacın biyobozunur çekirdek bünyesinde bulunduğu ilaç salım sistemi kontraseptif steroidler için uygundur. Capronor olarak bilinen ilaç salım cihazında kontraseptif steroid, levonorgestrel, PCL kapsül içinde bulunur. Bu cihaz sabit

oranlarda 1 yıl boyunca levonorgestrel salması ve 3 yıl içinde tamamıyla biyoaşınmaya uğraması amaçlanarak tasarlanmıştır [66].

Tablo 4.1. Bazı biyobozunur polimerlerin mekanik özellikleri [66]

Polimer	Moleküler ağırlık	Camsı geçiş sıcaklığı (°C)	Erime noktası (°C)	Çekme dayanımı (MPa)
Poli(glikolik asit)	50,000	35	210	–
Poli (laktik asit)				
L-PLA	50,000	54	170	28
L-PLA	100,000	58	159	50
L-PLA	300,000	59	178	48
D,L-PLA	20,000	50	-	-
D,L-PLA	107,000	51	-	29
Poli(β -hidroksibütirat)	422,000	1	171	36
Poli(ϵ -kaprolakton)	44,000	-62	57	16
Poli(SA-HDA anhidrid)	142,000	-	49	4
Poliiminokarbonatlar				
Poli(BPA iminokarbonat)	105,000	69	-	50
Poli(DTH iminokarbonat)	103,000	55	-	40

Son yıllarda PCL'nin doku mühendisliği uygulamalarında kullanımı dikkat çekmektedir. Görevini geçici bir süre yapması hedeflenen doku iskelelerinin üretiminde PCL, biyobozunur olması ve işleme kolaylığından dolayı tercih edilmektedir [67].

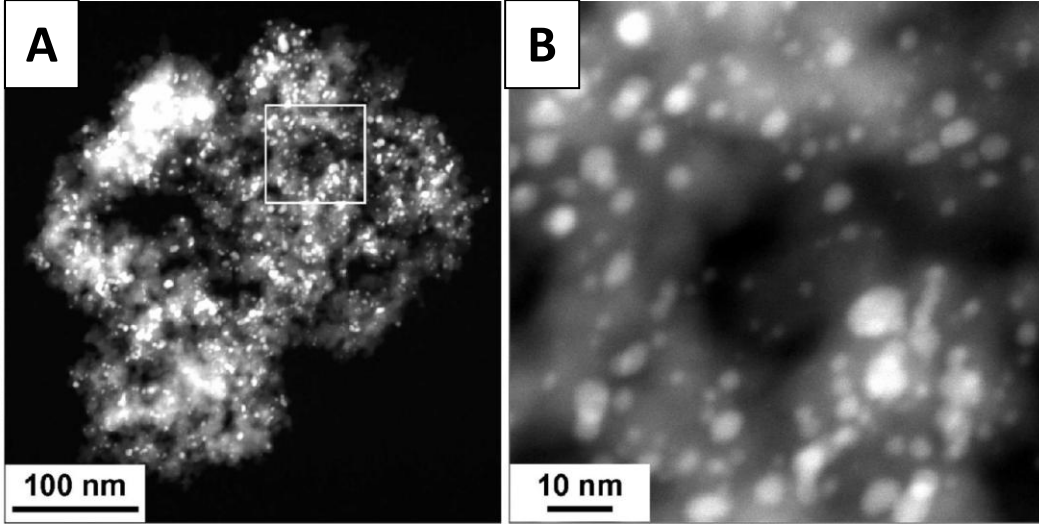
4.3. Polimer Kompozitler

Sentetik polimerlerin geliştirilmesi, minerallerin yüksek kaliteli dolgu maddelerine dönüştürülmesi, sentetik lifli güçlendirici maddelerin geliştirilmesi, dolgu maddelerini ve güçlendiricileri polimer matrisine bağlamak için bağlayıcı sistemlerin uygulanması ile yüksek performanslı polimer kompozitlerin geliştirilmesine katkı sağlanır. Ayrıca sentetik akışkanlaştırıcılar, antioksidanlar, ultra viole stabilizörler, antimikrobiyaller, alevlenme geciktiriciler, kimyasal üfleme ajanları ile polimer birçok uygulama için daha kusursuz bir hale getirilir [68].

İmplant cihazlar hastane infeksiyonlarında başlıca risk faktörleridir. Gümüş oksit veya gümüş alaşımı ile kaplanmış biyomalzemeler infeksiyonları azaltma girişimlerinde kullanılmıştır [69].

Son yıllarda yeni fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler gösteren inorganik nanopartiküllerin geliştirilmesi için büyük çaba harcanmaktadır. Bakteriler, virüsler ve mantarlara karşı gösterdiği güçlü antimikrobiyal aktivitesinden ötürü nano gümüş malzemenin potansiyel yararları olduğu birçok endüstri kolu tarafından bilinmektedir. Genellikle gümüş iyonlarının meydana getirdiği gümüş esaslı antimikrobiyal katkıları, seramik, cam veya zeolitten oluşan inert matrislere entegre edilir. Gümüş tuzları veya metalik gümüş esaslı diğer gümüş katkıları ise termoplastik polimerlere katılır [70].

Gümüş silika nanokompozit malzemenin antimikrobiyal aktivitesinin gümüş nitrat, ve gümüş zeolit gibi konvansiyonel malzemelerin aktivitesi ile karşılaştırıldığı bir çalışmada gümüş silika içeren polistren malzemenin güçlü antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu açıklanmıştır. Amorf silikon dioksit (SiO_2) matrisine saplanmış gümüş nanopartiküllerinden oluşan nanokompozitin taramalı geçirimli elektron mikroskobu Şekil 4.2’de görülmektedir. Çalışmada gümüş katkıların çeşitli bakteri ve mantarlar için MIC ve MBC (Minimum Bakterisidal Konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir. Örneğin, nanokompozit malzemenin *Escherichia coli* ATCC 2732 için MIC değerinin $62.5 \mu\text{g/ml}$, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 için $250 \mu\text{g/ml}$ olduğu; gümüş nitrat için MIC değerlerinin sırasıyla $7.8 \mu\text{g/ml}$ ve $25.6 \mu\text{g/ml}$; gümüş zeolit için ise MIC değerlerinin sırasıyla $3.9 \mu\text{g/ml}$ ve $15.6 \mu\text{g/ml}$ olduğu bildirilmiştir. Ayrıca nanokompozit malzemenin MBC değerlerinin *Escherichia coli* ATCC 2732 için $125 \mu\text{g/ml}$, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 için $1000 \mu\text{g/ml}$ olduğu; gümüş nitrat için MBC değerlerinin her iki bakteri için $15.6 \mu\text{g/ml}$; gümüş zeolit için ise MBC değerlerinin sırasıyla $15.6 \mu\text{g/ml}$ ve $125 \mu\text{g/ml}$ olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda gram pozitif bakteriler gümüşün antibakteriyel aktivitesine daha az duyarlı olarak tespit edilmiştir. Bu durumun, hücre duvarı yapısındaki farklılıktan kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür [70].



Şekil 4.2. (A) Gümüş silika nanokompozit malzemenin taramalı geçirimli elektron mikrografi, silika yapısı (gri), gümüş metal partiküller (parlak noktalar), (B) A panelinde kutu içine alınmış bölgenin daha fazla büyütülmüş hali [70]

Bitki patojeni mikroorganizmaların kontrolü için nano ölçekli silika-gümüşün etkinliğinin belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada gümüş tuzu, silika ve suda çözünür polimer karıştırılarak ve karışım radyoaktif ışınlarla maruz bırakılarak nano ölçekli silika-gümüş elde edilmiştir. Bu kompozisyonun bakteriler üzerinde düşük konsantrasyonlarda (örneğin 10 ppm, özellikle 3 ppm ve daha az) kontrol etkisi göstermediği oysa mantarlar üzerinde aynı konsantrasyonlarda güçlü kontrol etkisi gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca karışımın yüksek konsantrasyonlarda dahi bitkilerde kimyasal hasara neden olmadığı tespit edilmiştir. Nano ölçekli silika-gümüşün maliyetinin ticari fungusidlerden daha düşük olması sebebiyle bu karışımın, çevre dostu sürdürülebilir tarımda çeşitli fungal bitki hastalıklarını kontrol altında tutmak için oldukça kullanışlı olduğuna inanılmaktadır [71].

Triclosan içeren polimer kompozitlerde triclosanın, yüksek konsantrasyonlarda kullanılsa dahi uzun vadeli antibakteriyel etki gösteremeyebileceği, bunun nedeninin ise yüzeydeki triclosanın sıvı ortamda çözünmesi ve geri kalan triclosanın immobilize olarak polimer içinde kalması şeklinde açıklanabileceği ileri sürülmüştür [72].

Polimer kompozitlerde gümüş nitrat veya gümüş komplekslerinin kullanılması durumunda gümüş iyonlarının polimer yüzeyini terk ederek hızlıca sıvı fazda

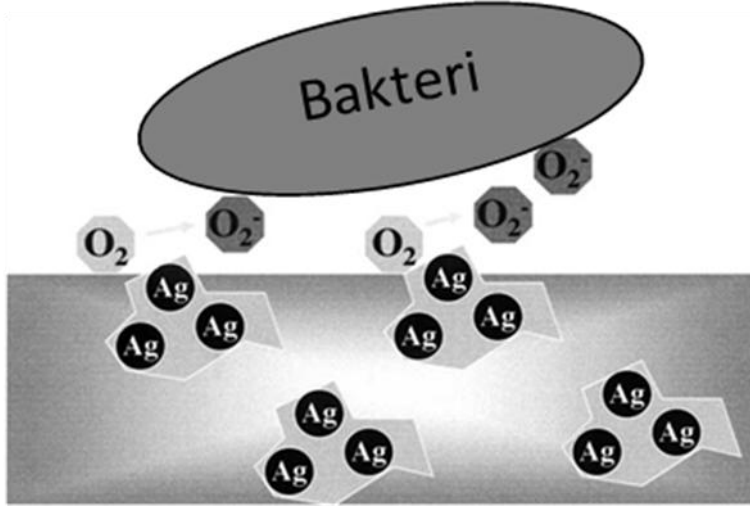
çözündüğü; bu yüzden bu tür kompozitlerin bakteriyel kontaminasyonlara karşı uzun dönemli uygulamalar için etki olmadığı ileri sürülmüştür. Buna karşılık gümüş nanopartiküllerin, çözünmez gümüş komplekslerinin ve gümüş yüklü zeolitlerin polimer içine eritip karıştırma işlemi için uygun oldukları, çünkü bunların hemen çözünmediği, partikül yüzeyinden yavaşça gümüş iyonu salınımı meydana geldiği ifade edilmiştir. Gümüş nanoçubukları ve triclosan katılmış polikaprolakton-silika kompozitlerinin kullanıldığı bir çalışmada, bu kompozitlerin antimikrobiyal etkileri karşılaştırılmıştır. Roll milling metodu kullanılarak hazırlanan % 0.15 gümüş nano çubuk içeren polikaprolakton-silika kompozit filmlerin ve % 0.25 triclosan içeren polikaprolakton-silika kompozit filmlerin antibakteriyel etkisinin ölçümü sonucunda triclosanın *E. coli*'ye karşı %70, *S. aureus*'a karşı %95 antibakteriyel aktivite gösterdiği; nano gümüşün ise *E. coli*'ye karşı %100, *S. aureus*'a karşı %94 antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir [73]. PCL'ye ilave edilen silika sayesinde kompozitin hidrofilik özellik gösterdiği, böylece yüzeyin ıslatılmasının mümkün olduğu, polimere su girişinin ve polimer içinde bulunan antimikrobiyal maddenin polimer yüzeyine oradan da ortama difüzyonunun gerçekleştiği öne sürülmüştür [74].

%5 gümüş destekli zirkonyum fosfat (Novaron) veya %7 gümüş destekli silika jel içeren dental reçine kompozitlerin antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada kompozitlerin *S. mutans* gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir [75]. Novaronun uygulama alanları Tablo 4.2'de sunulmuştur.

Tablo 4.2. Novaron (% 5 gümüş destekli zirkonyum fosfat) uygulama alanları [76]

Tekstil	Giyim (İç çamaşırı, Çorap, Yakalı gömlek, Bluz, Beyaz bornoz, Üniforma, İş elbisesi vs.), Çarşaf, Yorgan, Maske, Eldiven, Mayo, Kep, Mendil, Havlu, Bulaşık bezi, Perde, Halı
Günlük ihtiyaçlar	Mutfak Eşyası (Köşeli raf, Sünger, Fırça, Süzgeç, Doğrama tahtası vs.), Tuvalet eşyaları (Tarak, Saç fırçası, Diş fırçası vs.), Banyo eşyaları (Lavabo, Banyo küveti, Duş takımı vs.), Elbise askısı, Şemsiye, Yağmurluk, Çöp kutusu, Terlik
Deri eşya	Ayakkabı, Ayakkabı platformu, Eldiven, Kemer, Saat kemeri, Çanta, Sandalye, El bağlama askısı
Su arıtımı	Su tankı, Boru, Soğutma kulesi, Otomatik satış makinesi Boru tesisatı
Elektrikli ev aletleri	Klima filtresi, Soğutma fanı, Hava temizleyicisi, Nemlendirici, Kurutma makinesi, Çamaşır makinesi, Elektrikli süpürge, Bulaşık makinesi, Buzdolabı, Pirinç pişirme tenceresi, Şofben, Su arıtma cihazı, Kahve makinesi, Telefon, Cep telefonu, Faks makinesi, Bilgisayar, Televizyon, Video kayıt cihazı, Teyp kayıt cihazı, Video kamera, Kaset
Sporcu ürünleri	Spor aletleri, Spor giysileri, Eldiven, Ayakkabı (Golf, Kayak, Kar tahtası, Tenis vs.), Rüzgar kırıcı, Beysbol eldiveni
Oyuncaklar	Bebek, Peluş hayvanlar, Kağıt plastisin, Origami (Renkli katlama kağıtları), Lego, Yap-boz, Televizyon oyun makineleri
Medikal ürünler	Yatak, Alçı, Operasyon önlüğü, Sargı
Kozmetik ürünleri	Kozmetik şişeleri, Muhafaza kapları, Puf
Yapı elemanları	Duvar kağıdı, Tatami minderi, Mutfak tezgahı, Lavabo, Fayans,
İnşaat mühendisliği malzemeleri	Boya, Dolgu, Harç, Beton, Kum sandığı, Golf sahası kumu

Gümüş destekli zirkonyum fosfat veya silika jelin antibakteriyel etkisinin gümüş iyonunun salınımından kaynaklanmadığı, gümüşün katalitik etkisi ile meydana gelen oksijen aktivasyonu sonucu gerçekleştiği ileri sürülmektedir [77].



Şekil 4.3. Salınımsız gümüş destekli toz içeren kompozitlerin antibakteriyel etkisinin şematik diyagramı. Antibakteriyel etkiyi oluşturmak amacıyla kompozitlerdeki gümüşün katalitik aktivitesi ile aktif oksijen üretilir [77]

Antimikrobiyal katkı polimer kompozitler birçok alanda özellikle hastanelerde, biyoyumlu implantlarda, oyuncak endüstrisinde, gıda üretimi ve paketlenmesinde, medikal cihaz endüstrisinde, yapı elemanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzdeki sağlık problemlerinden birisi patojenik bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı gösterdiği dirençtir. Doğal ve inorganik maddeleri içeren yeni tip güvenilir ve uygun maliyetli biyosidal malzemelerin geliştirilmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada yaygın kullanım alanına sahip polikaprolaktonun fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla nano gümüş kaplı silika ve juglan katılarak hazırlanan kompozit fişlerin karakterizasyonunun yapılması, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısındaki antimikrobiyal aktivitelerinin ölçülmesi hedeflenmiştir. Ayrıca gümüş ile kaplanmış biyomembranların *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısındaki antimikrobiyal aktivitesinin ölçülmesi ve çinko juglan kompleksinin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 için MİK değerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 5. MATERYAL VE METOD

5.1. Materyal

Polikaprolakton (PCL, $M_n= 42500$, $M_w= 65000$) Aldrich'den temin edildi. Gümüş nitrat ($AgNO_3$, % 99.8) Carlo Erba'dan satın alındı. Silica gel 60 (40-63 μm , 230-400 mesh ASTM, Bet: 480-540 m^2/g , pore N_2 : 0.74-0.84 ml/g) ve Silika gel 60 G (Partikül boyutu: % 90 < 55 μm , \leq % 0.02 Fe, % 12-13.5 $CaSO_4 \cdot 0,5H_2O$) Merck'ten temin edildi. 5-Hidroksi 1,4-naftokinon (juglan, $C_{10}H_6O_3$, % 97) Aldrich'ten sağlandı. Okzalik asit ve amonyum fosfat Sigma-Aldrich'ten temin edildi. Bağırsak zarları aktardan satın alındı.

Çalışmada test mikroorganizmaları olarak kullanılan *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 Microbiologics'den temin edildi. Besiyerleri olarak kullanılan Triptik Soy Broth dehidre besiyeri Merck'den; Nutrient Agar dehidre besiyeri Acumedia'dan sağlandı. Kullanıma hazır halde alınan Koyun Kanlı Agar besiyeri Seçkin Medikal'den, Mueller Hinton Broth besiyeri Ceylan Medikal'den satın alındı.

5.2. Besiyerlerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan Nutrient Agar besiyerini hazırlamak için 23 gr Nutrient Agar (toz) üzerine distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Balon jodedeki besiyeri çözeltisi iyice karıştırıldıktan sonra jopenin ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak 121 °C'de, 1 atm. basınç altında 15 dakika boyunca steril edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 50 °C'ye kadar soğutuldu. Aseptik şartlarda steril petri kaplarına 4 mm (~20 ml) kalınlığında dökülerek katılaşması beklendi. Katılaşan besiyerleri kullanıma kadar +4 °C'de buzdolabında bekletildi.

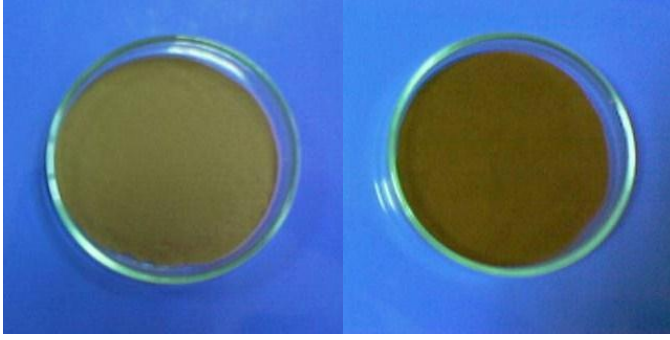
Triptik Soy Broth besiyerini hazırlamak için 30 gr Triptik Soy Broth (toz) üzerine distile su ilave edilerek 1000 ml'ye tamamlandı. Balon jojedeki besiyeri çözeltili iyice karıştırıldıktan sonra vida kapaklı kısa deney tüplerinin her birine 5 ml besiyeri aktarıldıktan sonra 121 °C'de, 1 atm. basınç altında 15 dakika boyunca steril edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyerlerinin kapakları sıkıca kapatıldı ve kullanılana kadar +4 °C'de buzdolabında bekletildi.

5.3. Bakteri Kültürünün Hazırlanması

Çalışmada test mikroorganizmaları olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 suşları kullanıldı. Mikroorganizmalar 24 saat 37±1 °C'de Triptik Soy Broth besiyerinde zenginleştirildikten sonra Koyun Kanlı Agara ekilerek 24 saat 37±1 °C'de inkübe edildi.

5.4. Nano Gümüş Kaplı Kalın Silika (Silika-1) Hazırlanışı

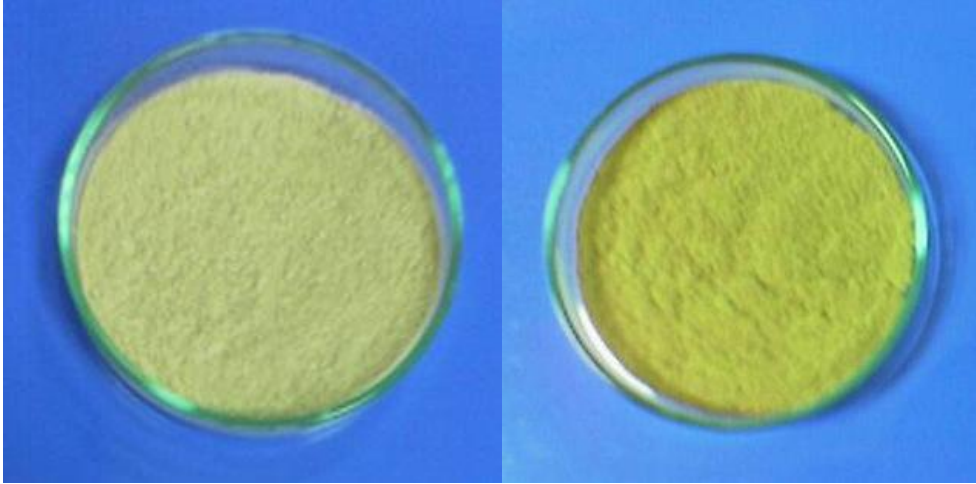
Hassas terazi ile tartılan 0.1698 gr AgNO₃ 5 ml saf suda çözüldü. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 90 ml aseton ilave edilerek magnetik karıştırıcıda (8 devirde) karıştırılmaya başlandı. Bu karışım üzerine 5 gr silika (Silica gel 60, 40-63 µm) eklendi. Ardından 5 ml PDMS ilave edildi. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirildi. Çözelti rengi koyu kahverengi olarak gözlendi. 10 dakikalık karıştırma işlemi sonunda çözeltide partiküllerin dibe çöktüğü üst kısmın ise berrak olduğu tespit edildi. Dibe çöken nano gümüş kaplı silika partiküllerini ayırabilmek için üst faz süzüldü. Partiküller 100 ml aseton ile 5 dakika boyunca karıştırılarak yıkandı. Yıkama işleminin ardından nano gümüş kaplı silika partikülleri kurutuldu. Nano gümüş kaplı silika partiküllerinin ağırlığı 5.6220 gr olarak tespit edildi. 2 gr nano gümüş kaplı silika partikülü tartılarak kapalı bir kaba konuldu. Ayrıca 2 gr nano gümüş kaplı silika partikülü etüvde (105 °C) 1 saat boyunca tutuldu. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin açık sarıdan daha koyu sarıya belirgin bir şekilde değiştiği gözlendi (Şekil 5.1). Analizler için hazırlanan partiküllerden numune alındı. Hazırlanan nano gümüş kaplı Silika-1 numunesinin gümüş içeriği AAS yöntemiyle % 0.3 olarak ölçülmüştür [78].



Şekil 5.1. Oda sıcaklığındaki nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin (solda) 105 °C'de 1 saat etüvde tutulduktan sonraki (sağda) renk değişimi

5.5. Nano Gümüş Kaplı İnce Silika (Silika-2) Hazırlanışı

Hassas terazi ile tartılan 0.1698 gr AgNO_3 5 ml saf suda çözüldü. Hazırlanan gümüş nitrat çözeltisi üzerine 90 ml aseton ilave edilerek magnetik karıştırıcıda (8 devirde) karıştırılmaya başlandı. Bu karışım üzerine 5 gr silika (Silika gel 60 G, Partikül boyutu: % 90 < 55 μm) eklendi. Ardından 5 ml PDMS ilave edildi. Bu işlemler 23 °C'de gerçekleştirildi. Çözelti rengi açık kahverengi olarak gözlemlendi. 10 dakikalık karıştırma işlemi sonunda çözeltide partiküllerin dibine çöktüğü üst kısmın ise berrak olduğu tespit edildi. Dibe çöken nano gümüş kaplı silika partiküllerini ayırabilmek için üst faz süzüldü. Partiküller 100 ml aseton ile 5 dakika boyunca karıştırılarak yıkandı. Yıkama işleminin ardından nano gümüş kaplı silika partikülleri kurutuldu. Nano gümüş kaplı silika partiküllerinin ağırlığı 5.5778 gr olarak tespit edildi. 2 gr partikül tartılarak kapalı bir kaba konuldu. Ayrıca 2 gr nano gümüş kaplı silika partikülü etüvde (105 °C) 1 saat boyunca tutuldu. Bu işlem sonucunda partiküllerin renginin belirgin bir şekilde değiştiği gözlemlendi (Şekil 5.2). Analizler için partiküllerden numune alındı. Hazırlanan nano gümüş kaplı Silika-1 numunesinin gümüş içeriği AAS yöntemiyle % 0.2 olarak ölçülmüştür [78].



Şekil 5.2. Oda sıcaklığındaki nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin (solda) 105 °C’de 1 saat etüvde tutulduktan sonraki (sağda) renk değişimi

5.6. Kompozit Filmlerin Hazırlanması

PCL kompozit filmler yaklaşık 100 °C’de eritilen polimer içerisine gerekli katkı maddelerinin karıştırılması ile hazırlanmıştır. Daha sonra erimiş haldeki polimer karışımı hadde (roll mill) kullanılarak ince filmler haline getirilmiştir [73,74,78]. Polimer kompozit ince filmlerin hazırlanmasında kullanılan haddenin fotoğrafı Şekil 5.3’te görülmektedir. Deneysel çalışmalarda kullanılan test numuneleri belirli boyutlarda (2 cm × 5 cm) kesilerek hazırlanmıştır.



Şekil 5.3. Çift silindirli hadde

5.7. Hazırlanan Kompozit Filmlerin Karakterizasyonu

Nano gümüş kaplı silika partiküllerinin analizinde optik mikroskop (Olympus IX81), FE-SEM alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (JEOL JSM-6335F) , HR-TEM yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (JEOL 2100) kullanılmıştır.

PCL-AgSiO₂ polimer kompozit filmlerin yüzeyi benzer şekilde optik mikroskop ve FE-SEM ile analiz edilmiştir. Hazırlanan toz ve film numunelerindeki gümüş oranları AAS yöntemi (SHIMADZU AA-6701F Atomic Absorption Flame Emission Spectrophotometer) ile ölçülmüştür.

5.8. Kompozit Filmlerin Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri

Hazırlanan kompozit filmlerin antibakteriyel aktivitelerinin ölçümünde literatürde kullanılan benzer yöntemler uygulandı. Kompozit film yüzeylerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısındaki antibakteriyel aktiviteleri ölçüldü. Yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla kompozit filmlerin her bir yüzü, 5 dakika boyunca UV (Philips Ultra Violet TUV 30W) ışığa maruz bırakılarak steril edildi.

Doğrudan temas (Contact plating) yönteminde 1×10^6 CFU/ml bakteri kompozit film üzerine spreylendi ($0.0031 \text{ gr} \cong 31 \mu\text{l} / 2 \times 5 \text{ cm}^2$). Film, spreyleneş yüzeyi altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37 ± 1 °C'deki inkübasyon sonunda meydana gelen koloniler sayıldı.

Doğrudan temas (Contact plating) yönteminde antibakteriyel etki aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplandı.

$$R = [(B-C)/B] \times 100$$

R: Antimikrobiyal etki (%)

B: Kontrol örnekteki bakteri sayısı (CFU/örnek)

C: Modifiye örnekteki bakteri sayısı (CFU/örnek)

BÖLÜM 6. DENEYSEL BULGULAR

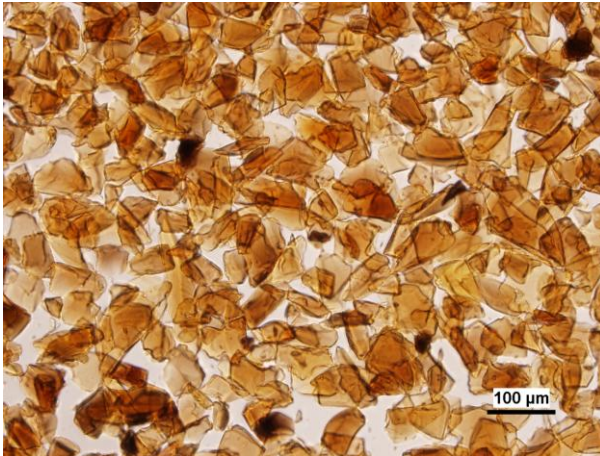
6.1. Nano Gümüş - Silika - Polikaprolakton Kompozitler

6.1.1. Nano gümüş kaplı kalın silika (silika-1)

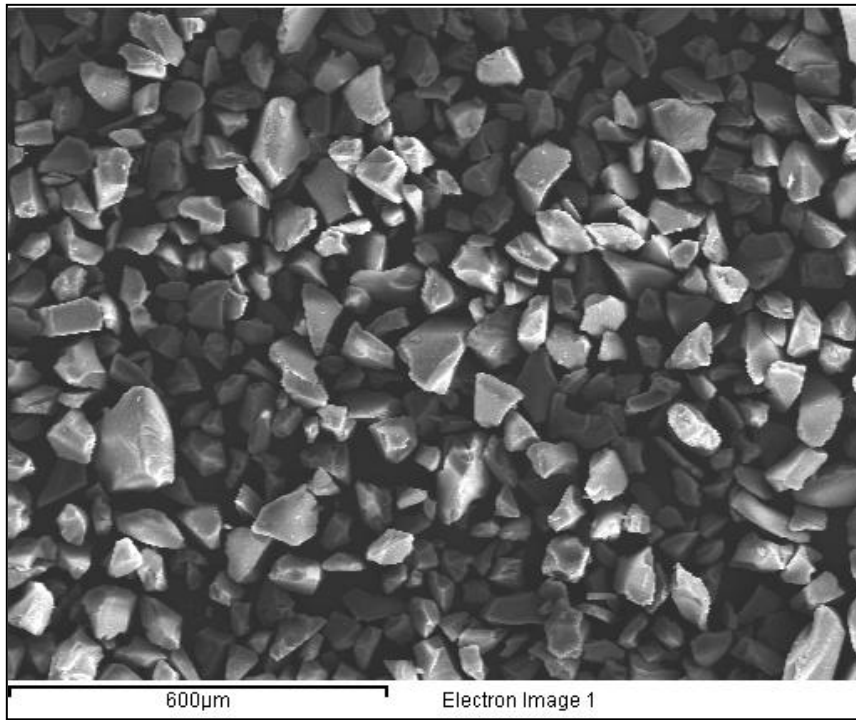
Çalışmada kullanılan Silika-1 partiküllerinin 40-60 μm boyutlarında olduğu (Şekil 6.1), nano gümüş ile kaplandıktan sonra Silika-1 partiküllerinde belirgin bir renk değişimi olduğu ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucu gözlemlendi (Şekil 6.2).



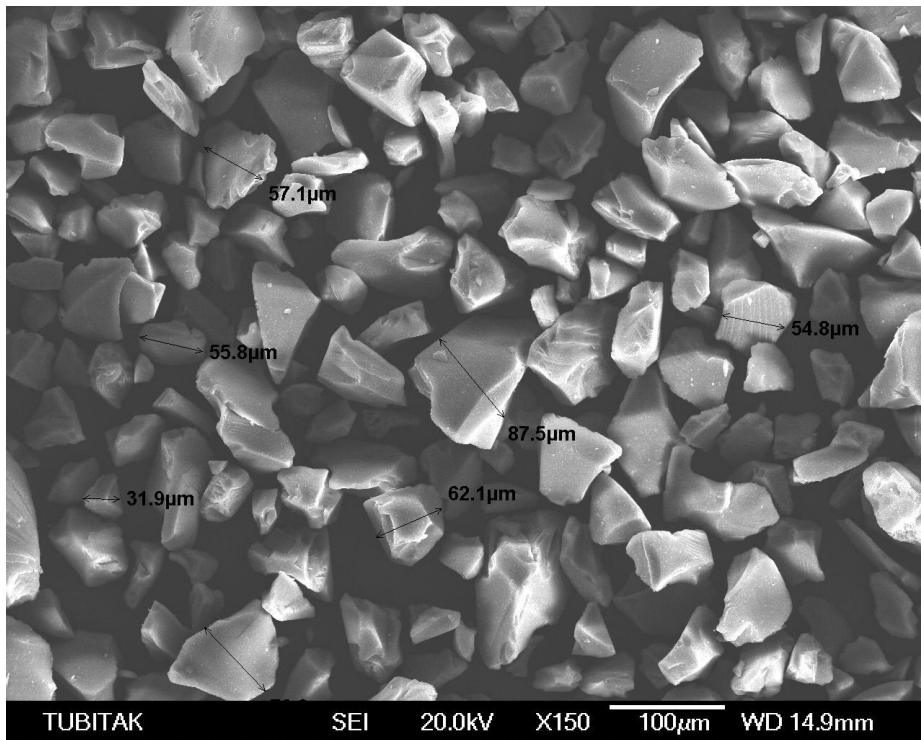
Şekil 6.1. Silika-1 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)



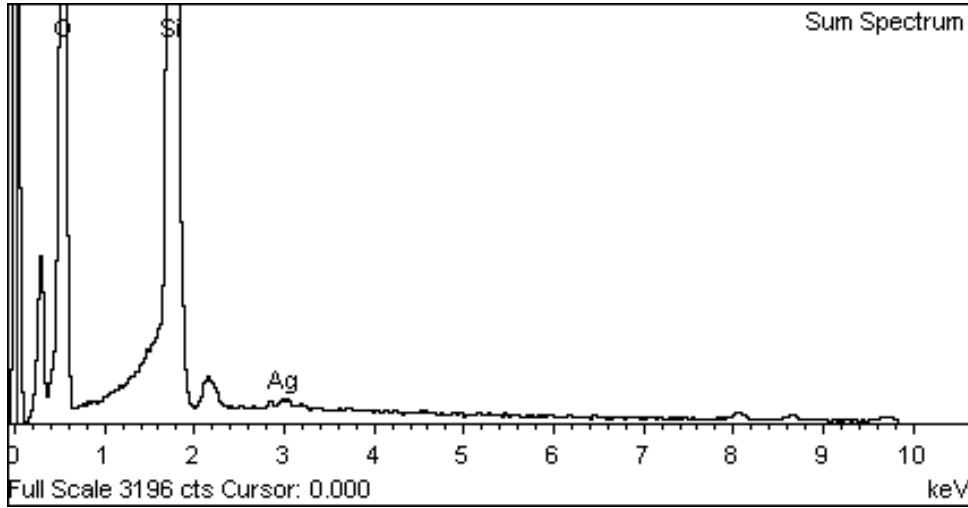
Şekil 6.2. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)



Şekil 6.3. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



Şekil 6.4. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



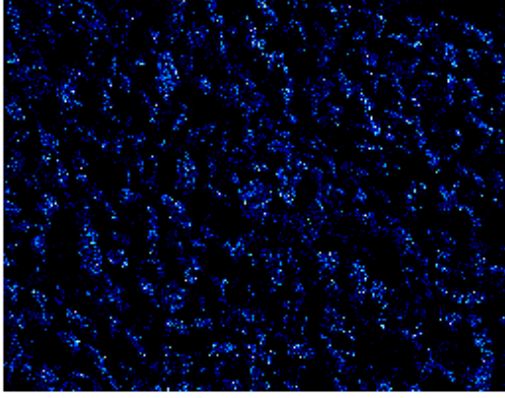
Şekil 6.5. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin SEM-EDX elementel analiz spektrumu

Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin SEM-EDX elementel analiz spektrumu Şekil 6.5'te görülmektedir. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinde yapılan SEM-EDS elementel analizi sonucunda ağırlıkça % 0.66 oranında gümüş olduğu belirlenmiştir (Tablo 6.1).

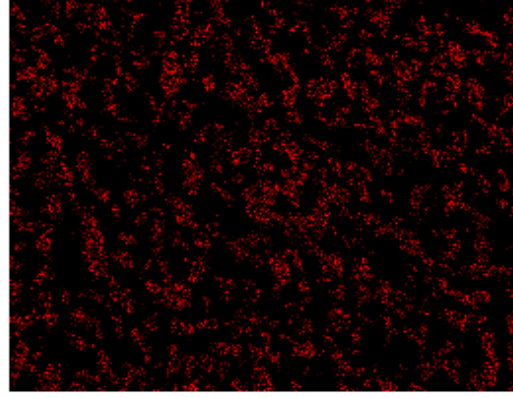
Tablo 6.1. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin SEM-EDS elementel analiz sonuçları

Element	Ağırlıkça %	Atomik %
O	57.40	70.52
Si	41.94	29.35
Ag	0.66	0.12
Toplam	100.00	

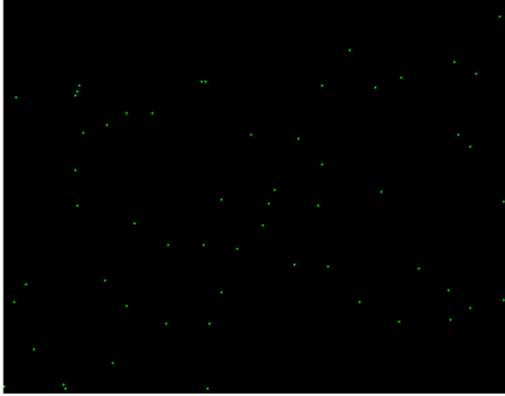
Silika-1 numunesi için yapılan elementel analiz ve haritalama sonucunda gümüşün oksijen ve silisyumun bulunduğu alanlarda homojen dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 6.6).



O Ka1



Si Ka1

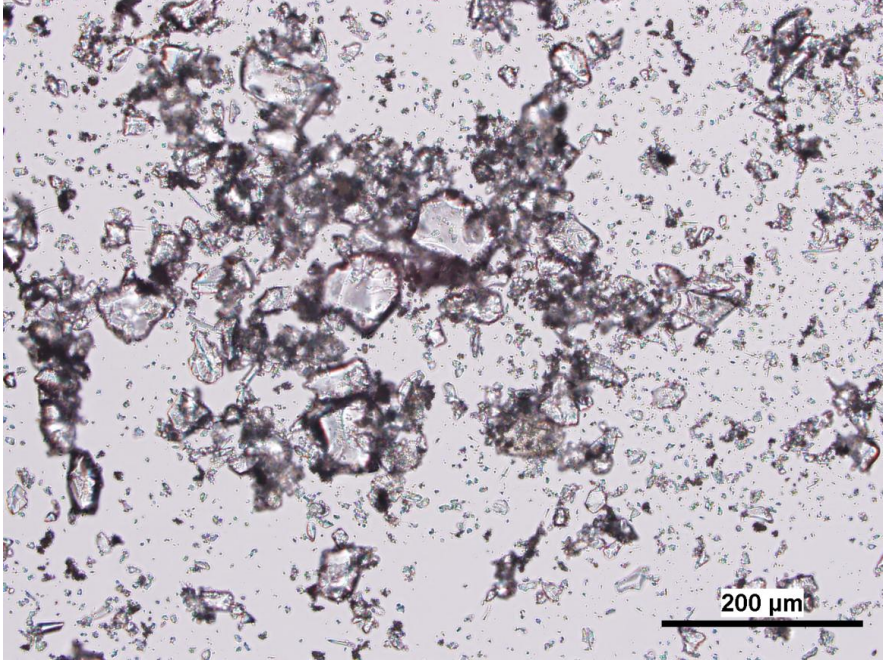


Ag La1

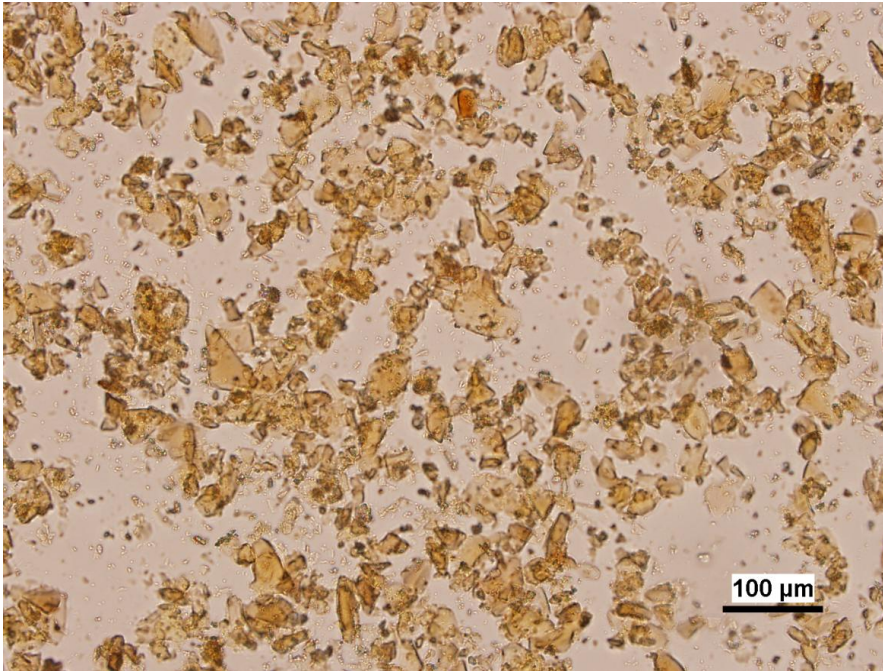
Şekil 6.6. Silika-1 numunesine ait elementel analiz ve haritalama sonuçları

6.1.2. Nano gümüş kaplı ince silika (silika-2)

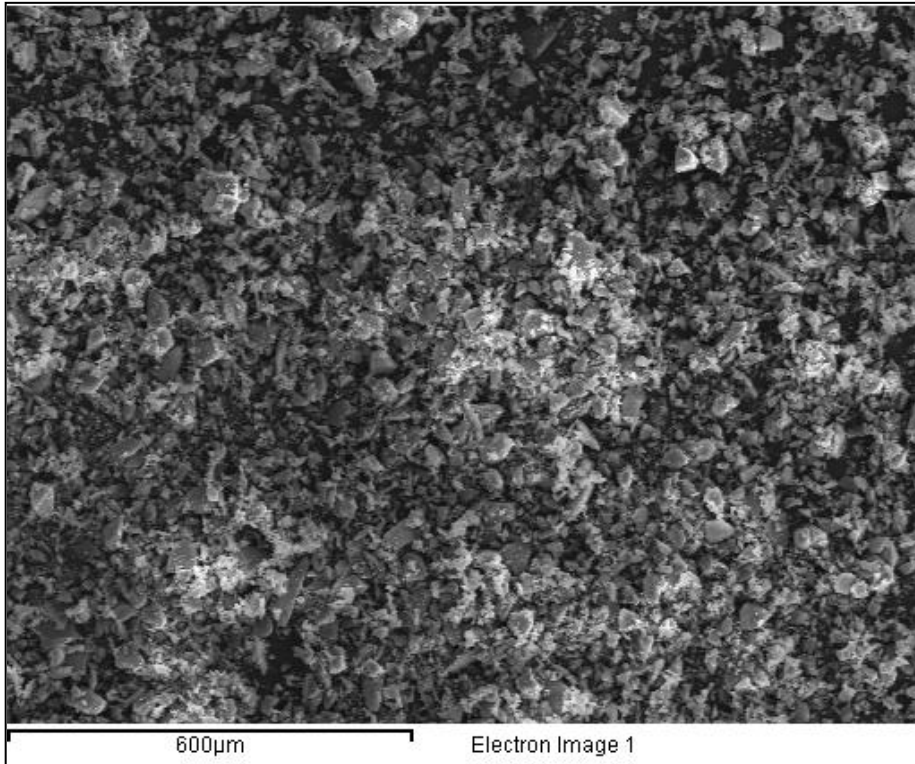
Çalışmada kullanılan Silika-2 partiküllerinin 55 μm 'den küçük olmak üzere farklı boyutlarda olduğu (Şekil 6.7), nano gümüş ile kaplandıktan sonra Silika-2 partiküllerinde belirgin bir renk değişimi olduğu gözlemlendi (Şekil 6.8).



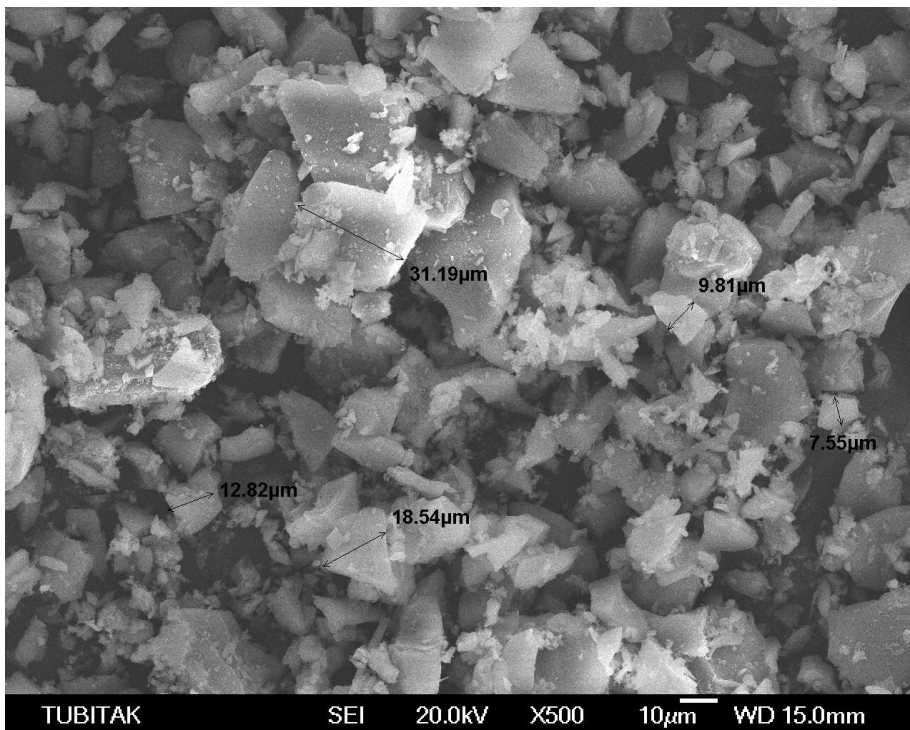
Şekil 6.7. Silika-2 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)



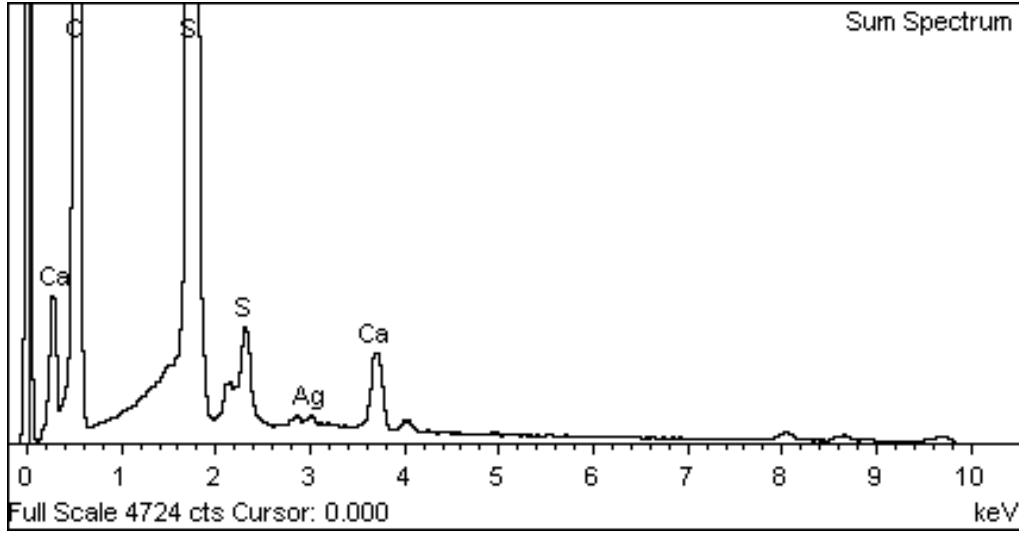
Şekil 6.8. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 20$)



Şekil 6.9. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



Şekil 6.10. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



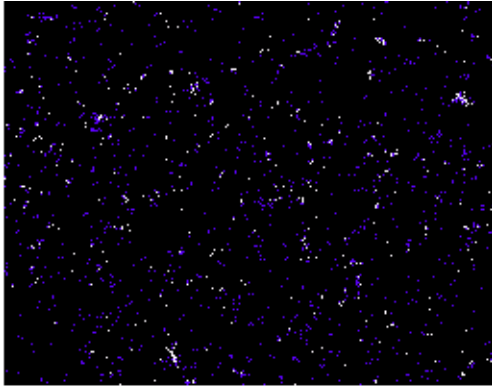
Şekil 6.11. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin SEM-EDX elementel analiz spektrumu

Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin SEM-EDX elementel analiz spektrumu Şekil 6.11’de görülmektedir. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinde yapılan SEM-EDS elementel analizi sonucunda ağırlıkça % 0.40 oranında gümüş olduğu belirlenmiştir (Tablo 6.2).

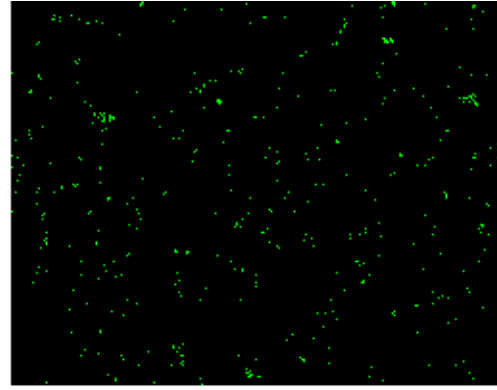
Tablo 6.2. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin SEM-EDS elementel analiz sonuçları

Element	Ağırlıkça %	Atomik %
O	56.75	70.48
Si	37.31	26.39
S	2.43	1.50
Ca	3.12	1.55
Ag	0.40	0.07
Toplam	100.00	

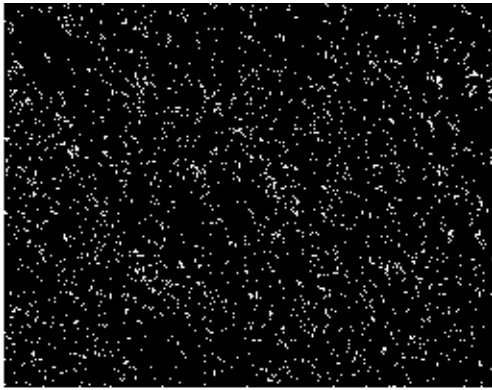
Silika-2 numunesi için yapılan elementel analiz ve haritalama sonucunda gümüşün oksijen ve silisyumun bulunduğu alanlarda homojen dağılım gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 6.12).



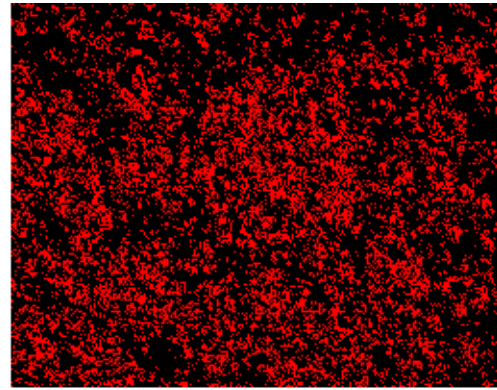
Ca Ka1



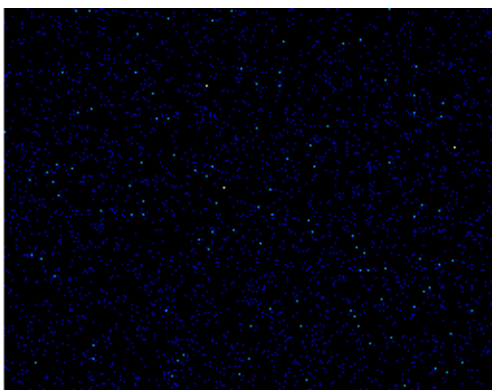
S Ka1



O Ka1



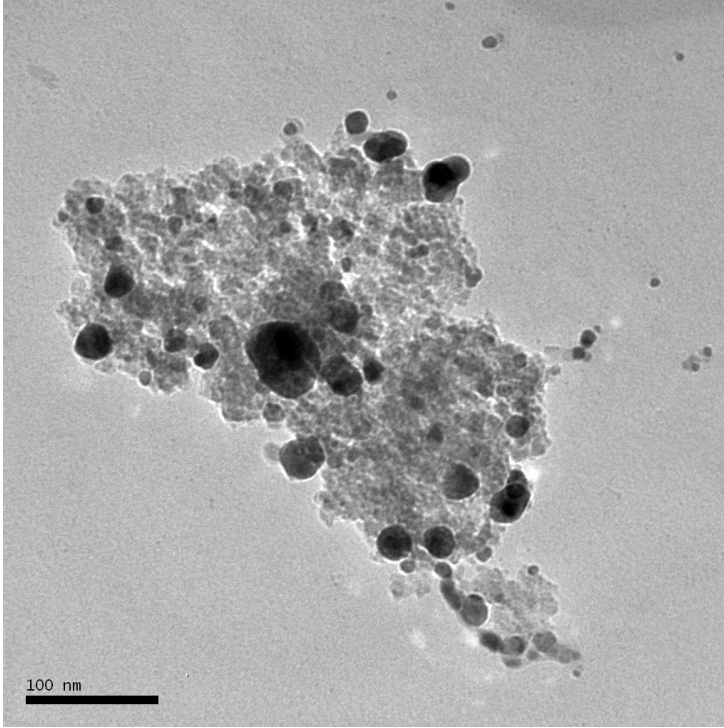
Si Ka1



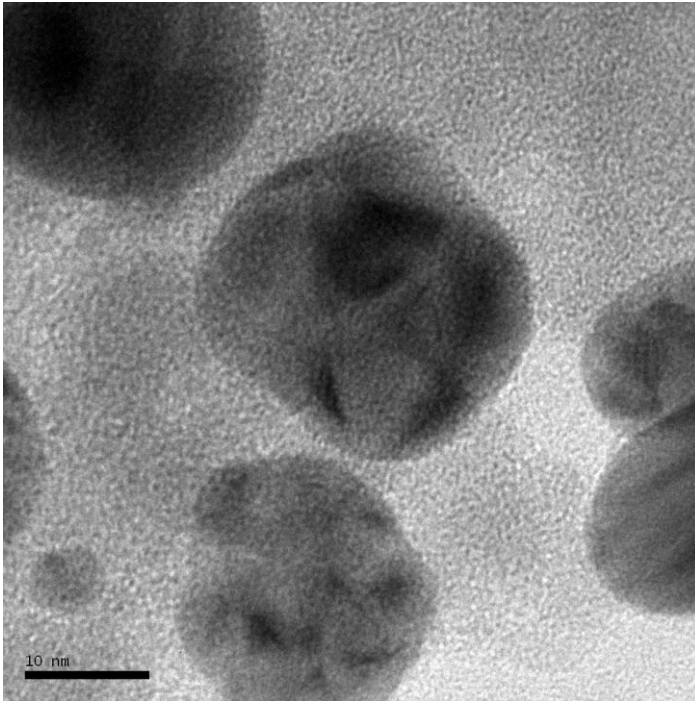
Ag La1

Şekil 6.12. Silika-2 numunesine ait elementel analiz ve haritalama sonuçları

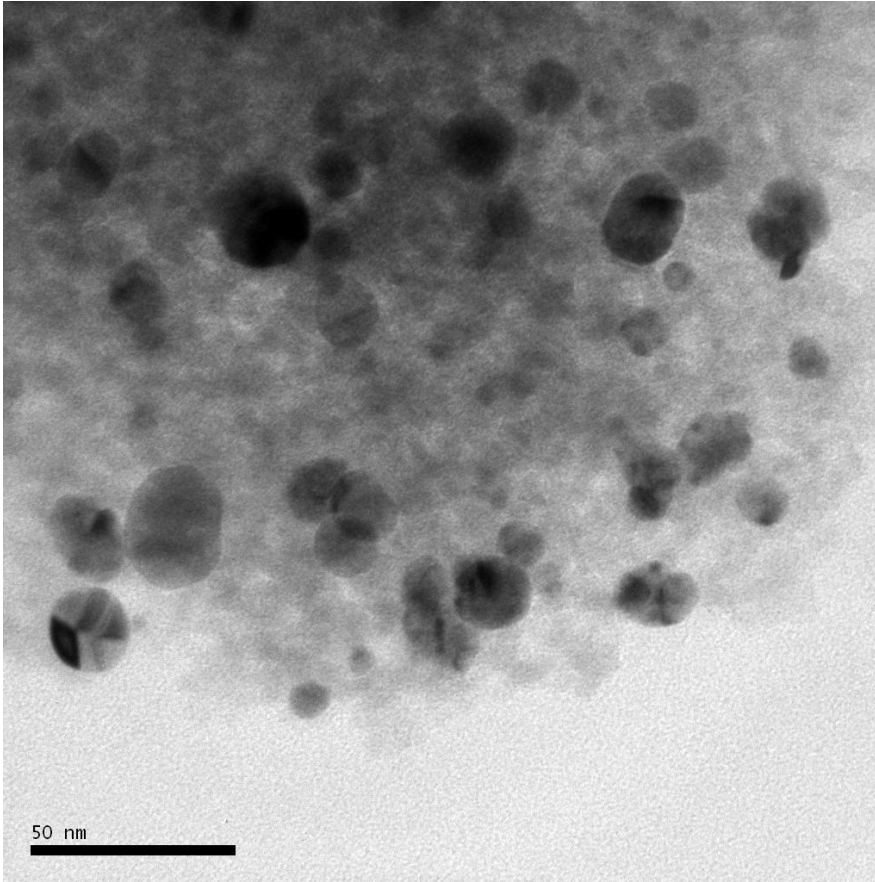
Nano gümüş kaplı silika yüzeylerinin HR-TEM analizleri, 5-30 nm boyutlarında nano gümüş partiküllerinin oluştuğunu göstermektedir (Şekil 6.13 ve Şekil 6.14).



Şekil 6.13. Nano gümüş kaplı silika-2 partiküllerinin yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüsü



Şekil 6.14. Nano gümüş kaplı silika-2 partiküllerinin yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüsü

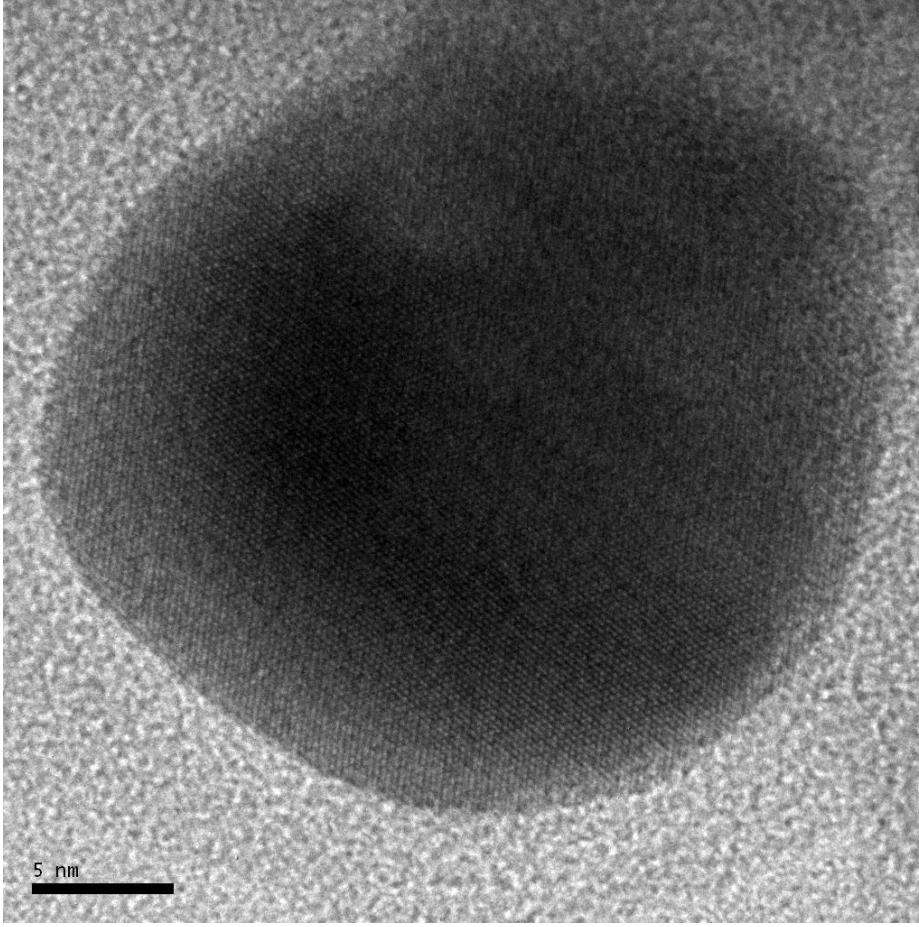


Şekil 6.15. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüsü

Çok sayıda nano gümüş içeren silika partikül yüzeyinin yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüsü (Şekil 6.15) alınarak yapılan EDS analizi sonucunda ağırlıkça %71.10 gümüş olduğu belirlenmiştir (Tablo 6.3).

Tablo 6.3. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin HR-TEM-EDS element analizi

Element	Ağırlıkça %	Atomik %
O	1.18	4.30
Si	27.72	57.38
Ag	71.10	38.32
Toplam	100.00	



Şekil 6.16. Yaklaşık 25 nm boyutundaki nano gümüşün Silika-2 üzerindeki HR-TEM görüntüsü

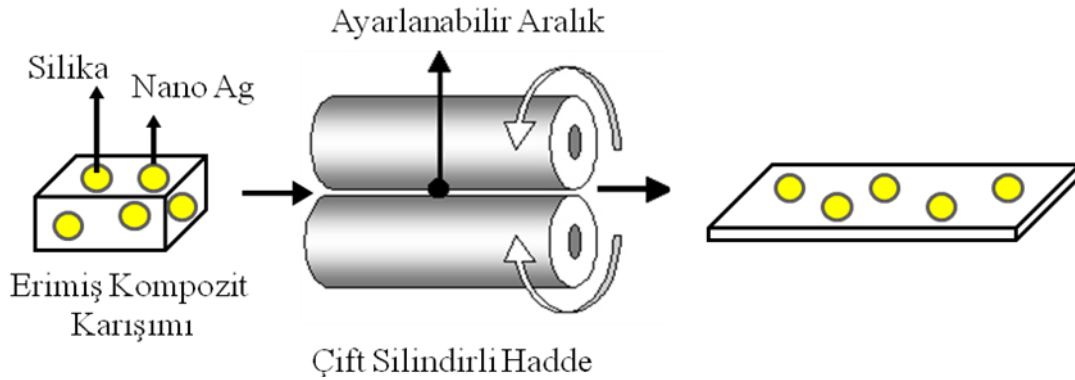
Nano gümüş kaplı Silika-2 partikül yüzeylerinin HR-TEM analizleri, 5-30 nm boyutlarında nano gümüş partiküllerinin oluştuğunu göstermektedir (Şekil 6.16). Silika-2 yüzeyinde görüntülenen nano gümüş partikül yüzeyinde yapılan HR-TEM-EDS analizi sonucunda ağırlıkça % 93.33 gümüş olduğu belirlenmiştir (Tablo 6.4)

Tablo 6.4. Silika-2 yüzeyinde görüntülenen nano gümüş partikül yüzeyinde yapılan HR-TEM-EDS analiz sonuçları

Element	Ağırlıkça %	Atomik %
Si	6.67	21.53
Ag	93.33	78.47
Toplam	100.00	

6.1.3. Nano gümüş kaplı silika kompozit filmlerin hazırlanması

PCL kompozit filmler yaklaşık 100 °C’de eritilen polimer içerisine gerekli katkı maddelerinin karıştırılması ile hazırlanmıştır. Daha sonra erimiş haldeki polimer karışımı hadde (roll mill) kullanılarak ince filmler haline getirilmiştir [73,78]. Test numuneleri belirli boyutlarda (2 cm × 5 cm × 0.10 ± 0.02 mm) kesilerek hazırlanmıştır. Çift silindirli haddeleme yöntemi ile kompozit karışım ince bir aralıktan geçirilerek basınç altında şekillendirilmektedir. Bu işlem ile daha aktif ve geniş bir yüzey alanının oluşması ve nano gümüş kaplı silikaların polimer içerisinde daha homojen bir şekilde yayılması sağlanmaktadır (Şekil 6.17).



Şekil 6.17. Antibakteriyel kompozit filmlerin hazırlanmasında kullanılan çift silindirli haddeleme (roll milling) metodu

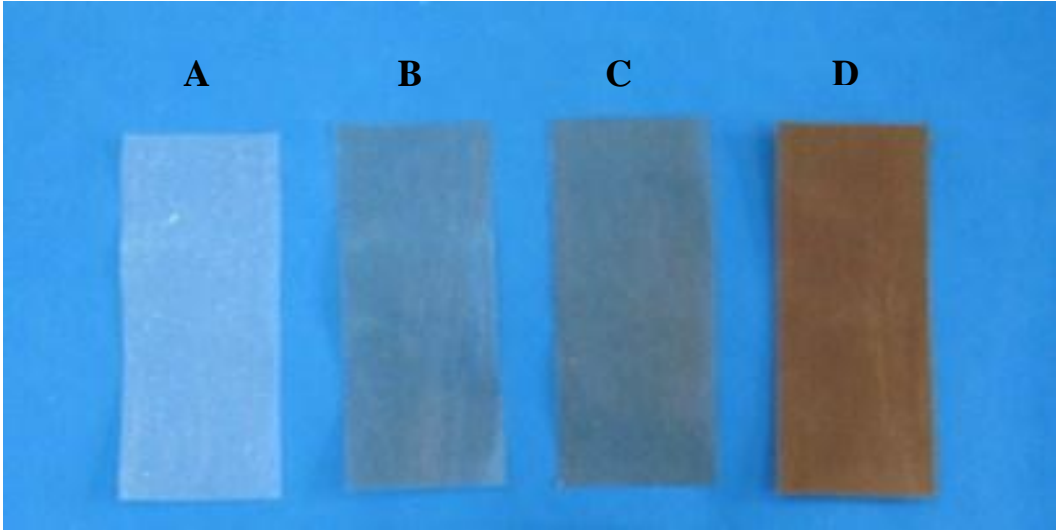
Eritme ve karıştırma işlemi sırasında nano gümüş kaplı silika partikülleri polimere %10, %20 ve %40 oranında karıştırılmıştır. Hazırlanan PCL kompozit filmlerin içeriği Tablo 6.5’te ve Tablo 6.6’da verilmiştir.

Tablo 6.5. Nano gümüş kaplı Silika-1 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmlerin içeriği

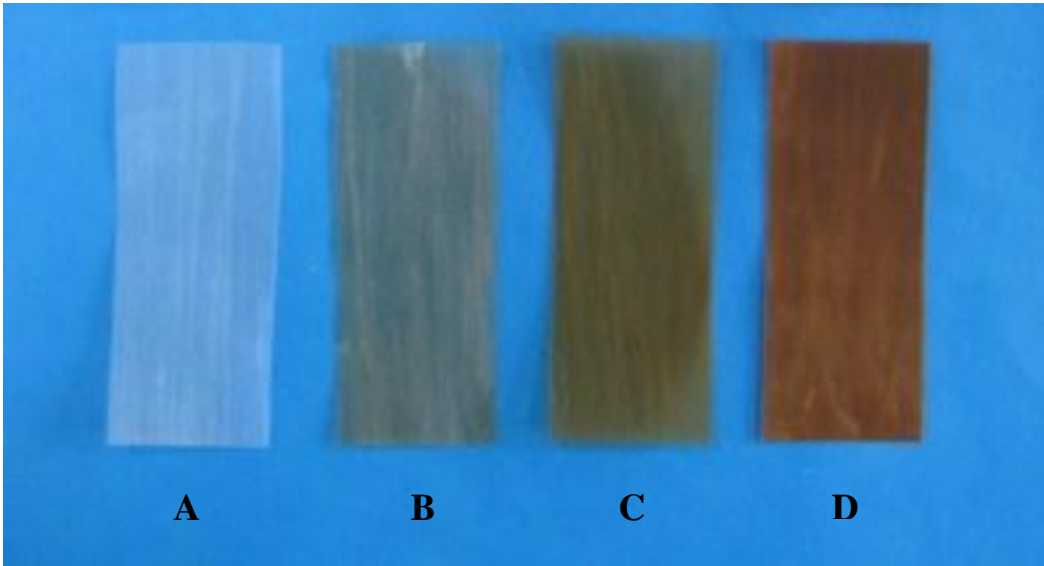
	PCL filmlerde % SiO ₂			
	% 20 SiO ₂	% 10 Ag-SiO ₂ (% 0.03 Ag)	% 20 Ag-SiO ₂ (% 0.06 Ag)	% 40 Ag-SiO ₂ (% 0.12 Ag)
Nano gümüş kaplı Silika-1 (% 0.3Ag)	-	0.2 gr	0.4 gr	0.8 gr
Silika-1	0.4 gr	-	-	-
PCL	1.6 gr	1.8 gr	1.6 gr	1.2 gr

Tablo 6.6. Nano gümüş kaplı Silika-2 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmlerin içeriği

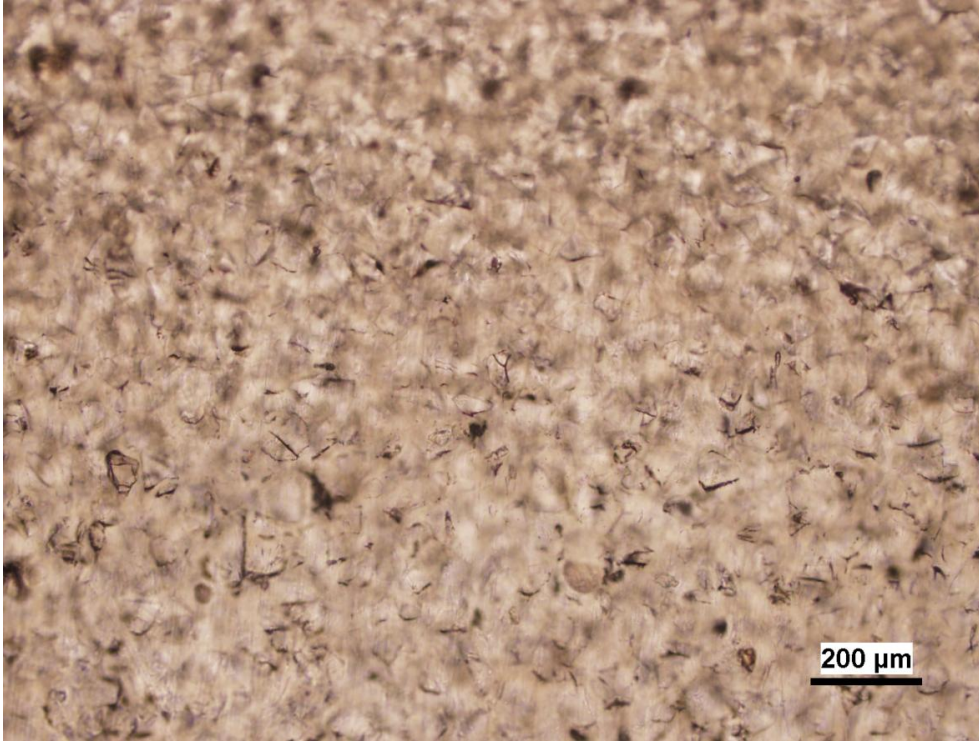
	PCL filmlerde % SiO ₂			
	% 20 SiO ₂	% 10 Ag-SiO ₂ (% 0.02 Ag)	% 20 Ag-SiO ₂ (% 0.04 Ag)	% 40 Ag-SiO ₂ (% 0.08 Ag)
Nano gümüş kaplı Silika-2 (% 0.2 Ag)	-	0.2 gr	0.4 gr	0.8 gr
Silika-2	0.4 gr	-	-	-
PCL	1.6 gr	1.8 gr	1.6 gr	1.2 gr



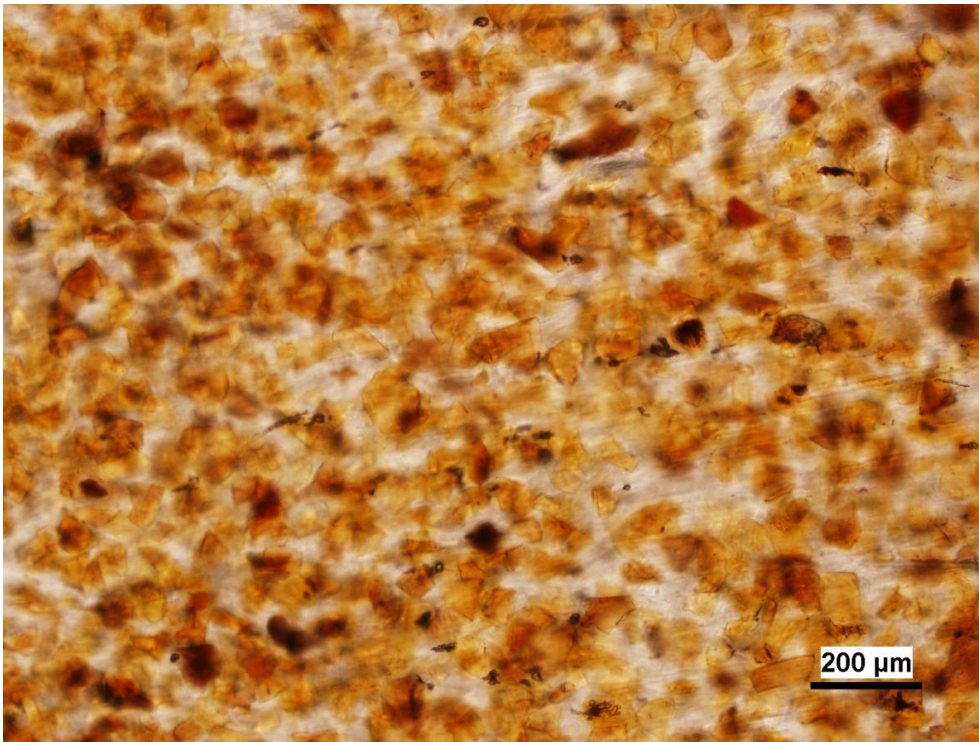
Şekil 6.18. Nano gümüş kaplı Silika-1 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmler, A) %20 silika içeren PCL kompozit film (kontrol film), B) %10 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, C) %20 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, D) %40 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film



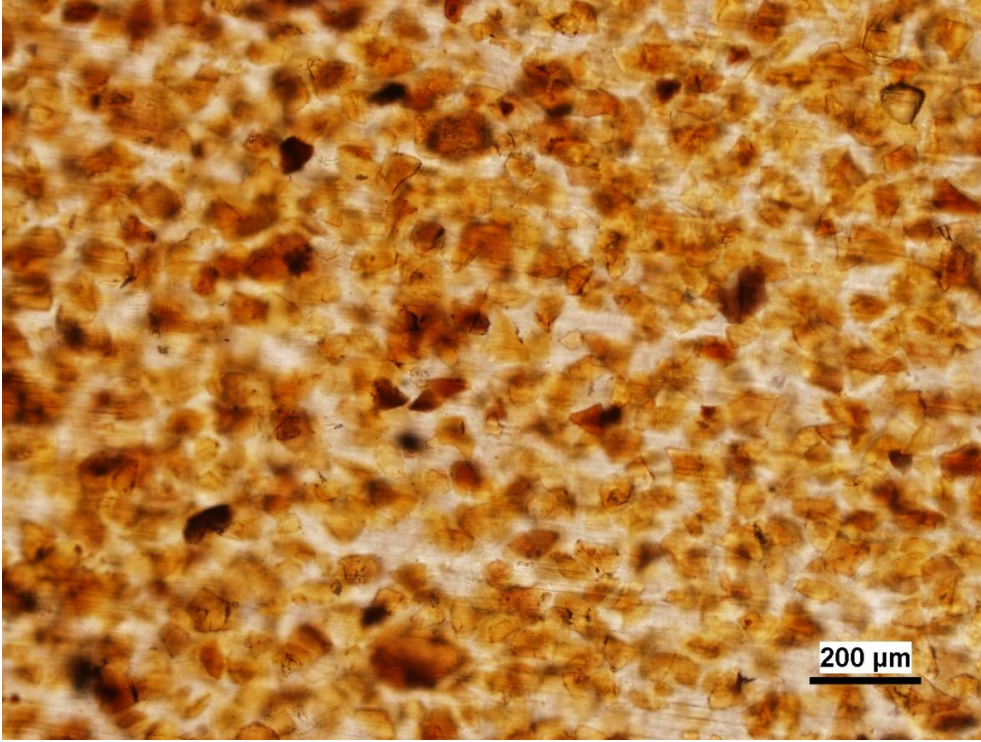
Şekil 6.19. Nano gümüş kaplı Silika-2 katılarak hazırlanan PCL kompozit filmler, A) %20 silika içeren PCL kompozit film (kontrol film), B) %10 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, C) %20 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film, D) %40 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit film



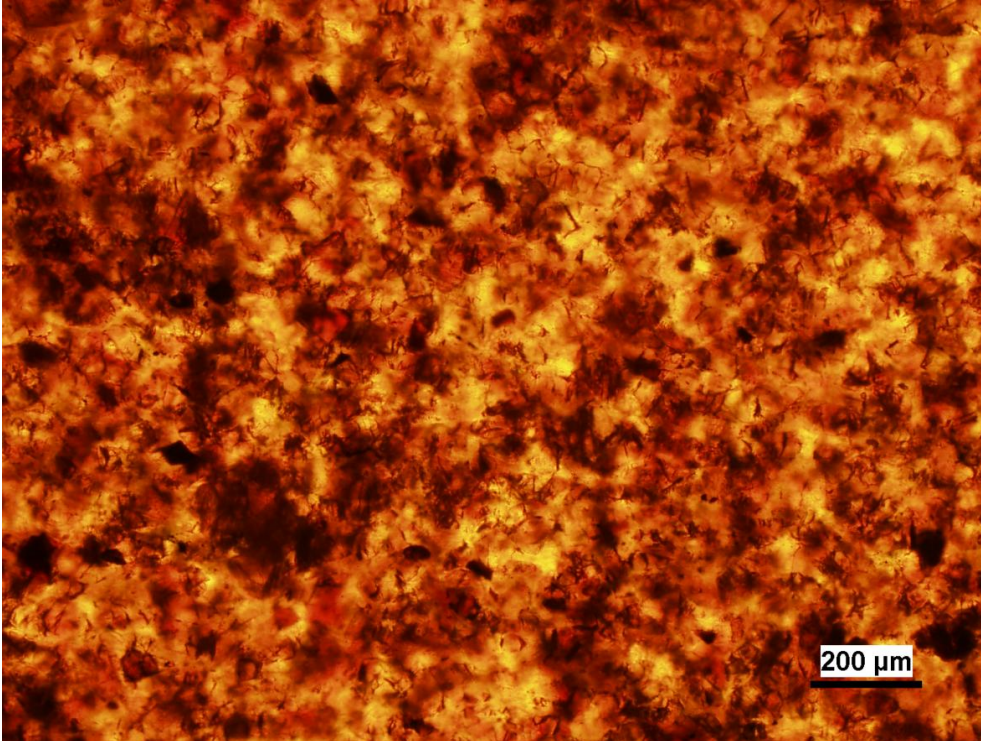
Şekil 6.20. %20 Silika-1 içeren PCL kompozit filmin (kontrol film) ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



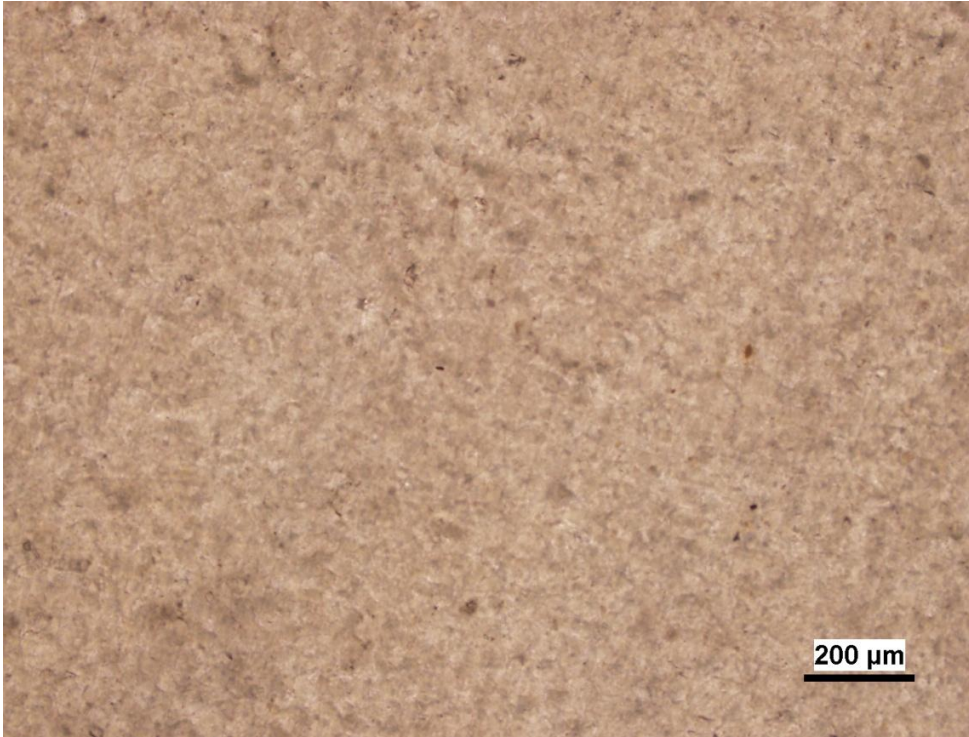
Şekil 6.21. %10 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



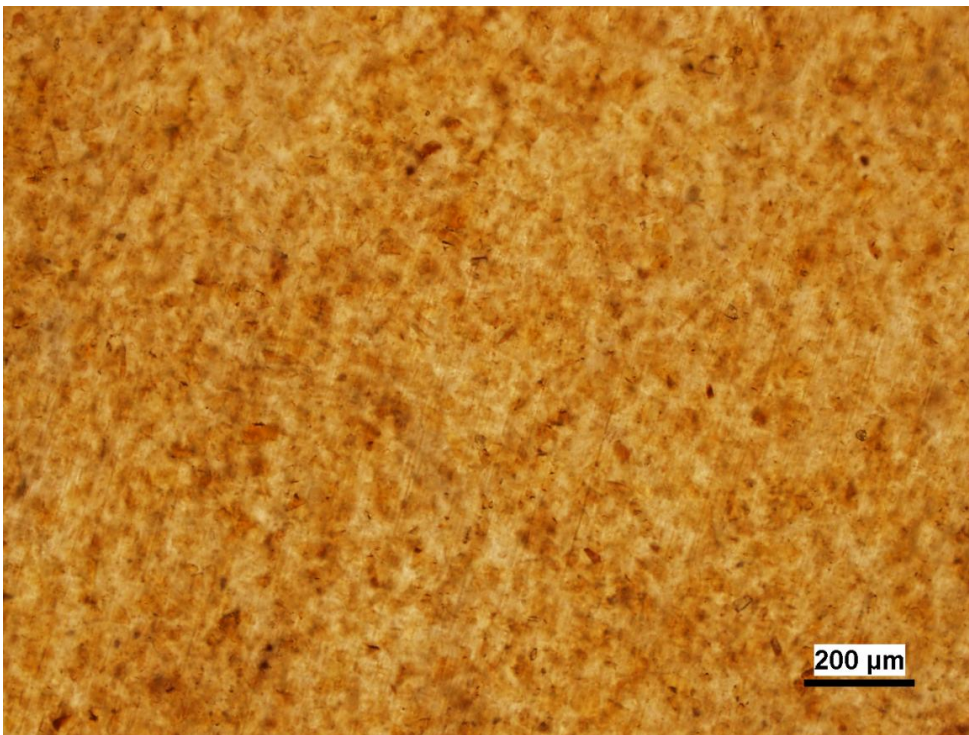
Şekil 6.22. %20 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü (×10)



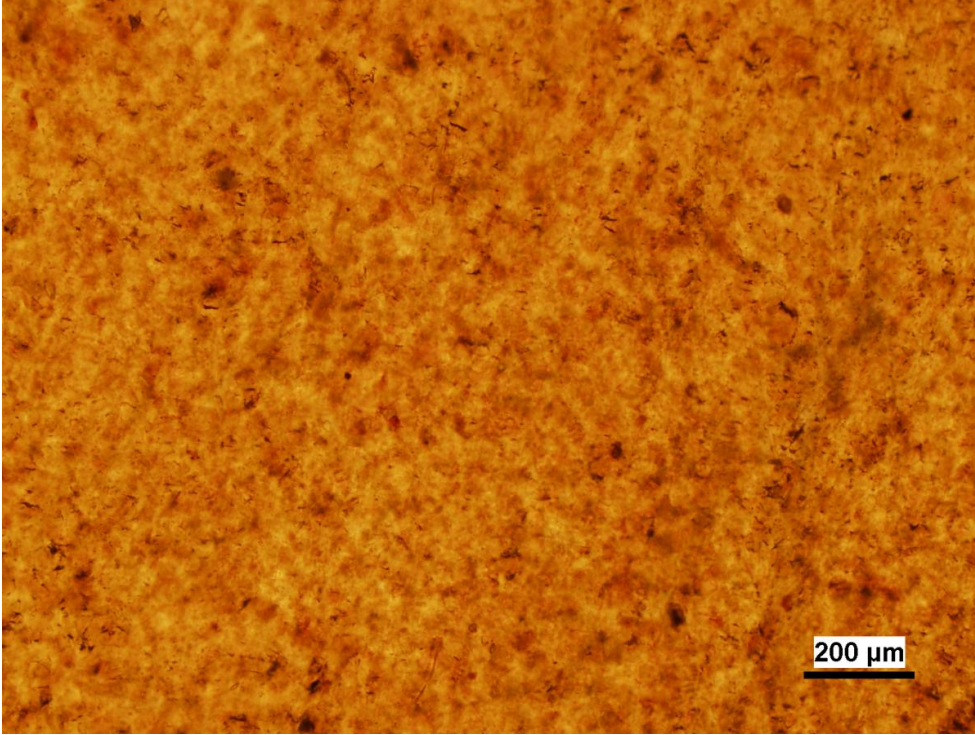
Şekil 6.23. %40 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü (×10)



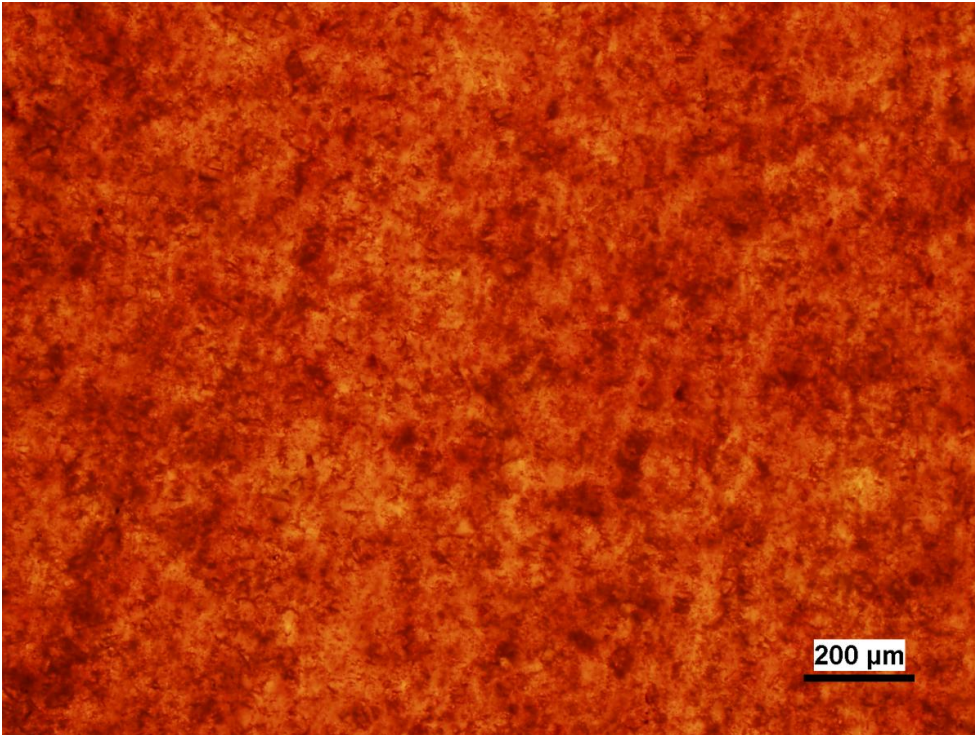
Şekil 6.24. %20 Silika-2 içeren PCL kompozit filmin (kontrol film) ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



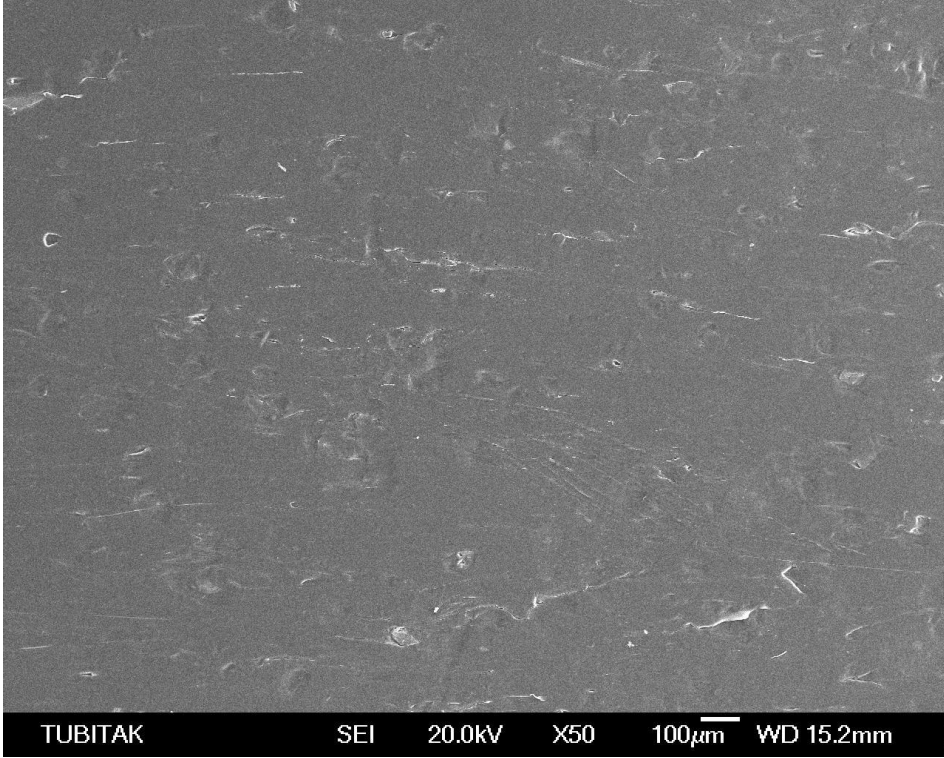
Şekil 6.25. %10 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü ($\times 10$)



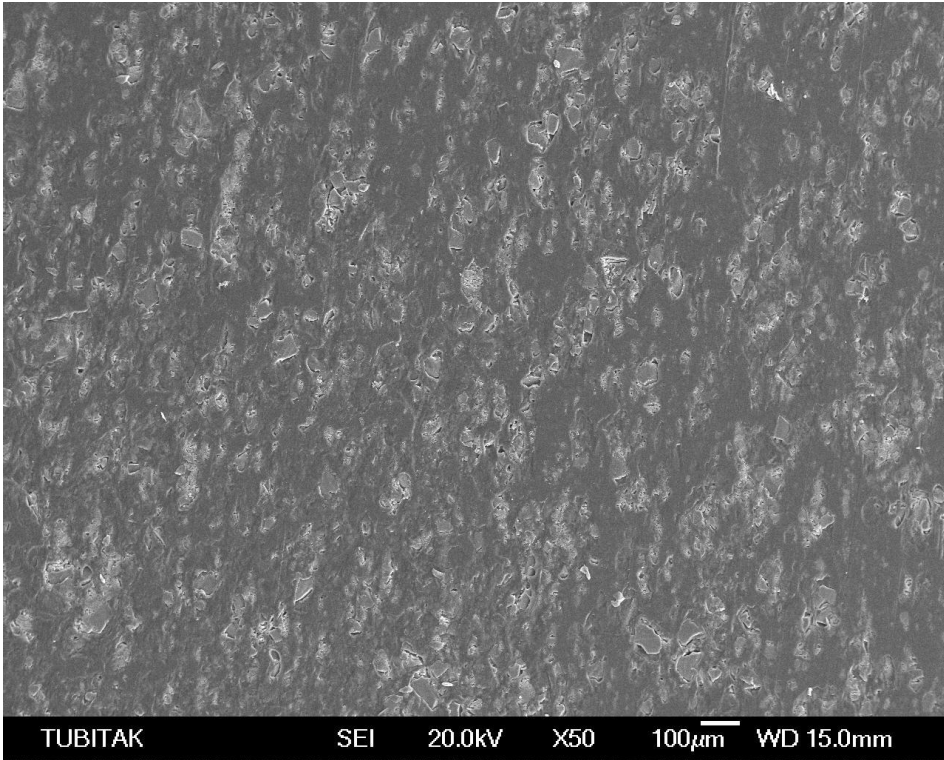
Şekil 6.26. %20 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü (×10)



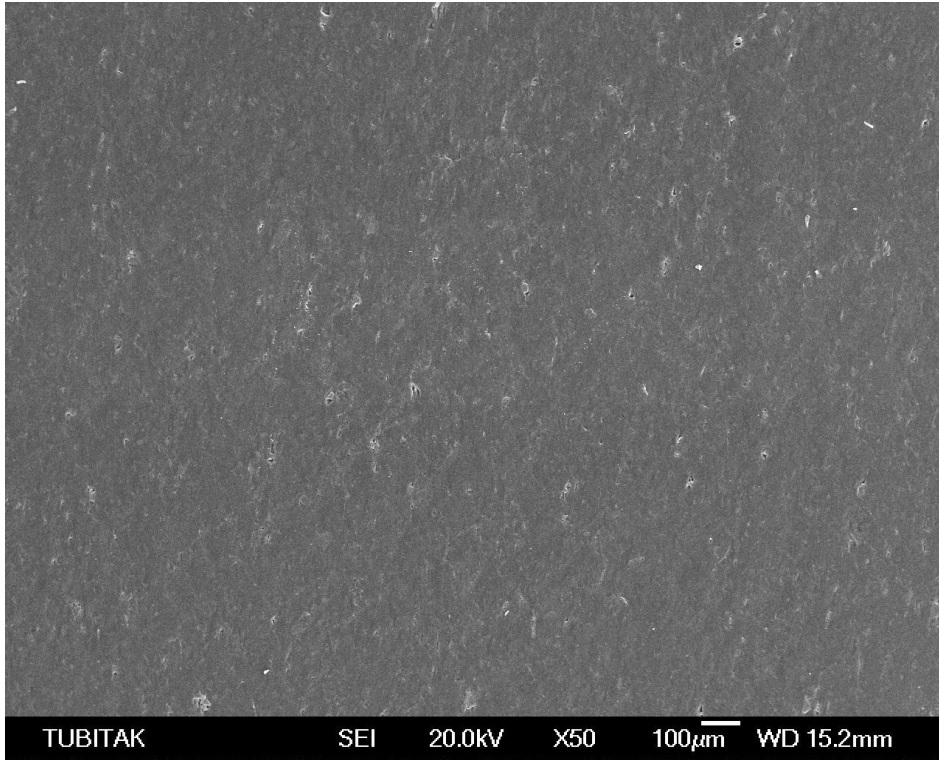
Şekil 6.27. %40 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin ışık mikroskobu görüntüsü (×10)



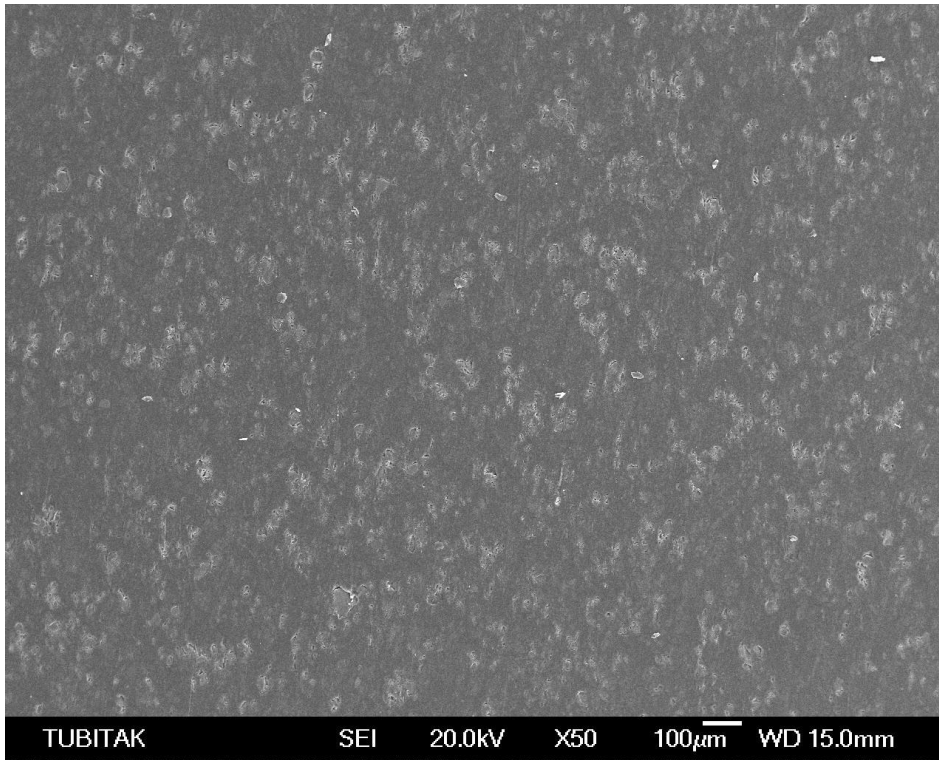
Şekil 6.28. %20 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



Şekil 6.29. %40 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



Şekil 6.30. %20 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



Şekil 6.31. %40 nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü

6.1.4. Nano gümüş kaplı silika kompozit filmlerin antibakteriyel aktivite ölçümleri

Nano gümüş kaplı silika kompozit film yüzeylerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısındaki antibakteriyel aktiviteleri ölçüldü.

Staphylococcus aureus ATCC 29213 Triptik Soy Broth'a ekildi. 37 ± 1 °C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından sıvı *Staphylococcus aureus* kültüründen Koyun Kanlı Agara ekim yapılarak 24 saat 37 ± 1 °C'de inkübe edildi. *Escherichia coli* ATCC 25922 Triptik Soy Broth'a ekildi. 37 ± 1 °C'de 24 saatlik inkübasyonun ardından sıvı *Escherichia coli* kültüründen Koyun Kanlı Agara ekim yapılarak 24 saat 37 ± 1 °C'de inkübe edildi. Yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla kompozit filmlerin her bir yüzü, 5 dakika boyunca UV ışığa maruz bırakılarak steril edildi.

Nano gümüş kaplı silika kompozit filmlerin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal performansları doğrudan temas (Contact plating) yöntemi ile saptandı. 1×10^6 CFU/ml *E. coli* ATCC 25922 kontrol filmler ve nano gümüş kaplı silika içeren filmler üzerine spreylendi ($0.0031\text{gr}\cong 31\mu\text{l}/2\times 5\text{cm}^2$). Filmler spreyleneş yüzeyleri altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37 ± 1 °C'de inkübe edildi. 1×10^6 CFU/ml *S. aureus* ATCC 29213 kontrol filmler ve nano gümüş kaplı silika içeren filmler üzerine spreylendi ($0.0031\text{gr}\cong 31\mu\text{l}/2\times 5\text{cm}^2$). Filmler spreyleneş yüzeyleri altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37 ± 1 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları Tablo 6.7 ve Tablo 6.8'de verilmiştir.

Tablo 6.7. %10, %20 ve %40 oranında nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmler için besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

Bakteriler	Silika-1 içeren	Nano Gümüş Kaplı Silika-1 içeren PCL Kompozit		
	Kontrol	Filmler		
	%20	%10	%20	%40
<i>E. coli</i>	+ (150)	+	+ (39)	- (0)
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+

Tablo 6.8. %10, %20 ve %40 oranında nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmler için besiyerlerinde meydana gelen koloni sayıları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

Bakteriler	Silika-2 içeren	Nano Gümüş Kaplı Silika-2 içeren PCL Kompozit		
	Kontrol	Filmler		
	%20	%10	%20	%40
<i>E. coli</i>	+ (132)	+ (66)	+ (37)	- (0)
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+

Çalışmamızda kullanılan dozlarda nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit filmler *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 karşısında antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin %10, %20 ve %40 oranında katıldığı PCL kompozit filmler, *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısında sırasıyla % 0, % 74 ve %100 antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tablo 6.9). Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin %10, %20 ve %40 oranında katıldığı PCL kompozit filmler *E. coli* karşısında sırasıyla %50, %72 ve %100 antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tablo 6.10)

Tablo 6.9. Nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri

Bakteriler	% R: Antibakteriyel Aktivite			
	Silika-1 içeren Kontrol	PCL Kompozit Filmlerdeki Nano Gümüş Kaplı Silika-1 Yüzdeleri		
	%20	%10	%20	%40
<i>E. coli</i>	0	0	74	100
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0

Tablo 6.10. Nano gümüş kaplı Silika-2 içeren PCL kompozit filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri

Bakteriler	% R: Antibakteriyel Aktivite			
	Silika-2 içeren Kontrol	PCL Kompozit Filmlerdeki Nano Gümüş Kaplı Silika-2 Yüzdeleri		
	%20	%10	%20	%40
<i>E. coli</i>	0	50	72	100
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0

%40 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit filmler besiyerlerinden alındıktan sonra besiyerleri tekrar inkübatöre konularak 24 saat daha 37 ± 1 °C'de inkübe edildi.

Tablo 6.11. %40 nano gümüş kaplı silika içeren PCL kompozit filmler besiyerlerinden alındıktan sonra 24 saat inkübe edilen besiyerlerindeki bakteri üremeleri (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

Bakteriler	%40 nano gümüş kaplı Silika-1 içeren PCL kompozit film	%40 nano gümüş kaplı ince Silika-2 içeren PCL kompozit film
<i>E. coli</i>	-	-
<i>S. aureus</i>	+	+

6.2. Gümüş - Biyomembran Kompozitler

6.2.1. Biyomembranların gümüş ile kaplanması (yöntem 1)

Biyomembran olarak bağırsak zarları kullanıldı. Bağırsak zarları Tween 20 ile 500 ml suda yıkandıktan sonra 3 kez durulama işlemine tabi tutuldu. 500 ml alkol (%96) içerisinde 30 dakika bekletilen bağırsak zarları süre sonunda 500 ml aseton içerisinde 30 dakika bekletildi ve ardından kurutma işlemi yapıldı. Yıkanmış bağırsak zarları 2×5 cm ebatlarında kesilerek hazırlandı.

5 ml etilen glikol üzerine 30 mg gümüş nitrat ilave edilerek çözüldü. Ortama bağırsak zarları atıldı. Üzerine 5 ml etilen glikol ilave edildi. 30 mg $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (amonyum fosfat) ilave edilerek karıştırıldı. Sarı renkli bulanık çözelti meydana geldiği gözlemlendi. 2 adet film 30 dakika boyunca bu çözeltide bekletildi. Hazırlanan filmlerin yavaşça koyulaşarak siyah bir renk aldığı görüldü. Bu numune Ag-BM-1 olarak adlandırıldı.

5 ml etilen glikol üzerine 30 mg gümüş nitrat ilave edilerek çözüldü. Ortama bağırsak zarları atıldı. Üzerine 5 ml etilen glikol ilave edildi. 30 mg sulfanilik asit ilave edilerek karıştırıldı. 30 mg ferrocene (toz) ilave edilerek karıştırıldı. Önce koyu mavi, 5-10 dakika sonra ise bordo-kırmızı-siyah renk meydana geldiği gözlemlendi. 2 adet film 30 dakika boyunca bu çözeltide bekletildi. Hazırlanan kırmızı renkli filmler Ag-BM-2 olarak adlandırıldı.

6.2.2. Biyomembranların gümüş ile kaplanması (yöntem 2)

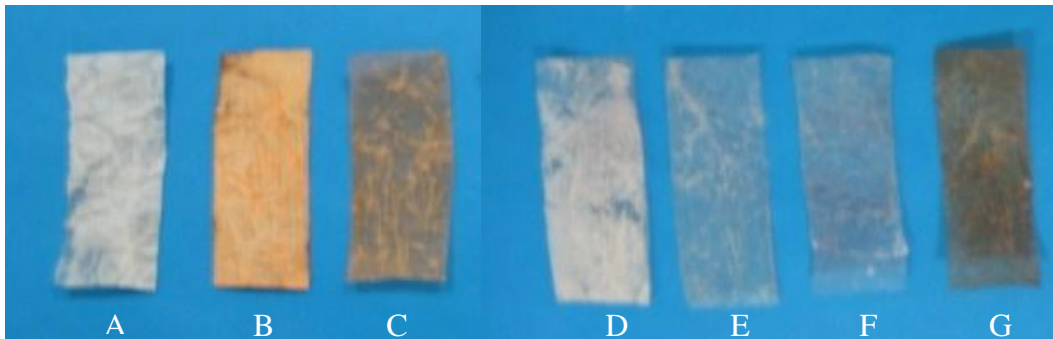
10 ml etilen glikolde 30 mg gümüş nitrat çözüldü. Üzerine önce 30 mg sulfanilik asit ilave edildi ve kısmen çözülmesi sağlandı ardından 30 mg ferrocene (toz) ilave edilerek indirgeme yapıldı. Çözeltide önce koyu mavi, 5-10 dakika sonra ise bordo-kırmızı-siyah renk meydana geldiği gözlemlendi. Çözelti süzgeç kağıdı ile süzüldü.

Çözeltiden 1 ml alınarak üzerine 9 ml distile su ilave edilerek çözelti 10 kat seyreltildi. 2 adet film seyreltik çözeltide 10 dakika boyunca tutuldu. Filmlerden bir

tanesi kırmızı film olarak adlandırıldı. Diğer film, 30 mg oksalik asidin 5 ml suda çözündüğü çözelti içerisinde 5 dakika süre ile tutulduktan sonra 25 ml distile suya alınarak yıkandı. Bu film mor film olarak adlandırıldı. Yaklaşık 1 dakika süren yıkama işleminin ardından asetona (25 ml) alınan filmler kurutularak ışıktan korunması amacıyla karanlıkta saklandı. Oksalik asit çözeltisinin açık sarı renkli olduğu gözlemlendi.

30 mg AgNO_3 10 ml etilen glikol içerisinde çözülür. AgNO_3 çözeltisinden 1 ml alınarak üzerine 9 ml etanol ilave edildi. 2 adet film seyreltilmiş AgNO_3 çözeltisi içerisinde 10 dakika süre ile tutuldu. Asetonla yıkama işleminin ardından filmler kurutuldu. Filmlerden bir tanesi ışıktan korunması amacıyla karanlıkta saklandı. Diğer film, 5 ml distile suda 30 mg $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ çözülerek hazırlanan çözelti (pH=8) içinde 5 dakika süre ile tutuldu. Film önce suda (25 ml) daha sonra asetonda (25 ml) yıkanarak kurutulduktan sonra ışıktan korunması amacıyla karanlıkta saklandı.

AgNO_3 çözeltisinden 1 ml alınarak üzerine 9 ml etanol ilave edildi. 2 adet film seyreltilmiş AgNO_3 çözeltisi içerisinde 10 dakika süre ile tutuldu. Asetonla yıkama işleminin ardından filmler kurutuldu. 5 ml distile suda 30 mg oksalik asit çözülür (pH=1). 2 adet film oksalik asit çözeltisi içinde 5 dakika tutulmasının ardından önce suda (25 ml) daha sonra asetonda (25 ml) yıkanarak kurutuldu. Filmlerden bir tanesi ışıktan korunması amacıyla saklanırken, diğerinin her bir yüzü 10 cm uzaklıktaki UV ışık altında 10 dakika boyunca bırakıldı.



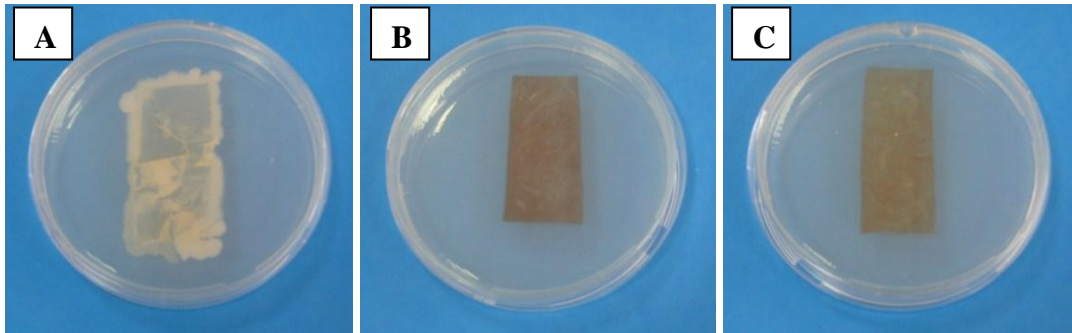
Şekil 6.32. A) Kontrol (bağırsak zarı), B) Bordo kırmızı çözeltide bekletilmiş film, C) Bordo kırmızı çözeltide ve ardından oksalik asit çözeltisinde bekletilmiş film, D) AgNO_3 çözeltisinde bekletilmiş film, E) AgNO_3 çözeltisinde ve ardından $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ çözeltisinde bekletilmiş film, F) AgNO_3 çözeltisinde ve ardından oksalik asit çözeltisinde bekletilmiş film, G) AgNO_3 çözeltisinde, ardından oksalik asit çözeltisinde bekletildikten sonra UV ışığa maruz bırakılmış film

6.2.3. Antibakteriyel aktivite ölçümü

Yöntem 1’de hazırlanan filmlerin antibakteriyel aktivite ölçümü:

S. aureus ATCC 29213 Triptik Soy Broth’a ekildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından sıvı *S. aureus* kültüründen Koyun Kanlı Agara ekim yapıldı. 24 saat 37 ± 1 °C’de inkübe edildi. *E. coli* ATCC 25922 Triptik Soy Broth’a ekildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından sıvı *E. coli* kültüründen Koyun Kanlı Agara ekim yapıldı. 24 saat 37 ± 1 °C’de inkübe edildi.

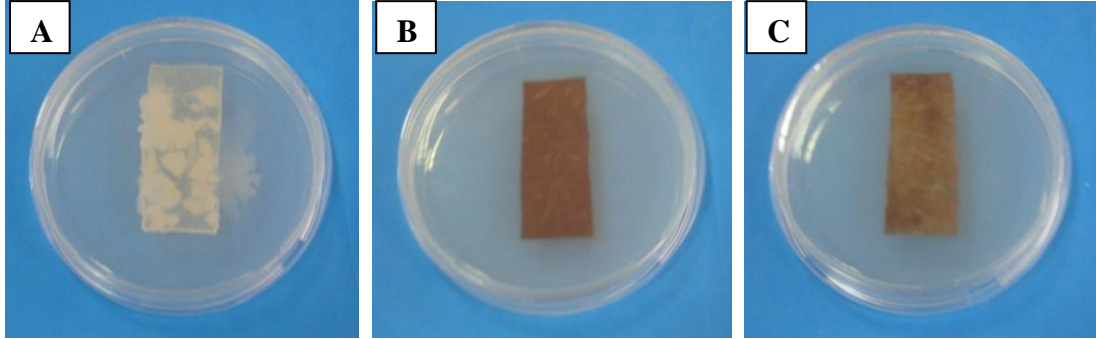
Kompozit filmlerin *S. aureus* ve *E. coli*’ye karşı antimikrobiyal performansları doğrudan temas (Contact plating) yöntemi ile saptandı. 1×10^6 CFU/ml *E. coli* ATCC 25922 kontrol olarak kullanılan bağırsak zarı ve gümüş kaplanmış bağırsak zarları (2 cm \times 5 cm) üzerine spreylendi. Bağırsak zarları spreyleneş yüzeyleri altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37 ± 1 °C’de inkübe edildi. Kontrol olarak kullanılan bağırsak zarı üzerinde ve etrafında üreme gözlenirken, gümüş kaplı bağırsak zarları üzerinde ve etrafında herhangi bir üreme görölmedi. İnkübasyon sonunda filmlerdeki *S. aureus* koloni büyümeş Şekil 6.33’te görölmemektedir.



Şekil 6.33. A) Kontrol filmde (Bağırsak zarı), B) Ag-BM-1 filminde, C) Ag-BM-2 filminde *E. coli* koloni büyümeş

1×10^6 CFU/ml *S. aureus* ATCC 29213 kontrol olarak kullanılan bağırsak zarı ve gümüş kaplanmış bağırsak zarları (2 cm \times 5 cm) üzerine spreylendi. Bağırsak zarları spreyleneş yüzeyleri altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37 ± 1 °C’de inkübe edildi. Kontrol olarak kullanılan bağırsak zarı üzerinde ve etrafında üreme gözlenirken, gümüş kaplı bağırsak zarları üzerinde ve etrafında

herhangi bir üreme görülmedi. İnkübasyon sonunda filmlerdeki *S. aureus* koloni büyümleri Şekil 6.34'te görülmektedir.



Şekil 6.34. A) Bağırsak zarı (kontrol film), B) Ag-BM-1 filminde, C) Ag-BM-2 filminde *S. aureus* koloni büyümleri

Ag-BM-1, Ag-BM-2 ve kontrol filmi için antibakteriyel aktivite değerleri hesaplanmıştır. Bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri Tablo 6.12'de verilmiştir.

Tablo 6.12. Yöntem 1'de hazırlanan biyomembran filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri

Bakteriler	% R: Antibakteriyel Aktivite		
	Bağırsak zarı (Kontrol film)	Ag-BM-1	Ag-BM-2
<i>E. coli</i>	0	100	100
<i>S. aureus</i>	0	100	100

Yöntem 2'de hazırlanan filmlerin antibakteriyel aktivite ölçümü:

Kompozit filmlerin *E. coli* karşısındaki antimikrobiyal performansları doğrudan temas (Contact plating) yöntemi ile saptandı. Kontrol olarak kullanılacak filmlerin her bir yüzü UV lamba altında 10 dakika boyunca steril edildi. 1×10^6 CFU/ml *E. coli* ATCC 25922 kontrol olarak kullanılan film ve hazırlanan filmler üzerine spreylendi. Filmler spreyleneş yüzeyleri altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37 ± 1 °C inkübe edildi. Kontrol olarak kullanılan filmde yoğun üreme gözlemlendi. Kontrol film ve test numuneleri için hesaplanan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri Tablo 6.13'te verilmiştir.

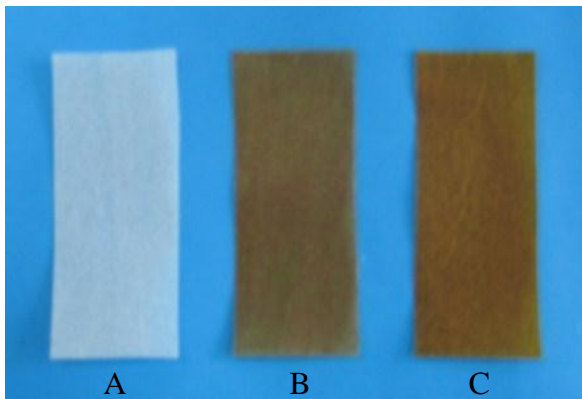
Tablo 6.13. Yöntem 2’de hazırlanan biyomembran filmler için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri

Bakteri	% R: Antibakteriyel Aktivite						
	Kontrol	Kırmızı	Mor	AgNO ₃	AgNO ₃ (NH ₄) ₂ HPO ₄	AgNO ₃ H ₂ C ₂ O ₄	AgNO ₃ H ₂ C ₂ O ₄ (UV)
<i>E. coli</i>	0	90	100	100	100	100	100

6.3. Juglan-Polikaprolakton-Alimüna Kompozitler

6.3.1. Juglan-PCL-alimüna kompozit filmlerinin hazırlanması

Juglan-PCL-alimüna kompozit filmler, yaklaşık %100 °C’de eritilen polimer içerisine gerekli katkı maddelerinin karıştırılması ile hazırlanmıştır. Daha sonra erimiş haldeki polimer karışımı hadde (roll mill) kullanılarak ince filmler haline getirilmiştir [73,74]. Deneysel çalışmalarda kullanılan test numuneleri belirli boyutlarda (2 cm × 5 cm) kesilerek hazırlanmıştır (Şekil 6.35).



Şekil 6.35. A) Kontrol film (PCL-Al₂O₃), B) Juglan (%1)-PCL-Al₂O₃ kompozit film, C) Juglan (%5)-PCL-Al₂O₃ kompozit film

Eritme ve karıştırma işlemi sırasında juglan, PCL-Al₂O₃’ya %1 ve %5 oranında karıştırılmıştır. Tablo 6.14’te kullanılan juglan ve PCL-Al₂O₃ miktarları verilmiştir.

Tablo 6.14. Juglan katılarak hazırlanan PCL-Al₂O₃ kompozit filmlerinin içeriği

	PCL-Al ₂ O ₃ kompozit film (kontrol film)	Juglan(%1)- PCL-Al ₂ O ₃ kompozit film	Juglan(%5)- PCL-Al ₂ O ₃ kompozit film
PCL – %30 Al ₂ O ₃	0.8746 gr	0.8748 gr	0.8747 gr
Juglan	–	0.0088 gr	0.0435 gr

6.3.2. Juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit filmlerinin antibakteriyel aktivite ölçümü

Juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit film yüzeylerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısındaki antibakteriyel aktiviteleri ölçüldü. Bu amaçla *S. aureus* ATCC 29213 Triptik Soy Broth'a ekildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından sıvı *S. aureus* kültüründen Koyun Kanlı Agara ekim yapıldı. 24 saat 37±1 °C'de inkübe edildi. *E. coli* ATCC 25922 Triptik Soy Broth'a ekildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından sıvı *E. coli* kültüründen Koyun Kanlı Agara ekim yapıldı. 24 saat 37±1 °C'de inkübe edildi. Yüzeylerindeki bakterilerin ölmesi amacıyla kompozit filmlerin her bir yüzü, 5 dakika boyunca UV ışığa maruz bırakılarak steril edildi.

Juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit filmlerin *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal performansları doğrudan temas (Contact plating) yöntemi ile saptandı. 1×10⁶ CFU/ml *E. coli* ATCC 25922 kontrol film ve Juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit filmlerinin üzerine spreylendi. Filmler, spreyleneş yüzeyleri altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37±1 °C'de inkübe edildi. 1×10⁶ CFU/ml *S. aureus* ATCC 29213 kontrol film ve juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit filmlerinin üzerine spreylendi. Filmler, spreyleneş yüzeyleri altta kalacak şekilde Nutrient Agar besiyerine yerleştirildi. 24 saat 37±1 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kontrol olarak kullanılan kompozit filmlerde yoğun bakteri üremesi görüldü. Juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit filmlerde ise herhangi bir bakteri üremesi görülmeydi. Kontrol film ve juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit filmler için hesaplanan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri Tablo 6.15'te verilmiştir.

Tablo 6.15. Juglan-PCL-Al₂O₃ kompozit filmleri için bulunan antimikrobiyal aktivite (% R) değerleri

Bakteriler	% R: Antibakteriyel Aktivite		
	PCL-Al ₂ O ₃ (kontrol film)	%1 Juglan PCL- Al ₂ O ₃ film	%5 Juglan PCL- Al ₂ O ₃ film
<i>E. coli</i>	0	100	100
<i>S. aureus</i>	0	100	100

6.4. Çinko - Juglan Kompleksi

6.4.1. Çinko asetat (Zn(Ac)₂.2H₂O) özeltisinin hazırlanması

200 mg çinko asetat (Zn(Ac)₂.2H₂O) 10 ml alkol ilave edilip 100 ml distile suya tamamlanarak özöldü. Çözelti renksiz olarak gözlendi. Hazırlanan stok çözeltideki çinko asetat 400 µg/ml olarak hesaplandı. Stok çözeltinin iki katlı dilisyon serileri hazırlandı. Bu serilerde çözeltide bulunan çinko asetat miktarının her seyreltmede bir önceki seyreltmeye göre yarısına düşmesi hedeflendi. Bu amaçla 50 ml stok çözelti üzerine 50 ml distile su ilave edildi. Her defasında aynı işlemler yapılarak 9 adet çözelti hazırlandı. Hazırlanan özeltiiler kullanılıncaya kadar buzdolabında muhafaza edildi.

6.4.2. Çinko juglan kompleksinin hazırlanması

50 mg çinko asetat az miktarda suda (20 ml) özöldü. Üzerine 50 mg juglan ilave edildi. Juglan suda çözünmediği için 10 ml alkol eklendi. Sıcakta (su banyosunda) 100 ml'ye tamamlanarak özöldü. Çözünmeyen az miktardaki kalıntı (siyah) süzgeç kağıdından süzülerek berrak kırmızı renkli çözelti kullanıldı. Hazırlanan stok çözeltideki çinko juglan kompleksi 100 µg/ml olarak hesaplandı. Stok çözeltinin iki katlı dilisyon serileri hazırlandı. Bu serilerde çözeltide bulunan çinko juglan kompleks miktarının her seyreltmede bir önceki seyreltmeye göre yarısına düşmesi hedeflendi. Bu amaçla 50 ml stok çözelti üzerine 50 ml distile su ilave edildi. Her

defasında aynı işlemler yapılarak 7 adet çözelti hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler kullanılıncaya kadar buzdolabında muhafaza edildi.

6.4.3. Çinko asetat ve çinko juglan kompleksinin MİK değerleri

75×10^6 CFU/ml *S. aureus* ATCC 29213 bakteri süspansiyonu hazırlandı. Mueller Hinton Broth besiyerinden 0.6 ml ve hazırlanan *S. aureus* bakteri süspansiyonundan 0.2 ml aseptik koşullarda tüplere aktarıldı. Besiyeri ve bakteri içeren tüplere hazırlanan stok ve seyreltik çözeltilerin her birinden 0.2 ml aktarıldı. Kontrol, 0.6 ml Mueller Hinton Broth, 0.2 ml *S. aureus* ATCC 29213 bakteri süspansiyonundan tüplere aktarılarak hazırlandı. Ayrıca kontrol tüplerine sırasıyla 0.2'şer ml %10'luk, %5'lik, %2.5'lik, %1.25'lik, %0.625'lik, %0.312'lik alkol çözeltilerinden ilave edildi. Kontrole alkol çözeltisi ilave edilmesinin nedeni çözeltilerin hazırlanması aşamasında bu çözeltilere alkol ilave edilmesidir. 24 saat 37 ± 1 °C'deki inkübasyonun ardından tüplerdeki bulanıklık incelendi. Kontrollerin hepsinde üreme olduğu gözlemlendi. *S. aureus* için çinko asetatın MİK değerinin 400 µg/ml olduğu; çinko juglan kompleksinin MİK değerinin 12.5 µg/ml olduğu belirlendi. Farklı dozlardaki çinko asetat ve çinko juglan kompleksinin *S. aureus* için gözlenen test sonuçları Tablo 6.16 ve Tablo 6.17'de verilmiştir.

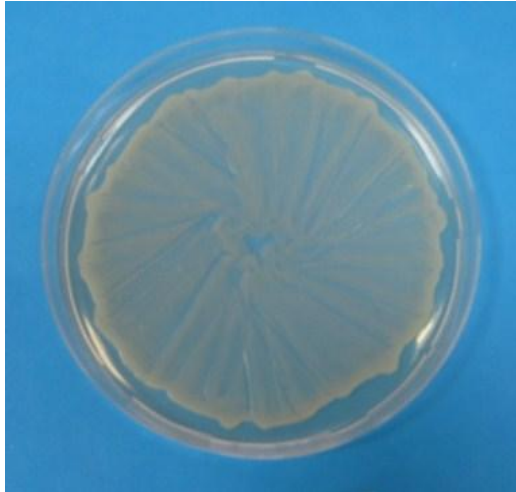
Tablo 6.16. Farklı dozlardaki çinko asetatın *S. aureus* için gözlenen test sonuçları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

	µg/ml	ZnAc
C ₁	400	-
C ₂	200	+
C ₃	100	+
C ₄	50	+
C ₅	25	+
C ₆	12,5	+
C ₇	6,25	+
C ₈	3,125	+
C ₉	1,5625	+
C ₁₀	0,7812	+

Tablo 6.17. Farklı dozlardaki çinko juglan kompleksinin *S. aureus* için gözlenen test sonuçları (+: üreme görüldü, -: üreme görülmedi)

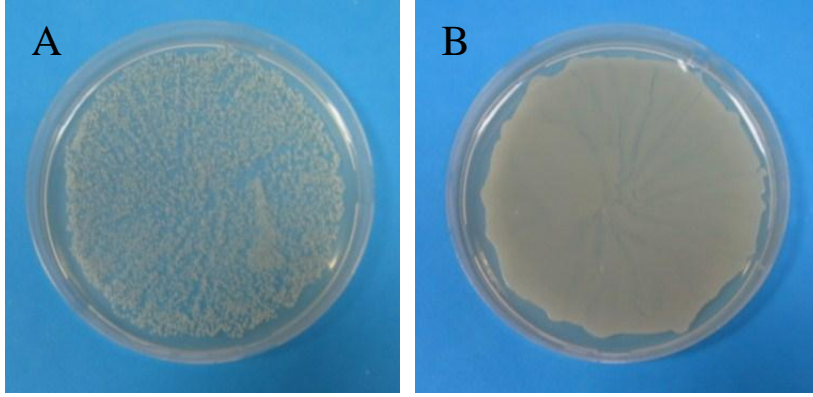
	$\mu\text{g/ml}$	Çinko Juglan Kompleksi
C ₁	100	-
C ₂	50	-
C ₃	25	-
C ₄	12,5	-
C ₅	6,25	+
C ₆	3,125	+
C ₇	1,5625	+
C ₈	0,7812	+

Kontrollerden %10'luk alkol içerenden 0.2 ml Nutrient Agara ekim yapıldı. 24 saat 37 ± 1 °C'deki inkübasyonun ardından besiyerindeki üremeler değerlendirildi. Kontrolde besiyerinde yoğun bakteri üremesi olduğu gözlemlendi (Şekil 6.36).



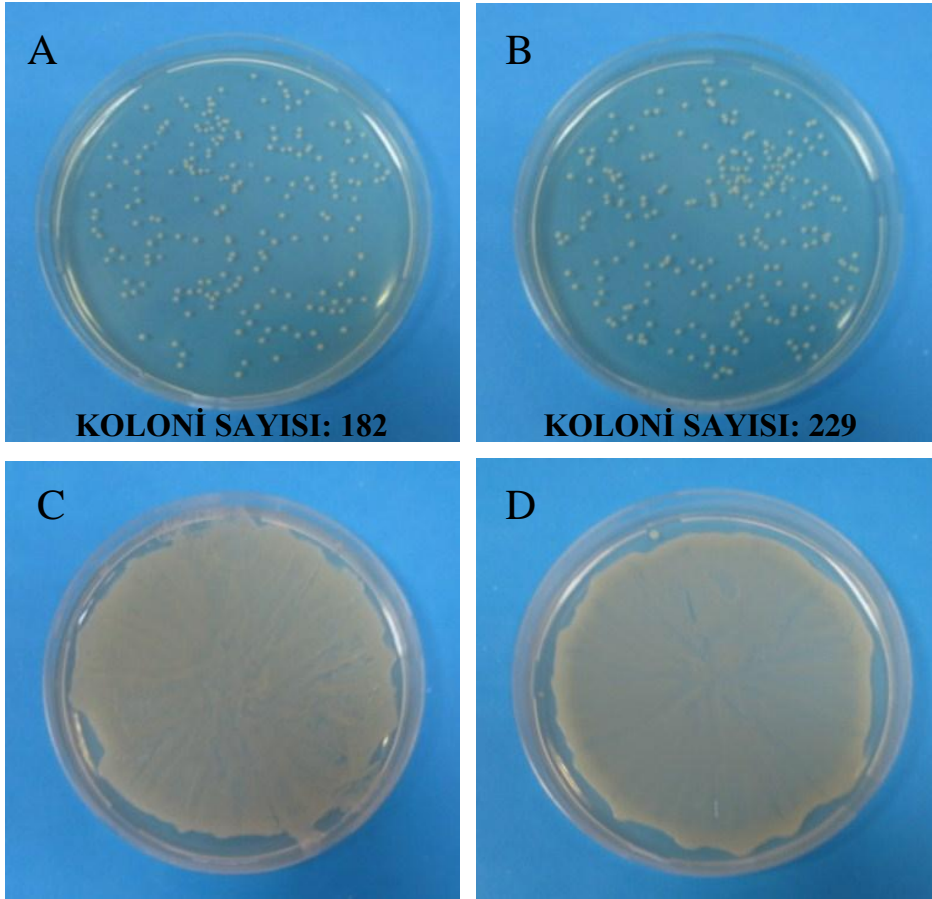
Şekil 6.36. Kontrol için (0.2 ml *S. aureus* ATCC 29213 bakteri süspansiyonu, 0.6 ml Mueller Hinton Broth besiyeri, 0.2 ml %10 alkol çözeltisi) 24 saatlik inkübasyonun ardından besiyerinde meydana gelen *S. aureus* koloni büyümeleri

Zn(Ac)₂.2H₂O için C₁ konsantrasyonu (400 µg/ml) berrak olarak gözlemlendi. C₁ ve C₂ konsantrasyonlarından 0.2 ml alınarak Nutrient Agara ekim yapıldı. 24 saat 37±1 °C'deki inkübasyonun ardından besiyerlerindeki üremeler değerlendirildi. Besiyerlerindeki üremeler incelendiğinde C₁ konsantrasyonunda (400 µg/ml) çinko çözeltilisinin bakteri üremesini inhibe edici etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 6.37).



Şekil 6.37. Zn(Ac)₂.2H₂O için A) 400 µg/ml, B) 200 µg/ml konsantrasyonlarına karşılık gelen *S. aureus* koloni büyüme durumları

Çinko juglan kompleksi için C₄ konsantrasyonu (12.5 µg/ml) berrak olarak gözlemlendi ve C₂, C₃, C₄, C₅ konsantrasyonlarından 0.2 ml alınarak Nutrient Agara yayma ekim yapıldı. 24 saat 37±1 °C'deki inkübasyonun ardından besiyerlerindeki üremeler değerlendirildi. Besiyerlerindeki üremeler incelendiğinde C₄ konsantrasyonunda (12,5 µg/ml) çinko juglan kompleksinin bakteri üremesini inhibe edici etki gösterdiği belirlenmiştir. C₃ (25 µg/ml) konsantrasyonunda ise çinko juglan kompleksinin bakterileri öldürmeye başladığı tespit edilmiştir. Yapılan koloni sayımlarında C₂ (50 µg/ml) için 182 ve C₃ (25 µg/ml) için 229 bakteri kolonisi sayılmıştır. Çinko juglan kompleksinin konsantrasyonu arttıkça bakteri sayısında azalma olduğu görülmüştür (Şekil 6.38).



Şekil 6.38. Çinko juglan kompleksi için A) 50 µg/ml, B) 25 µg/ml, C) 12.5 µg/ml, D) 6.25 µg/ml konsantrasyonlarına karşılık gelen *S. aureus* koloni büyümeleeri

BÖLÜM 7. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Antimikrobiyallerin polimerlerde katkı maddesi olarak kullanımı, malzemeye hem kalite hem de güvenlik kazandırması açısından büyük yarar sağlamaktadır. Patojen mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı direnç kazanması sebebiyle yeni tip biyosidal malzemelerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Mikroorganizmalara etkili olması hedeflenerek geliştirilen malzemenin aynı zamanda çevreye zararsız olması gerekir. Bu açıdan çalışmamızda kullandığımız polikaprolakton biyobozunur özelliği ile elverişli bir polimerdir. Ancak polikaprolakton hidrofobik yapıya sahiptir. Polimere silika ilave edilmesi ile polimer hidrofilik özellik kazanmakta böylece yüzeyin ıslatılması mümkün olmaktadır.

Biyosidal malzeme geliştirilirken göz önünde tutulması gereken noktalardan birisi malzemenin antimikrobiyal aktivitesinin uzun süreli olmasıdır. Polimer kompozitlerde gümüş nitrat veya gümüş komplekslerinin kullanılması durumunda gümüş iyonlarının polimer yüzeyini terk ederek hızlıca sıvı fazda çözündüğü; bu yüzden bu tür kompozitlerin bakteriyel kontaminasyonlara karşı uzun dönemli uygulamalar için etkili olmadığı görülmüştür [73]. Buna karşılık gümüş nanopartiküllerin, çözünmez gümüş komplekslerinin ve gümüş yüklü zeolitlerin polimer içine katılmasının daha elverişli olduğu düşünülmektedir. Bunun nedeni olarak da gümüşün ortamda hemen çözünmediği, partikül yüzeyinden yavaşça gümüş iyonu salınımı meydana geldiği ifade edilmiştir [73].

Gümüş nanoçubukları ve triclosan katılmış polikaprolakton-silika kompozitlerinin kullanıldığı daha önceki çalışmalarımızda, bu kompozitlerin antimikrobiyal etkileri karşılaştırılmıştır. Roll-milling metodu kullanılarak hazırlanan % 0.15 gümüş nano çubuk içeren polikaprolakton-silika kompozit filmlerin ve % 0.25 triclosan içeren polikaprolakton-silika kompozit filmlerin antibakteriyel etkisinin ölçümü sonucunda triclosanın *E. coli*'ye karşı %70, *S. aureus*'a karşı %95 antibakteriyel aktivite

gösterdiği; nano gümüşün ise *E. coli*'ye karşı %100, *S. aureus*'a karşı %94 antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir [73].

Bu çalışmamızda hazırladığımız nano gümüş kaplı silika-polikaprolakton kompozit filmlerinde nano gümüş, silika yüzeyinde bulunduğu nano gümüşün polimer yüzeyini terk edip ortamda çözünmediği; antibakteriyel etkinin, gümüşün katalitik etkisi ile meydana gelen oksijen aktivasyonu sonucu gerçekleştiği ileri sürülebilir. Gümüş polimer yüzeyini terk etmediği için bu tür kompozitler, bakteriyel kontaminasyonlara karşı daha uzun dönemli uygulamalar için etkili olabilir.

Biyosidal malzeme geliştirilirken göz önünde tutulması gereken noktalardan birisi de biyosidal malzemenin uygun maliyetli olmasıdır. Çalışmamızda hazırlanan nano gümüş kaplı silika-polikaprolakton kompozit filmlerinde nano gümüşün, polimer yüzeyini terk etmemesi, kompozitin birden fazla kullanımını mümkün kılarak hem maliyet hem de kullanım açısından büyük faydalar sağlayabilir.

Çalışmamızda 40-63 µm olan silika (Silika-1) ve boyutu 55 µm'den küçük olmak üzere farklı boyutları olan silika (Silika-2) kullanılmıştır. Bu silikalar nano gümüş ile kaplandıktan sonra %10, %20 ve %40 oranında polikaprolakton kompozit filmlerine katılmıştır. Nano gümüş kaplı Silika-1 partiküllerinin %10, %20 ve %40 oranında katıldığı PCL kompozit filmler *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısında sırasıyla % 0, % 74 ve %100 antibakteriyel aktivite göstermiştir. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerinin %10, %20 ve %40 oranında katıldığı PCL kompozit filmler *Escherichia coli* ATCC 25922 karşısında sırasıyla %50, %72 ve %100 antibakteriyel aktivite göstermiştir. Nano gümüş kaplı PCL kompozit filmler *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 karşısında antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Nano gümüş kaplı Silika-2 partiküllerin katıldığı polikaprolakton kompozit filmlerin diğerlerine göre daha fazla antibakteriyel aktivite göstermesinin nedeni, bu partiküllerin daha fazla yüzey alanına sahip olmasından dolayı film yüzeylerinde daha fazla miktarda nano gümüş bulunması ile ilişkili olabilir.

Çalışmamızda nano gümüş kaplı partiküllerin katıldığı polikaprolakton kompozit filmlerin kullanılan dozlarda gram pozitif bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

29213 karşında önemli bir antimikrobiyal etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Egger ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada gram pozitif bakterilerin gümüşün antimikrobiyal aktivitesine daha az duyarlı oldukları bildirilmiştir. Bunun nedeninin bakterilerin farklı yapıdaki hücre duvarlarına sahip olmalarından kaynaklı olabileceği; gram pozitif bakterilerin hücre duvarındaki kalın peptidoglikanın içerdiği teikoik asit ve lipoteikoik asidin güçlü negatif yüke sahip olduğu ve bu negatif yükün serbest gümüş iyonlarının birikimini sağlayarak daha az gümüşün sitoplazmik membrana ulaşmasına izin vermesinden dolayı gümüşe karşı bu bakterilerin daha az duyarlı oldukları ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada nanokompozit malzemenin *Escherichia coli* ATCC 2732 için MIC değerinin 62.5 µg/ml, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 için 250 µg/ml olduğu belirlenmiştir [70].

Bu çalışmamızda ortaya konulan kullanım alanlarına ek olarak, hazırlanan kompozit filmlerin yara iyileştirme ve implant olarak kullanılabilme özellikleri, daha detaylı çalışmalar ile canlı hücre ve dokulara uyumluluğu araştırılabilir. Ayrıca, film yüzeylerinden sıvı ile temas halinde, uzun süreli yıkama ve kullanımlarda oluşabilecek gümüş kaybı ve bunun antibakteriyel aktivite üzerindeki etkileri incelenebilir.

KAYNAKLAR

- [1] KENAWY, el-R., WORLEY, S.D., BROUGHTON, R., The chemistry and applications of antimicrobial polymers: A state-of-the-art review, American Chemical Society, 8(5):1359-1384, 2007.
- [2] SAHAHVERDI, A.R., FAKHIMI, A., SAHAHVERDI, H.R., MINAIAN, S., Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 3:168-171, 2007.
- [3] SONDI, I., SALOPEK-SONDI, B., Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria, Journal of Colloid and Interface Science, 275:177-182, 2004.
- [4] BORGMANN-STRAHSEN, R., “Microbiocides for PVC and other polymers”, Industrial biocides selection and application, D. R. Karsa, David Ashworth(eds), Royal Society of Chemistry, pp. 103-107, Cambridge, 2002.
- [5] SIMPSON, K., Using silver to fight microbial attack, Plastics Additives & Compounding, September/October, 32-35, 2003.
- [6] CHO, K.H., PARK, J.E., OSAKA, T., PARK, S.G., The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient, Electrochimica Acta, 51:956-960, 2005.
- [7] HART, T., SHEARS, P., Tıp Mikrobiyolojisi Renkli Atlas, Özdem Anđ, Mine Anđ Küçüker, O.Şadi Yenen (Editörler), Nobel Tıp Kitabevleri, sf.71, İstanbul, 2001.
- [8] AĞAÇFİDAN, A., ANĐ, Ö., BAL, Ç., BERKİTEN, R., BÜYÜKBABA BORAL, Ö., BOZKAYA, E., BÜGET, E., ERTURAN, Z., GÜRLER, N., ANĐ KÜÇÜKER, M., ÖNER, Y.A., TÖRECİ, K., UZUN, M., YEĐENOĐLU, Y., Tıbbi Mikrobiyoloji 2, Emel Bozkaya (editör), Nobel Tıp Kitabevleri, sf. 1-97, İstanbul, 2005.
- [9] WILSON, W.R., SANDE, M.A., Enfeksiyon Hastalıkları Tanı ve Tedavi, İsmail H.Dündar (editör) , Nobel Tıp Kitabevi, sf. 475-556, İstanbul, 2004.
- [10] BİLGEHAN, H., Klinik Mikrobiyoloji: Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, sf. 4-206, İzmir, 1992.

- [11] KAYSER, F.H., BIENZ, K.A., ECKERT, J., LINDENMANN, J., Tıbbi Mikrobiyoloji, 8.Baskı, Mine Anđ Küçüker, Emel Tümbay, Özdem Anđ (editörler), Nobel Tıp Kitabevleri, sf.153, İstanbul, 1997.
- [12] <http://www.sciencedaily.com/releases/2009/05/090527170308.htm>
06.05.2010 17:12
- [13] MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., DUNLAP, P.V., CLARK, D.P., Biology of Microorganisms, Twelfth edition, Pearson Benjamin Cummings, pp. 66-809, San Francisco, 2009.
- [14] DUERDEN, B.I., REID, T.M.S., JEWSEBURY, J.M., TURK, D.C., A New Short Textbook of Microbial and Parasitic Infection, English Language Book Society, pp.74-76, London, 1987.
- [15] LEVINSON, W., JAWETZ, E., Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, Yedinci baskı, Tuncay Özgünen (editör), Güneş Kitabevi, sf. 93-193, Ankara, 2004.
- [16] BAYSAL, B., “*Escherichia coli*”, Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji, A.Tevfik Cengiz (editör), Güneş Kitabevi, sf. 453-459, Ankara, 2004.
- [17] KILIÇTURGAY, K., GÖKIRMAK, F., TÖRE, O., GEDİKOĞLU, S., GÖRAL, G., HELVACI, S., Klinik Mikrobiyoloji, Kaya Kılıçturgay (editör), Bursa Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri, sf.5-93, İstanbul, 1994.
- [18] <http://www.universityofcalifornia.edu/everyday/agriculture/ecoli.html>
06.05.2010 17:10
- [19] BROCK, T.D., MADIGAN, M.T., Biology of Microorganisms, Sixth edition, Prentice-Hall International, Inc., pp. 338-344, United States of America, 1991.
- [20] RUTALA, W.A., “Antisepsis, disinfection, and sterilization in hospitals and related institutions”, Manual of Clinical Microbiology Sixth Edition, Patrick R. Murray, Ellen Jo Baron, Michael A. Pfaller, Fred C. Tenover, Robert H. Yolken(eds), American Society for Microbiology, pp. 227-245, Washington, D.C., 1995.
- [21] ATLAS, R.M., Microorganisms in Our World, Mosby-Year Book, Inc., pp. 320-333, Missouri, 1995.
- [22] KIRLI, L., Çevre Mühendisleri İçin Mikrobiyoloji, İkinci baskı, Kocaeli Üniversitesi, sf. 151-162, İzmit, 2003.
- [23] ALCAMO, I.E., Fundamentals of Microbiology, Addison-Wesley Publishing Company, pp. 641-666, United States of America, 1983.

- [24] MCDONNELL, G., RUSSELL, D., Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1):147-179, 1999.
- [25] MARTIN, A.R., "Anti-Infective Agents", *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, Eighth edition, Robert F. Doerge(ed), J.B. Lippincott Company, pp.129-187, Philadelphia, 1982.
- [26] UNAT, E.K., *Temel Mikrobiyoloji*, 2.Baskı, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, sf. 136-152, İstanbul, 1993.
- [27] BİLGEHAN, H., *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi*, 10.Basım, Fakülteler Kitabevi Barış Yayınları, sf.189-226, İzmir, 2002.
- [28] MCDONNELL, G.E., *Antisepsis, Disinfection and Sterilization: Types, Action and Resistance*, American Society for Microbiology, pp.79-148, Washington D.C., 2007.
- [29] BHARGAVA, H.N., LEONARD, P.A., *Triclosan: Applications and safety*, *Am J Infect Control*, 24:209-218, 1996.
- [30] HEATH, R.J., RUBIN, J.R., HOLLAND, D.R., ZHANG, E., SNOW, M.E., ROCK, C.O., *Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis*, *The Journal of Biological Chemistry*, 274(16):11110-11114, 1999.
- [31] SOLAR, A., COLARIC, M., USENIK, V., STAMPAR, F., *Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.)*, *Plant Science*, 170:453-461, 2006.
- [32] BABULA, P., MIKELOVA, R., ADAM, V., KIZEK, R., HAVEL, L., SLADKY, Z., *Using of liquid chromatography coupled with diode array detector for determination of naphthoquinones in plants and for investigation of influence of pH of cultivation medium on content of plumbagin in *Dionaea Muscipula**, *Journal of Chromatography B*, 842:28-35, 2006.
- [33] KILINÇ, M., KUTBAY, H.G., *Bitki Ekolojisi*, Palme Yayıncılık, sf.134-135, Ankara, 2004.
- [34] CLARK, A.M., JURGENS, T.M., HUFFORD, C.D., *Antimicrobial activity of juglone*, *Phytotherapy Research*, 4(1):11-14, 1990.
- [35] VELÍŠEK, J., DAVÍDEK, J., CEJPEK, K., *Biosynthesis of food constituents: Natural pigments. Part 1-a Review*, *Czech J. Food Sci.*, 25(6):291-315, 2007.

- [36] SCHIERHOLZ, J.M., LUCAS, L.J., RUMP, A., PULVERER, G., Efficacy of silver-coated medical devices, *Journal of Hospital Infection*, 40:257-262, 1998.
- [37] CLEMENT, J.L., JARRETT, P.S., Antibacterial silver, *Met Based Drugs*, 1(5-6):467-482, 1994.
- [38] CHOPRA, I., The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: A useful development or a cause for concern?, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59:587-590, 2007.
- [39] PERCIVAL, S.L., BOWLER, P.G., RUSSELL, D., Bacterial Resistance to Silver in Wound Care, *Journal of Hospital Infection*, 60:1-7, 2005.
- [40] FENG, Q.L., WU, J., CHEN, G.Q., CUI, F.Z., KIM, T.N., KIM, J.O., A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *J Biomed Mater Res*, 52:662-668, 2000.
- [41] KIM, J.S., KUK, E., YU, K.N., KIM, J.H., PARK, S.J., LEE, H.J., KIM, S.H., PARK, Y.K., PARK, Y.H., HWANG, C.Y., KIM, Y.K., LEE, Y.S., JEONG, D.H., CHO, M.H., Antimicrobial effects of silver nanoparticles, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3:95-101, 2007.
- [42] LOK, C.N., HO, C.M., CHEN, R., HE, Q.Y., YU, W.Y., SUN, H., TAM, P.K.H., CHIU, J.F., CHE, C.M., Silver nanoparticles: Partial oxidation and antibacterial activities, *J Biol Inorg Chem*, 12:527-534, 2007.
- [43] SONG, H.Y., KO, K.K., OH, I.H., LEE, B.T., Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms, *European Cells and Materials*, 11:58, 2006.
- [44] BAKER, C., PRADHAN, A., PAKSTIS, L., POCHAN, D.J., SHAH, S.I., Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 5(2):244-249, 2005.
- [45] PAL, S., KYUNG, Y., SONG, J.M., Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 1712-1720, 2007.
- [46] PANACEK, A., KVÍTEK, L., PRUCEK, R., KOLAR, M., VECEROVA, R., PIZUROVA, N., SHARMA, V.K., NEVECNA, T., ZBORIL, R., Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity, *J Phys Chem B*, 110:16248-16253.
- [47] GONG, P., LI, H., HE, X., WANG, K., HU, J., TAN, W., ZHANG, S., YANG, X., Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄@Ag nanoparticles, *Nanotechnology*, 18:285604-285611, 2007.

- [48] BRAYDICH-STOLLE, L., HUSSAIN, S., SCHLAGER, J.J., HOFMANN, M.C., In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells, *Toxicological Sciences*, 88(2):412-419, 2005.
- [49] HUSSAIN, S.M., HESS, K.L., GEARHART, J.M., GEISS, K.T., SCHLAGER, J.J., In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells, *Toxicology In Vitro*, 19:975-983, 2005.
- [50] BURD, A., KWOK, C.H., HUNG, S.C., CHAN, H.S., GU, H., LAM, W.K., HUANG, L., A comparative study of the cytotoxicity of silver-based dressings in monolayer cell, tissue explant, and animal models, *Wound Repair and Regeneration*, 15:94-104, 2007.
- [51] OBERDÖRSTER, G., OBERDÖRSTER, E., OBERDÖRSTER, J., Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles, *Environmental Health Perspectives*, 113(7): 823-839, 2005.
- [52] SILVER, S., PHUNG, L.T., SILVER, G., Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds, *J Ind Microbiol Biotechnol*, 33: 627-634, 2006.
- [53] IP, M., LUI, S.L., POON, V.K.M., LUNG, I., BURD, A., Antimicrobial activities of silver dressings: An in vitro comparison, *Journal of Medical Microbiology*, 55: 59-63, 2006.
- [54] ATIYEH, B.S., COSTAGLIOLA, M., HAYEK, S.N., DIBO, S.A., Effect of silver on burn wound infection control healing: review of the literature, *Burns*, 33:139-148, 2007.
- [55] LI, Y., LEUNG, P., YAO, L., SONG, Q.W., NEWTON, E., Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles, *Journal of Hospital Infection*, 62:58-63, 2006.
- [56] ÖZDOĞAN, E., DEMİR, A., SEVENTEKİN, N., Nanoteknoloji ve tekstil uygulamaları (bölüm 2), *Tekstil ve Konfeksiyon*, Sayı 4, 225-229, 2006.
- [57] FLIEGER, M., KANTOROVÁ, M., PRELL, A., ŘEZANKA, T., VOTRUBA, J., Biodegradable plastics from renewable sources, *Folia Microbiol*, 48(1):27-44, 2003.
- [58] BHAT, S.V., *Biomaterials*, Narosa Publishing House, pp.51-71, New Delhi, 2002.
- [59] CHU, C.C., "Biodegradable polymeric biomaterials: An updated overview", *Biomaterials principles and applications*, Joon B.Park, Joseph D. Bronzino (Eds), CRC Press, pp.95-115, Florida, 2003.

- [60] AVÉROUS, L., Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A review, *Journal of Macromolecular Science*, C44(3): 231-274, 2004.
- [61] CHOUZOURİ, G., XANTHOS, M., In vitro bioactivity and degradation of polycaprolactone composites containing silicate fillers, *Acta Biomaterialia*, 3:745-756, 2007.
- [62] LI, X., SHI, J., DONG, X., ZHANG, L., ZENG, H., A Mesoporous bioactive glass/polycaprolactone composite scaffold and its bioactivity behavior , *J Biomed Mater Res*, 84A:84-91, 2008.
- [63] SANCHEZ, J.G., TSUCHII, A., TOKIWA, Y., Degradation of polycaprolactone at 50 degree C by a thermotolerant *Aspergillus* sp., *Biotechnology Letters*, 22(10): 849-853, 2000.
- [64] HATTORI, K., TOMITA, N., YOSHIKAWA, T., TAKAKURA, Y., Prospects for bone fixation-development of new cerclage fixation techniques, *Materials Science and Engineering C*, 17:27-32, 2001.
- [65] DUAN, Y.Y., JIA, J., WANG, S.H., YAN, W., JIN, L., WANG, Z.Y., Preparation of antimicrobial poly (ϵ -polycaprolactone) electrospun nanofibers containing silver-loaded zirconium phosphate nanoparticles, *Journal of Applied Polymer Science*, 106:1208-1214, 2007.
- [66] KOHN, J., LANGER, R., "Bioresorbable and bioerodible materials", *Biomaterials science an introduction to materials in medicine*, Buddy D. Ratner, Allan S. Hoffmann, Frederick J. Schoen, Jack E. Lemons (Eds), Academic Press, 64-72, California, 1996.
- [67] ŞAŞMAZEL, H.T., Üç-boyutlu, biyobozunur/biyobozunur olmayan polimerik taşıyıcıların biyosinyallerle plazma modifikasyonu ve hücre kültür uygulamaları, *Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi*, 2007.
- [68] SEYMOUR, R.B., DEANIN R.D., *History of Polymeric Composites*, Vnu Science Press Bv, Netherlands, 1987.
- [69] FURNO, F., MORLEY, K.S., WONG, B., SHARP, B.L., ARNOLD P.L., HOWDLE, S.M., BAYSTON, R., BROWN, P.D., WINSHIP, P.D., REID, H.J., Silver nanoparticles and polymeric medical devices: A new approach to prevention of infection?, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54:1019-1024, 2004.
- [70] EGGER, S., LEHMANN, R.P., HEIGHT, M., LOESSNER, M.J., SCHUPPLER M., Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material, *Applied and Enviromental Microbiology*, 75(9): 2973-2976, 2009.

- [71] PARK, H.J., KIM, S.H., KIM, H.J., CHOI S.H., A new composition of nanosized silica silver for control of various plant diseases, *Plant Pathol. J.*, 22(3): 295-302, 2006.
- [72] KALYON, B.D., OLGUN, U., Antibacterial efficacy of triclosan-incorporated polymers, *Am J Infect Control*, 29:124-126, 2001.
- [73] OLGUN, U., TUNÇ, K., ÖZASLAN V., Preparation of antimicrobial polycaprolactone-silica composite films with nanosilver rods and triclosan using roll-milling method, *Polymers Advanced Technologies*, DOI: 10.1002/pat.1524, 2009.
- [74] ÖZASLAN, V., Yeni tür antimikrobiyallerin sentezi ve aktivitelerinin tayini, Y.Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, sf. 55-56, 2009.
- [75] YOSHIDA, K., TANAGAWA, M., ATSUTA, M., Characterization and inhibitory effect of antibacterial dental resin composites incorporating silver-supported materials, *J Biomed Mater Res*, 47:516-522, 1999.
- [76] www.hsingnan.com.tw/NOVARON.pdf 08.03.2010 14:35
- [77] IMAZATO, S., Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems, *Dental Materials*, 19:449-457, 2003.
- [78] OLGUN, U., Communication, 2009 (Bu çalışmada kullanılan nano gümüş kaplı silika ve PCL kompozit ince filmler ile bunların hazırlanmasında uygulanan yöntemler Yrd. Doç. Dr. Uğursoy Olgun tarafından geliştirilmiş olup her türlü ticari kullanım ve yayın hakkı saklıdır. Bu yüksek lisans çalışmasında sadece bilimsel amaçlı olarak kullanılmak üzere temin edilmiştir.)

ÖZGEÇMİŞ

Ayşegül Hoş 1978’de Kırıkkale’de doğdu. 1989 yılında Isparta Ülkü İlkokulundan, 1996 yılında Kocaeli Anadolu Lisesinden mezun oldu. 1997’de başladığı İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü 2001’de bitirdi. 2002 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Öğretmenliği Programından mezun oldu. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda 2007 yılında yüksek lisans eğitimine başladı.