

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

**YENİ TÜR ANTİMİKROBİYALLERİN SENTEZİ VE
AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Vildan ÖZASLAN

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ

Haziran 2009

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YENİ TÜR ANTİMİKROBİYALLERİN SENTEZİ VE
AKTİVİTELERİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Vildan ÖZASLAN

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

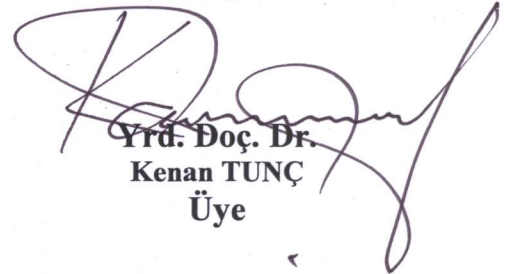
Bu tez 15 / 06 /2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.



**Yrd. Doç. Dr.
Uğursoy OLGUN
Jüri Başkanı**



**Yrd. Doç. Dr.
Şule BARAN
Üye**



**Yrd. Doç. Dr.
Kenan TUNÇ
Üye**

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimde ve tez çalışmam sürecince gösterdiği ilgi ve yardımlarından dolayı değerli hocam ve danışmanım Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Kenan TUNÇ'a,

Ayrıca çalışmalarımın her aşamasında beni yönlendiren, her konuda bilgisini ve tecrübelerini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Uğursoy OLGUN'a,

Çalışma hayatımdaki katkılarından dolayı Sayın Uzm. Dr. Jale AYTAÇ SARIDOĞAN, Sayın Uzm. Dr. Aydın AYDINLI ve diğer çalışma arkadaşlarıma,

Ayrıca tezimin her aşamasında yanımda olan ve her zaman desteklerini gördüğüm tüm aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Not : Bu çalışma Sakarya Üniversitesi tarafından yüksek lisans tez projeleri kapsamında desteklenmiştir, Proje No: BAPK 2007-50-01-060.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
SUMMARY.....	xii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
BULAŞICI PATOJENİK BAKTERİLER.....	3
2.1. Giriş.....	3
2.2. <i>Escherichia coli</i>	4
2.2.1. <i>E. coli</i> 'nin görünüm ve boyanma özellikleri.....	5
2.2.2. <i>E. coli</i> 'nin üreme ve biyokimyasal özellikleri	6
2.2.3. <i>E. coli</i> 'nin direnç mekanizması.....	7
2.2.4. <i>E.coli</i> 'nin hastalılık yapıcı özellikleri.....	8
2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.3.1. <i>S.aureus</i> 'un görünüm ve boyanma özellikleri.....	10
2.3.2. <i>S.aureus</i> 'un üreme ve biyokimyasal özellikleri.....	11
2.3.3. <i>S.aureus</i> 'un direnç mekanizması.....	12
2.3.4. <i>S.aureus</i> 'un hastalık yapıcı özellikleri.....	13

BÖLÜM 3.

BAKTERİYAL STERİLİZASYON VE KORUNMA	14
3.1. Giriş.....	14
3.2. Antimikrobiyal Dezenfeksiyon.....	16
3.3. Antiseptik ve Dezenfektanların Etki Mekanizmaları.....	19
3.4. Antibakteriyal Fenolik Maddeler.....	21
3.4.1. 2,4,4'-trikloro-2'-hidroksidifenileter (Triclosan).....	21
3.4.2. Triclosanın etki mekanizması.....	22
3.4.3. Triclosanın kullanım alanları.....	23
3.4.4. Triclosan ve çevresel sorunları.....	24
3.5. Ağır Metal İçeren Antimikrobiyal Maddeler.....	26
3.5.1. Gümüş bileşikleri (Gümüş sulfadiazin, Gümüş nitrat).....	26
3.5.2. Nano gümüş	27

BÖLÜM 4.

POLİKAPROLAKTON YAPILI BİYOMALZEMELER	30
4.1. Giriş.....	30
4.2. Polikaprolakton Kompozitler.....	30
4.3. Polikaprolakton Biyomalzemelerin Önemi ve Tıpta Kullanımı.....	31

BÖLÜM 5.

MATERYAL VE METOT.....	32
5.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Malzemeler.....	32
5.2. Polikaprolakton-Silika Kompozit Filmlerin Hazırlanması.....	32
5.3. Hazırlanan Kompozit Filmlerin Karakterizasyonu.....	33
5.4. Antibakteriyal Aktivite Ölçümleri.....	33

BÖLÜM 6.

DENEYSEL BULGULAR.....	34
6.1. Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ .H ₂ O Hazırlanması	34
6.2. Nano Gümüş Çubukların Hazırlanması.....	36
6.3. Polikaprolakton-Silika Kompozitlerin Hazırlanması.....	38
6.4. Polikaprolakton-Silika İnce Filmlerin Hazırlanması.....	39

6.5. Antibakteriyal Aktivite Ölçümleri.....	44
6.5.1. İnhibisyon aralığı ölçüm yöntemi.....	46
6.5.2. Koloni sayım yöntemi.....	50
BÖLÜM 7.	
DENEYSEL BULGU SONUÇLARI.....	55
BÖLÜM 8.	
TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	67

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

μm	: Mikrometre
μg	: Mikrogram
ε	: Epsilon
$^{\circ}\text{C}$: Derece santrigrat
cfu	: Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
nm	: Nanometre
ATR	: Attenuated Total Reflection
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EMB	: Eosin Methylene Blue (Eozin Metil Mavisı)
FDA	: Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FT-IR	: Frouer Transform Infrared (Frouer Dönüşümlü Kızılötesi)
GI	: Gastro İntestinal
MIK	: Minimaum İnhibisyon Konsantrasyonu
MRSA	: Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
NaTR	: Sodyum triclosan
PCMX	: Para-chloro-meta-xylenol
PCL	: Polikaprolakton
SiO_2	: Silika
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu
SS	: <i>Salmonella Shigella</i>
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskopu
TR	: Triclosan
UV	: Ultraviyole (Morötesi)
XRD	: X-ışınları Difraksiyonu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Bakteri hücresinin genel görünüşü.....	4
Şekil 2.2.	<i>E. coli</i> genel görünüm.....	5
Şekil 2.3.	<i>E. coli</i> 'nin hücre duvarı.....	6
Şekil 2.4.	<i>Staphylococcus aureus</i> genel görünüm.....	10
Şekil 2.5.	<i>Staphylococcus aureus</i> 'un hücre duvarı.....	11
Şekil 3.1.	Sterilizasyon yöntemleri.....	15
Şekil 3.2.	Triclosanın molekül yapısı.....	22
Şekil 4.1.	Polikaprolaktonun sentezi ve kimyasal yapısı.....	30
Şekil 5.1.	Kompozit filmlerin hazırlanmasında kullanılan çift silindirli haddenin fotoğrafı.....	33
Şekil 6.1.	Triclosanın kristal yapısı.....	35
Şekil 6.2.	Sodyum triclosanın $Na^+TR^- (TR)_2 \cdot H_2O$ kristal yapısı.....	35
Şekil 6.3.	Nano gümüş çubukların x-ışınları toz difraksiyonu (XRD).....	37
Şekil 6.4.	Nano gümüş çubukların taramalı elektron mikroskop (TEM) görüntüsü.....	37
Şekil 6.5.	Nano gümüş çubukların etanoldeki UV- görünür bölge spektrumunu.....	38
Şekil 6.6.	PCL-silika kompozit malzeme yapısının gösterimi.....	39
Şekil 6.7.	Kompozit karışımların çift silindirli hadde kullanılarak film haline getirilmesi işlemi	40
Şekil 6.8.	Nano Ag içeren PCL-silika ince filmlerin ve PCL filmin FT-IR yüzey analizi.....	40
Şekil 6.9.	Gümüş nano çubuk katkılı PCL-silika kompozit malzeme yapısının gösterimi.....	41
Şekil 6.10.	Silika-Su arayüzeyinde hidrojen bağları ile meydana gelen etkileşim.....	41
Şekil 6.11.	PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü.....	42

Şekil 6.12.	Gümüş nitrat katkılı PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü.....	42
Şekil 6.13.	Triclosan katkılı PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü.....	43
Şekil 6.14.	Sodyum triclosan katkılı PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü.....	43
Şekil 6.15.	Nano gümüş çubuk katkılı PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü.....	44
Şekil 6.16.	İnhibisyon aralığı ölçüm yönteminin şematik gösterimi.....	45
Şekil 6.17.	(a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>E.coli</i> ' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>E.coli</i> ' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (c) $\text{Na}^+\text{TR}^- (\text{TR})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>E.coli</i> ' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>E.coli</i> ' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>E.coli</i> ' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı.....	48
Şekil 6.18.	(a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (c) $\text{Na}^+\text{TR}^- (\text{TR})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin <i>S. aureus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı.....	49

Şekil 6.19. (a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *E.coli* kolonilerinin sayısı (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *E.coli* kolonilerinin sayısı. (c) $\text{Na}^+\text{TR}^- (\text{TR})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *E.coli* kolonilerinin sayısı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde hiç koloni büyümesi gözlenmemiştir. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit hiç koloni büyümesi gözlenmemiştir..... 53

Şekil 6.20. (a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı. (c) $\text{Na}^+\text{TR}^- (\text{TR})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı..... 54

TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1.	Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin bazı biyositler için MIK değerleri.....	19
Tablo 3.2.	Antiseptik ve dezenfektan maddelerin etki mekanizmaları.....	20
Tablo 3.3.	Triclosanın etki mekanizması diğer maddelerle kıyaslama yapılmıştır.....	23
Tablo 6.1.	Farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin özellikleri (İnhibisyon aralığı ölçüm yöntemi).....	46
Tablo 6.2.	TR ve Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ . H ₂ O katkılı kompozit filmlerin gösterdiği antimikrobiyal etki.....	47
Tablo 6.3.	AgNO ₃ ve Nano Ag katkılı kompozit filmlerin gösterdiği antimikrobiyal etki.....	47
Tablo 6.4.	Farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin özellikleri (Koloni sayım yöntemi).....	50
Tablo 6.5.	Farklı kompozit filmler için ölçülen koloni sayıları (0.2 ml ekim).....	51
Tablo 6.6.	Bakteri ekimi yapılan farklı kompozit filmlerin yüzeylerinden altı saat sonunda 20 ml serum fizyolojik ile yıkanarak ölçülen bakteri derişimleri	51
Tablo 6.7.	Farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmler için bulunan antibakteriyal aktivite (%R) değerleri.....	52

ÖZET

Anahtar kelimeler: Triclosan, nano gümüş, polikaprolakton, antimikrobiyal aktivite

Antimikrobiyal maddeler ve bunlarla hazırlanan polimerler sanayide, hastanelerde, gıda sektöründe, doku ile uyumlu implantlarda, insanlarla etkileşimde bulunulan birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Enfeksiyonları önlemede antimikrobiyal maddelerle gerçekleştirilen sterilizasyonun ve dezenfeksiyonun önemi çok büyüktür. Bu çalışmada, sağlık alanında geniş kullanım alanına sahip polikaprolaktonun fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesine yönelik olarak daha hidrofilik karakterli ve antimikrobiyal özellik gösteren nano gümüş, gümüş nitrat, triclosan ve sodyum triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozitleri ince film halinde hazırlanarak aktiviteleri ölçülmüştür. Daha önceden detaylı olarak çalışılmış ve etkinliği bilenen gümüş nitrat ile triclosan, kıyaslama amacıyla standart maddeler olarak kullanılmıştır.

İnhibisyon aralığı ölçüm yöntemi ile yapılan testlerde triclosan ve triclosan tuzu içeren kompozit filmler için benzer sonuçlar elde edilmiştir. Koloni sayım yöntemi kullanılarak , %12.5 silika ve %0.15 nanogümüş içeren polikaprolakton-silika kompozit filmlerin yüzeyindeki *E. coli* ve *S. aureus*'un sterilizasyonu, 37 ± 1 °C'de 6 saat inkübasyondan sonra değerlendirilmiştir. Film yüzeyinde 6 saat sonunda *E. coli* ve *S. aureus* için bakteriyel kontaminasyonun sırasıyla %100 ve %94 azaldığı gözlenmiştir. %0.25 triclosan içeren polikaprolakton-silika kompozit filmlerinde ise 6 saat sonra bakteriyel kontaminasyonda *E. coli* ve *S. aureus* için sırasıyla %70 ve %95 azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, kendi kendine yüzeyini temizleyebilen polimer ve kompozit malzemelerin üretiminde nano gümüş parçacıklarının büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

SYNTHESIS OF NEW ANTIMICROBIALS AND DETERMINATION OF THEIR ACTIVITIES

SUMMARY

Key words: Triclosan, nanosilver, polycaprolactone, antimicrobial activity

Antimicrobial substances and prepared polymers with them are used widespread in industry hospitals, food sector, implants well adjusted with tissue and many area in human infulance. Sterilisation and disinfection made with antimicrobial substances in order to prevent infections are very important. In this study, nanosilver, silver nitrat, triclosan and sodium triclosan doped polycaprolactone-silica composit, composed of antimicrobial and more hidrofilic characteristic in order to improve polycaprolactone functional features used in medical sector are prepared as thin films and their activities were measured. Detailed before and defined effection silver nitrat and triclosan are used as standart substances for comparison.

According to results of inhibition measurement methdod, triclosan and triclosan salt gave similar results. According to colony count method, sterilisation of *E. coli* and *S. aureus* on polycaprolactone silica composit films including 12.5% silica and 0.15% nanosilver, are evaluated after 37 ± 1 °C and 6 hours incubation. It has been observed that, on the film surface after 6 hours, *E. coli* and *S. Aureus* bacterial contamination were decreased 100% and 94 % respectively. In the 0.25% triclosan policaprolactan-silika composite films, it has been observed that after 6 hours, *E.coli* and *S.aureus* bacterial contamination were decreased 70% and 95% respectively. The results obtained in this study show that, nano silver particles have a big potential in the production of polymer and composite materials able to clean their surface by themselves.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Mikrobiyal enfeksiyon bir çok alanda özellikle, medikal cihazlar, ilaçlar, sağlık bakımı ve hijyenik uygulamalar, su arıtma sistemleri, hastane ve diş cerrahi ekipmanı, tekstil, gıda paketlenme ve gıda saklama alanlarında en ciddi komplikasyonlardan biridir. Antimikrobiyaller hem akademik hem de endüstriyel araştırmalarda, bir çok maddeye kaliteli faydalar sağlama potansiyelleri nedeniyle ilgi çekmeye devam etmektedirler. Bununla birlikte düşük moleküler ağırlıklı antimikrobiyal ajanlar çevreye toksite olmaları ve kısa süreli antimikrobiyal kabiliyetleri gibi dezavantajlara sahiptirler. Bu problemlerin üstesinden gelmek için antimikrobiyal fonksiyonel gruplarla birleşen düşük moleküler ağırlıklı antimikrobiyal ajanlar, polimer moleküllerle birleştirilebilirler [1].

Benzersiz ve ayırt edici özellikleri ile solüsyon olarak sentezlenmiş gümüş nano partiküller çok yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahiptir [2]. Geçmiş çalışmalarda gümüş içeren sistemler yüzeylerin sterilizasyonu için başarıyla kullanıldılar. Mikrobiyal kontaminasyonlara karşı ürünler içeren nanogümüşün kullanımı bir çok patent ve ticari uygulamaların konusu olmuştur. Plastik, tekstil, el losyonları, eldivenler, hava filtreleri, oyuncak ve dokuma gibi bir çok endüstriyel uygulamada kullanıma yönelik olarak antibakteriyel ürünlere ilgi artmaktadır. Geniş bir antimikrobiyal madde aralığı, empoze etme ve yüzey işleme süreci için mevcuttur [3].

Daha önceki sonuçlar gümüş yüklü zirkonyumfosfat nano paçacıkları içeren fiberlerin önemli bakteriyostatik aktiviteleri ve iyi biyo uyumluluğundan dolayı potansiyel yara sargı uygulamaları için yeni bir materyal olabileceğini ileri sürmüştür [4]. Bildiğimiz gibi gümüş uzun zamandır yara ve yanıkların tedavisi için geniş spektrumlu ve oldukça etkili antimikrobiyal ajan olarak bilinmektedir [5].

Triclosan (2,4,4' -trichloro-2' -hydroxydiphenyl ether) polimerlerin içine katılan , çok kullanılan geniş spektrumlu antimikrobiyal bir maddedir. Bununla birlikte , triclosan ile ilgili çevresel kirlenme problemleri, triclosana karşı bakteriyal direncin büyüme olasılığı ve kompozit malzemelerin yüzeyinden triclosanın zamanla azalması en çok karşılaşılan problemlerdir [3].

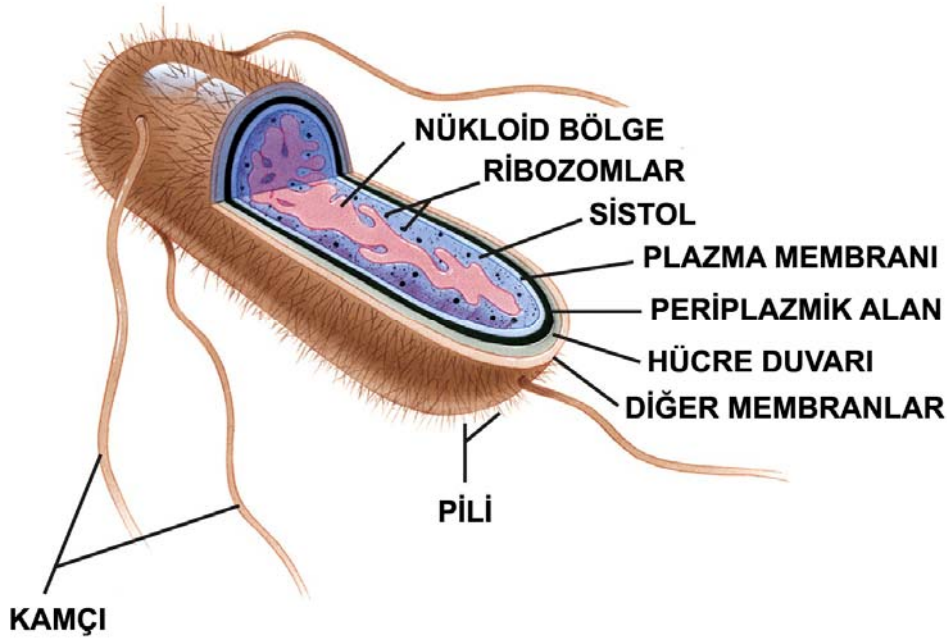
BÖLÜM 2. BULAŞICI PATOJENİK BAKTERİLER

2.1. Giriş

Patojen olarak nitelenen bakterilerin konak hücreye tutunma konak hücre ve dokularını invaze etme, toksin salgılama, konağın immün sisteminden kurtulabilme gibi özelliklerinin olması gerekir. Bakteriyal enfeksiyonun patogenezi; enfeksiyöz sürecin başlamasını hastalık belirti ve bulgularını oluşturan mekanizmaları içerir. İnsan vücudunda floraları oluşturan bakteriler hastalık yapmaksızın organizmayla dengeli bir biçimde yaşamaktadırlar. Normal flora içinde hastalığa sebep olabilen önemli bakteriler de yer alırlar, örneğin *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*. Organizmada zaman zaman patojen bakteriler bulunabilir. Bu bakteriler her zaman enfeksiyon etkeni olmazlar. Latent, subklinik enfeksiyonlara neden olabildikleri gibi konağın taşıyıcı olmasına sebep olabilirler [6].

Bir bakteriye hastalık etkenidir diyebilmek için patojen olduğunu ispatlamak gerekir. Bu durum 1884'de Robert Koch tarafından "Koch Postülası" ile açıklanmıştır. Bu kurallara göre; hastalık tablosunu oluşturduğu düşünülen mikroorganizma hasta kimseden izole ve identifiye edilmeli, elde edilen mikroorganizma deney hayvanlarında da aynı hastalığı oluşturmalı ve hastalık oluşturulan denekten aynı mikroorganizma izole edilmelidir. Hastalık etkeni olduğu düşünülen bir bakteri araştırılırken, konağın immün yanıtının da göz önüne alınması gerekir. Bu nedenle Koch kuralına antikor araştırılması da ilave edilmiştir. Günümüzde mikroorganizma genetik biliminin ilerlemesi, Koch postülasına moleküler düzeyde kurallar getirilmesine neden olmuştur. Bu kurallar patojen mikroorganizmalarda spesifik virülans genlerinin araştırılması ile ilgilidir [6].

Bakteriler patojenitelerinin varlık, yokluk ve derecelerine göre; patojen, oportunistik patojen ve nonpatojen şeklinde sınıflandırılırlar. Bazı bakteri türleri her zaman patojen kabul edilir, sağlıklı organizmalarda bulunmazlar, örneğin *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pestis*. Oportunistik patojen bakteriler ise immün sistemi baskılanmış kimselerde hastalık geliştirirler, örneğin *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas* türleri. Bir kısım bakteriler ise normal flora üyesidirler, uygun ortamlarda hastalık geliştirirler. Örneğin *Escherichia coli* gastrointestinal sistem florasının bir üyesi olup, üriner sistem infeksiyonları ve bakteriyemilere neden olur [6].



Şekil 2.1. Bakteri hücresinin genel görünüşü [7]

2.2. *Escherichia coli*

E. coli, Escherichia ailesi içinde en önemli tür ve insan için önemli bir fırsatçı patojendir. *E.coli* doğumdan bir kaç saat veya bir kaç gün içinde, sıcak kanlı hayvanların GI yoluna yerleşir. Çoğu *E. coli* suşları kalın bağırsak ve ince bağırsağın distal bölgesinde yüzeyi kaplayan mukusa tutunabilir. *E. coli* kalın bağırsak florası içinde en yaygın fakültatif anaerob türdür. Bağırsakların normal flora üyesi olan *E.*

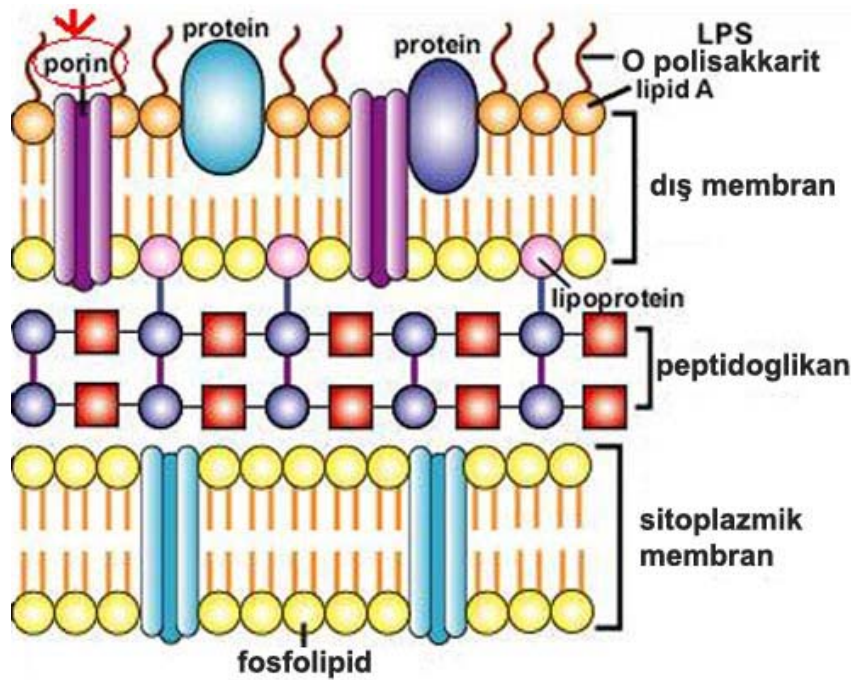
coli bağırsakların patojen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu önlemeye çalışır. *E.coli* aynı zamanda çoğu bakteriyel infeksiyonun sorumlusudur. Üriener yol infeksiyonu bağırsak infeksiyonları ve bağırsak dışı infeksiyonları (bakteriyemi, menenjit, pnömoni gibi) yapabilir [6].



Şekil 2.2. *E. coli* genel görünüm [8]

2.2.1. *E. coli*'nin görünüm ve boyanma özellikleri

E. coli yaklaşık olarak 2-6 μm boyunda ve 1.0- 1.5 μm eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa bazı kültürlerde de normalden uzun ve hatta y harfi şeklinde dallanan flamanlı şekiller bulunabilir. Her iki şeklin birlikte bulunması olasıdır. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığıyla hareketli olmakla beraber hareketleri yavaştır. Hatta hareketsiz görünebilirler. Çoğunlukla hemaglutinasyon yapan ve hemaglutinasyonun mannoz tarafından önlendiği tip 1 fibriyaları bulunur. Az bir kısmında hemaglutinasyonu mannoza dirençli tipte fimbriya bulunur. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanır ve gram olumsuzdur. Etrafında kapsül maddeleri bulunmakla birlikte organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur [9].



Şekil 2.3. *E. coli*'nin hücre duvarı [10]

2.2.2. *E. coli*'nin üreme ve biyokimyasal özellikleri

E. coli buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Değişebilen (fakültatif) aneorop olup optimal üreme ısısı 37 °C'dir. 15-45 derecelerde üreyebilirler. Özellikle 44°C'de üreyebilmeleri benzer bakterilerden (*Enterobacter* ve *Serratia*) ayırt edici bir özelliktir. Ortalama pH 7.2 de iyi ürerler. Buyyonda homojen bulanıklık yaparlar. Jelozda hafif kabarık, yuvarlak, düzgün 1-2 mm çapında parlak S tipi koloniler yaparlar. Bazı kökenlerin kolonları hafif mukoid koloniler şeklindedir. R kolonileri de oluşabilir. Jelatinde kolonileri küçük, saydam sonradan beyaz, kesiftir. Jelatini, serum koagüleyi eritmezler. Bazı kökenler ve özellikle idrar yolu enfeksiyonlarından soyutlananlar kanlı jelozda hemoliz yapabilirler [9].

Koli basilleri birçok şekerleri asit ve gaz meydana getirerek parçalarlar. Laktoza olan etkileri bu şekere etki etmeyen diğer bağırsak bakterilerinden ve özellikle *Salmonella* ve *Shigella*'lardan ayırtıcı özellikleridir. Bu nedenle pratikte *E. coli*'nin

dışkıda birlikte bulunduğu laktoz olumsuz bakterilerden ayırt edilmesinde içinde laktoz ve bir ayraç bulunan çeşitli besiyerleri kullanılır. EMB besiyeri bunlardan en çok kullanılanlardan biri olup içinde laktoz ve eozin metilen mavisi vardır. *E. coli* bakterileri bu besiyerinde laktozu parçalayıp asit oluşturduklarından kolonileri mavimsiyah parlaklıklı, laktozu parçalayamayan bakterilerin kolonileri renksizdir. Aynı temele dayalı SS agar, Mc Conkey jelozu vb. besiyerleinde de koli basilleri kırmızı koloniler yaparlar. Bazı koli kökenleri laktozu geç (48 saatten sonra) parçalarlar. Pek nadir bazı kökenleri de hiç etki etmezler [9].

Koli basilleri glikoz, maltoz, mannitol, ksiloz, ramnoz, arabinoz, sorbitol, trehaloz ve gliserolu asit ve gaz yaparak parçalarlar. Sukroz, salisin dülsitol ve rafinoz üzerine etkileri değişken olup adonitol, inozitol ve sellebiozu nadiren fermante ederler. Nişastadan asla gaz oluşturmazlar. *E.coli* bakterileri triptofandan indol yaparlar. Metil kırmızısı testi olumlu, Voges Proskauer testi olumsuzdur. Simon'nun sitratlı besiyerinde üremezler. Bu dört karakter yani indol (I), metil kırmızısı (M), Voges Proskauer (V) ve sitrat (C) birlikte incelenir ve ilk harflerin birleşmesinden oluşan IMVIC testleri adını alırlar. Özellikle bağırsak bakterilerini bu testlerle olan ilişkilerine göre ayırt etmek mümkündür. Bu durumda *E.coli* için IMVIC testleri (+ + - -) dir denir. *E.coli* bakterileri bazı kökenleri dışında üreyi parçalamazlar. Genellikle bazı kökenleri dışında H₂S için ayıraçlı besiyerlerine siyahlandırarak kadar H₂S yapmazlarsa da sisteinli besiyerlerinde az miktarlarda H₂S yaptıkları saptanmıştır [9].

2.2.3. *E. coli*'nin direnç mekanizması

E.coli oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençlidir, dezenfektanlara karşı dirençsizdir. Malaşit yeşili, brillant yeşili ve fuksin gibi boyalar, safra, safra tuzları, sodium tetrasyonat, bizmut sitrat, sodium sülfat, sodium dezoksikolat selenit tuzlarına karşı dirençleri *Salmonella* ve *Shigella* gibi bakterilere göre daha az olduğundan bu maddeler belli konsantrasyonlarda besiyerlerine konularak *E. coli* basillerinin inhibisyonu ile birlikte buldukları *Salmonella* ve *Shigella*'lar için ayırtıcı ve çoğaltıcı özellik kazandırılır [9].

E.coli kökenlerini çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen bulaşıcı direnç plazmitleri taşıdıklarından bugün dışkıdan izole edilen *E.coli* bakterilerini bir kısmı özellikle hastane ortamından ayrılan kökenlerin önemli bir kısmı Ampicillin, Cephalothin, Streptomycin, Tetracyclin'ler sulfonamid, bir kısmı da Chloramphenicol, Kanamycin ve Trimetoprim'e ve başka kemoterapötiklere direnç kazanmışlardır [9].

2.2.4. *E.coli*'nin hastalık yapıcı özellikleri

Escherichia coli memelilerin ve kuşların bir bağırsak florası konusudur. Aslında normal bağırsak florasında bulunup ve burada diğer flora bakterileri ve organizma ile bir denge altında kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma (putrefaksiyon) – mayalaşma (fermantasyon) dengesini düzenlenmesinde ve beslenme işle ilgili bazı hususlara yardımcı olur. Ancak belirli koşullar altında *E.coli* insan ve hayvanlar için patojen olup gerek yangı gerekse sürgün şeklinde ortaya çıkan bağırsak hastalıklarına etken olur. Bağırsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri ve çeşitli klinik tablolara yol açmaları sık görülen durumlardır. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları akciğer, periton ve menenjlere ulaşan *E.coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar. Organizmanın normal savunma gücünün azalması örneğin yeni doğanlarda, yaşlılarda diğer hastalıkların terminal safhalarında, immunosupresyon durumlarında vena ve uretra kateterizasyonlarından sonra koliform bakterilerin doku ve kana yayılması için gerekli koşullar ortaya çıkar [9].

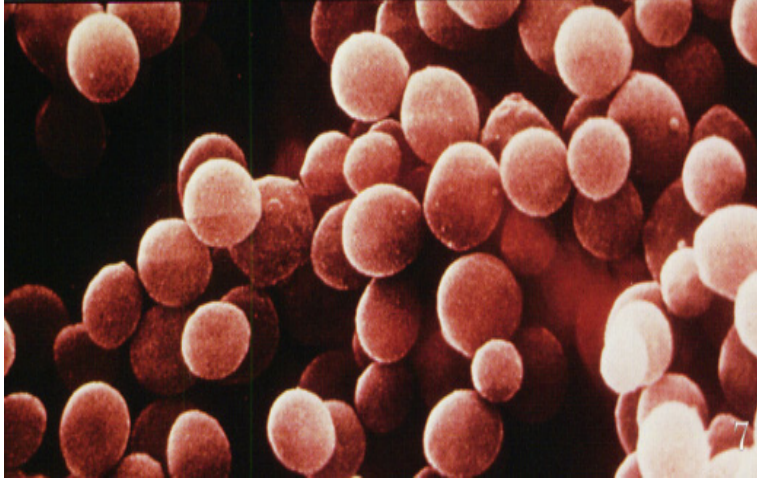
1,2,4,6,7,8,9,11,18a,18b; 22,25,50 ve 75 sayılı O serovarları idrar yolu enfeksiyonlarında en çok rastlanan tiplerdir. Aynı şekilde özellikle hastane ve kreşlerde ve daha çok yaz mevsiminde küçük çocuklarda salgınlar şekline yaz sürgünlerine neden olan serovarlar vardır ki bunlardan daha çok rastlanılanları 18b, 18c, 20, 25, 26, 44, 51, 55, 75, 78, 86, 111, 114, 117, 119, 126, 127, 128, 147, 149'dur. Yine bazı kökenler kolera toksinine banzer termolabil bir enterotoksin yaparak akut sürgünlere etken olurlar. Bunlar bağırsak epitelini bozmazlar ve epitel içine girip çoğalmazlar. Buna karşın bir kısım kolilerde bağırsak epitelyumini geçip *Shigella dysenteriae*'ninkine benzer yangılı lezyonlar ve hastalıklara meydan

verirler. 28a, 28c, 112a, 112c, 115, 124, 136, 143, 144, 152 ve 164 bunlardandır. Ayrıca bazı kökenler ısıya dayanıklı bir toksin oluştururlar. Her iki toksin plazmit yönetiminde oluşturulur [9].

2.3. *Staphylococcus aureus*

Gram pozitif bakteriler, doğada oldukça yaygındır ve bir çok insanda flora üyesi olarak bulunurlar. Ancak aynı mikroorganizmalar yüzeysel bir enfeksiyondan, yaşamı tehdit eden ciddi hastalıklara kadar değişen spekturumda birçok klinik tabloya da neden olabilir. İnsanda en sık hastalığa neden olan türler ise *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermitis* ve *Staphylococcus saprophyticus*'tur. Stafilokoklar ilk kez 1980 yılında Ogston tarafından “mikrokoklar, aktiviteleri düşük ve yayılma alanları sınırlı olduğunda yüzeysel süpüratif inflamasyona yol açan, ancak etkinlikleri daha fazla olursa ve yayılma imkanı bulurlarsa septisemi ve piemi oluşturan mikroorganizmalardır” şeklinde tanımlanmıştır. Bu açıklamanın üzerinde 100 yıldan fazla bir süre geçmesine, bu süre içinde bir çok yeni antibiyotik bulunmasına ve bilimdeki hızlı ilerlemeye karşın, *S.aureus* hala bir çok insan enfeksiyonundan sorumlu ve tehlikeli bir patojen olma özelliğini sürdürmektedir. Bu süre içinde ve halen hem toplum hem de hastane kökenli *S.aureus* enfeksiyonlarının görülme sıklığı sürekli artmakta, aynı zamanda bu bakterilerdeki çoklu ilaç direnci nedeniyle oluşturdukları hastalıkların tedavisi giderek güçleşmektedir [11].

S.aureus adı altında anılan tür özellikle koagülaz olumlu, manitolu aerob ve anaerob koşullarda asit oluşturarak parçalayan alfa toksin yapan, novabiocin'e duyarlı, insan ve diğer sıcakkanlı hayvanlarda geniş çapta piyogen toksik ve besin zehirlenmesi niteliğinde enfeksiyonlarına etken olan stafilokoklar toplanır. Doğada oldukça yaygın olan, tozda toprakta, eşya üzerinde insan ve hayvan deri, burun mukozası, ağız nazofarinks floralarında bulunan *S. aureus* bakterilerinin günümüz için en önemli yolları kullanılmakta olan kemoterapotik maddelerin bir çoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır [9].



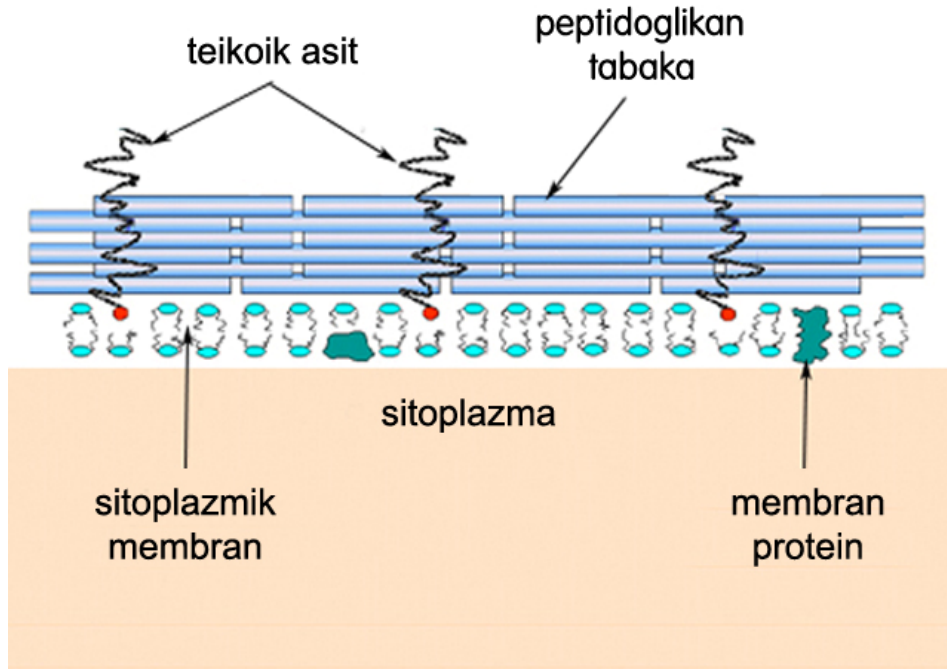
Şekil 2.4. *Staphylococcus aureus* genel görünüm [12]

2.3.1. *S.aureus*'un görünüm ve boyanma özellikleri

Teker teker incelendikleri zaman stafilokok hücreleri diğer koklara göre daha çok olmak üzere tam yuvarlağa yakın şekildedir. Ayrıca gerek aynı ve gerekse çeşitli kültürlerde elde edilen stafilokoklar hücre görünümü bakımından birbirinden önemli bir ayırım göstermezler. Stafilokoklar yaklaşık olarak 1 μm çapındadırlar. Üreme esnasında bölünme sonucu meydana gelen hücreler birbirinden ayrılmazlar ve üç boyut yönünce çoğaldıklarından üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar. Katı besiyerlerinde daha açık olarak oluşa gelen bu kümeler lam lamel arasında ve ılık ortamda incelenirse üç boyutlu, kurutulup boyandıktan sonra incelenirse iki boyutlu üzüm salkımına benzerler. İrinden ve sıvı besiyeri kültürlerinden yapılan preparatlarda bu kümeciklerin 3-5 kottan ibaret daha az taneli olarak oluşturdukları ve bazı kez ikişer koklar halinde diplokoklara, yada 3-4 bakteriden ibaret tetrad ve kısa zincirler şeklinde buldukları saptanır. Tipik üzüm salkımı görünümü vermeyen satafilokokları benzer ve karışan görünümdeki streptokoklarda ayırt etmede kullanılan en yararlı yöntem katalaz testi olup mikrokok familyasına dahil koklarda ve dolayısıyla stafilokoklarda deney olumlu olduğu halde streptokoklarda olumsuzdur [9].

Stafilokoklar çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram olumludurlar. Eski kültürlerde bazı koklar çabuk renksizleşerek gram olumsuz gibi görünürler.

Sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdürler. Bazı kökenlerde belirgin ve polisakkarit yapısında bir kapsül yada bir mukus katmanı olur. Hücre çeperlei özel yapıda olup peptidoglikan, teioik asit ve türe özgü presipitinogen protein birimlerini içerir bazı kimyasal maddeler ve özellikle penisilinlerin , lizostafin ve asitlerin etkisi ile erirler veya L formlarına dönüşümler. Lizozimin eritici etkisine dirençlidirler [9].



Şekil 2.5. *Staphylococcus aureus*'un hücre duvarı [13]

2.3.2. *S.aureus*'un üreme ve biyokimyasal özellikleri

Stafilokoklar basit besiyerleri dahil birçok besiyerlerinde ürerlerse de kanlı besiyerlerinde daha iyi çoğalırlar. Fakültatif anaeropturlar. Oksijenli ortamda üremeyi yeğ tutarlarsa da belli miktarda oksijenli ve hatta tamamen oksijensiz ortamda bile üreyebilirler. Optimal olarak 37 °C de ve pH 7.4 de ürerler. Jelöz besiyerlerinde bolca ürer ve yuvarlak kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1-2 mm çapında koloniler yaparlar. Uygun ortamda koloniler 6-8 mm çapına ulaşabilirler. Gerek bu kolonilerin ve gerekse katı besiyerlerindeki üreme ortamının renkleri stafilokoklarda bazı ayrılıklar gösterirler. Bir kısım stafilokoklar altın sarısı renge pigment oluştururlar ki koloniler bu renkte olur. Bir de porselen beyazı

renginde koloni oluşturan stafilokoklar vardır. İnsanlardan hastalık etkeni olarak ayrılan stafilokok kökenleri bu ikisi arasında sarı ve turuncunun çeşitli renklerinde koloni yapabilirler. Pigmentleri karotenoid yapısında olup hücre zarında yer almaktadır. Pigment oluşması üreme ortamı koşullarından etkilenmektedir [9].

İrinli enfeksiyon yapan *S. aureus*'ların hemen hepsi koagulaz olumludur. Genel olarak pigment için O₂ gerekli olup oda ısısında daha iyi oluşur. Aerop koşullarda üretilen *S.aureus* katalaz oluştururlar. Bu katalaz diğer stafilokok türlerinin oluşturduğu katalazlardan antijen yapısı bakımından ayrımlıdır. % 10 ve daha az NaCl içeren ortamlarda iyi, %15 NaCl lü ortamlarda zayıf ürerler. Çoğu kökenleri 10-45 °C (optimal 30-37 °C) de ve pH 4.2 – 9.3 (optimal 7.0-7.5) sınırlarında üreyebilirler [9].

2.3.3. *S.aureus*'un direnç mekanizması

Stafilokoklar oldukça dayanıklı bakterilerdir. Diğer bakterilerin çoğu 60 °C ve 30 dakikada bekletilmekle öldükleri halde stafilokoklar bir saat süre sonra bile canlılıklarını saklı tutabilirler. Aynı şekilde sporsuz olmalarına rağmen kuruluğa karşı dayanıklılıkları da fazladır. İrin içerisinde kurutulurlarsa haftalarca canlı kalırlar. Sodyum klorürün % 9-10 yoğunluğunda bile üremelerini sürdürürler. Bazı dezenfektanların alışlagelmiş konsantrasyonlarına dayanabilirlerse de kristal viyole ve malaşit yeşili gibi boyalar, alçak konsantrasyonlarda da onları öldürürler [9].

Genel olarak sülfonamid ve antibiyotik maddelere karşı diğer bakterilere göre dayanıklı oldukları gibi stafilokoklar hızla kemoterapötiklere direnç kazanarak onlardan etkilenmeyen kökenler haline dönüşürler. Her yeni çıkan antibiyotik, başlangıçta etkili olduğu halde zamanla stafilokoklar ona karşı direnç kazanırlar. Bu olay özellikle kemoterapiklerin en çok kullanıldığı hastane ortamında gelişir. Betalaktamlara karşı direnç bunları parçalayan betalaktamaz fermenti yapmaları ile oluşur. Bu fermentin oluşumu ekstra kromozomal genetik bir element (plasmid) kontrolü altında olup bu elementler bakteriyofaj aracılığı ile bakteriden bakteriye taşınırlar [9].

2.3.4. *S.aureus*'un hastalık yapıcı özellikleri

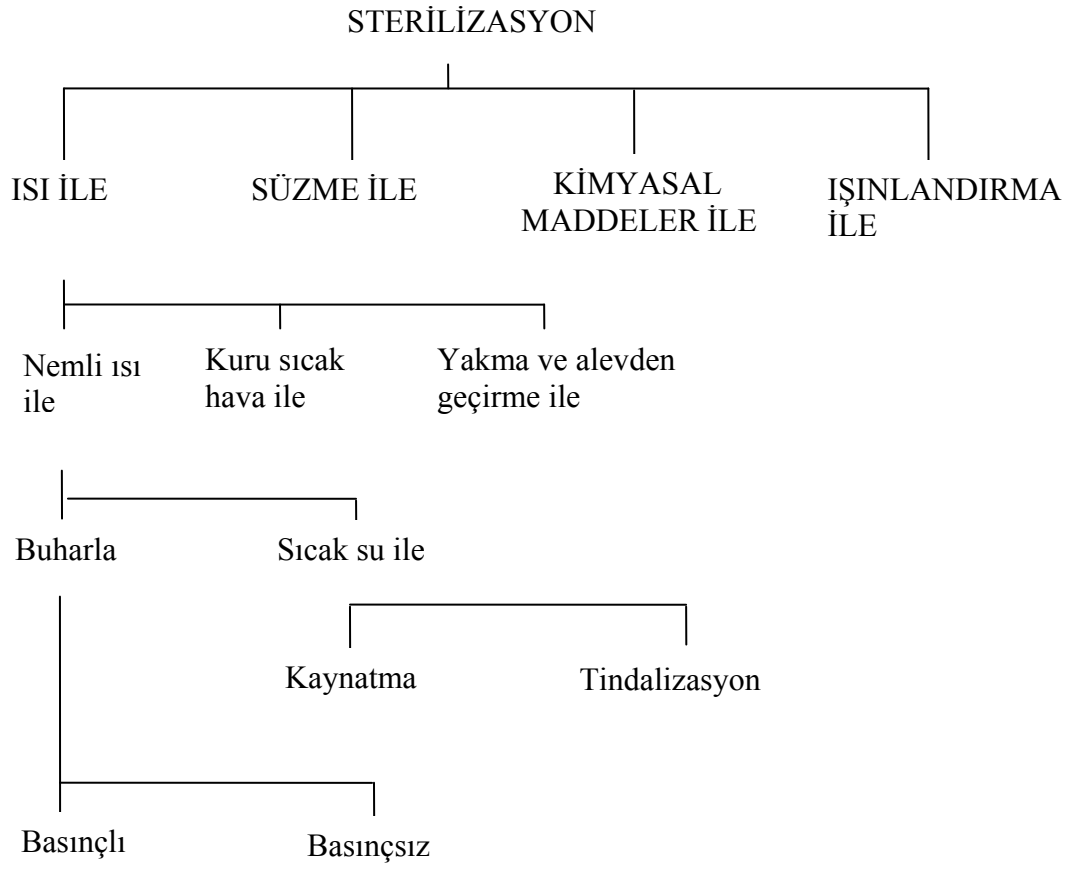
Organizmaya giren stafilocoklar yoğun ve karışık bir savunma mekanizması ile karşılaşılır. Oponinler ve koplemanın C₃, C₅ parçaları lökosit ve makrofajların fagositoz aktivitesini artırır. Bu mekanizmada olabilecek herhangi bir eksiklik stafilocokların enfeksiyon riskini ve ağırlığını çoğaltır. Stafilocoklar besin zehirlenmelerinden lokal irinlenmeler ve nihayet ağır sepsislere varacak kadar çeşitli ve değişik derecede hastalandırıcılık özelliği gösterebilirler [9].

Stafilocoklar organizmaya girdikleri yerde yerel olarak üremek ve süpürasyonlara neden olmak suretiyle hastalık yapabildikleri gibi dokular arasına ve kana yayılmak ve buralarda çeşitli ekstra sellüler maddeler oluşturarak değişik klinik tablolara neden olabilirler. Hastalandırıcılıklarına etkili olan çeşitli maddeler şunlardır; sitolitik toksinler, alfa toksin, beta toksin, gama toksin, delta toksin, lökosidin, enterotoksinler, epidermolitik toksin [9].

BÖLÜM 3. BAKTERİYAL STERİLİZASYON VE KORUNMA

3.1. Giriş

Sterilizasyon, cansız maddeler üzerinde bulunan mikroorganizmaların, sporlar dahil tüm yaşam şekillerinin öldürülmesi işlemidir [14]. Sterilizasyon işlemleri fiziksel ve kimyasal yöntemlerle yapılır. Temiz materyalin sterilizasyonu kirli olan eşyalardan daha kolay olur. Organik maddeler bir zırh gibi koruyucu görev yaptığından, kirlilikler içinde yer alan mikroorganizmaların yok edilmesi daha güç olmaktadır. Sterilizasyon için önce yıkama işlemi tatbik edilir ve ısıya dayanıklı materyal ısı yardımıyla, ısıya dayanıklı olmadığı düşünülen materyal ise etilen oksit, düşük ısılı buhar + formaldehitte veya glutaraldehit prepatları ya da hidrojen peroksit ile soğuk sterilazasyona tabi tutulur [15].



Şekil 3.1 . Sterilizasyon yöntemleri [15]

3.2. Antimikrobiyal Dezenfeksiyon

Dezenfeksiyon bir cisim veya maddenin birlikte bulunduğu hastalandırıcı mikroorganizmalardan arındırılması işlemidir. Tam bir dezenfekteleme için ortamdaki hastalandırıcı bakteri, mantar, protozoon vb. tüm mikroorganizmaların vegetatif şekillerinin ölmeleri ve virüslerin inaktive olmaları gereklidir. Görüldüğü gibi dezenfeksiyon tüm mikroorganizmaları ve mikroorganizmaların tüm şekillerini kapsamaktadır. Bazı bakteri endosporları dezenfeksiyon işleminden sonra canlı kalabilirler [16]. Dezenfeksiyon için fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılır. Dezenfeksiyon işleminin başarılı olup olmamasında çok sayıda faktör rol oynar. Maddenin işlem öncesinde temizlenmesi, mikrobiyal kontaminasyonun türü ve miktarı, sıcaklık, pH, dezenfeksiyon için kullanılan kimyasalın konsantrasyonu ve işlemin süresi gibi [14].

Antisepsi, özellikle vücudun yüzeyel doku (deri, mukoza vb.) ve lezyonlarının hastalandırıcı mikroorganizmalardan olabildiğince temizlenmesi işlemidir. Bir bakıma dezenfeksiyonun dokulara uygulanmasıdır.

Dezenfeksiyon ve antisepsiyi etkileyen bir dizi olay vardır [16] :

1. Dezenfektan ve antiseptiklerin yoğunluğu: Yoğunluk arttıkça mikropların üzerindeki etkileri de artar. Bu artış bir noktaya kadar kimyasal maddenin yoğunluğu ile orantılı gider. Ulaşılan bir sınırdan sonra etki değişmez. Bazı kimyasal maddeler yüksek yoğunlukta mikrobisit, düşük yoğunluklarda mikrobiyostatik etki yaparlar. Bu duruma göre her dezenfektan ya da antiseptiğin üzerinde etkili olduğu bir optimal yoğunluğu vardır ki uygulamada bu yoğunluğu kullanılır.
2. Dezenfektan yada antiseptiğin etki süresi: Bu tür kimyasal maddelerin gerekli etkiyi gösterebilmeleri için mikroorganizmalarla birlikte bulunmaları gereken bir optimal süreye gereksinim vardır.
3. Ortamın sıcaklığı: Isı derecesi arttıkça dezenfektan yada antiseptiğin, içinde arıtılmış olduğu sıvıdaki iyonlaşma derecesi ve dolayısıyla etkinliği artma göstermektedir.

4. Ortamın pH derecesi: Ortamın pH derecesi nötralden ne kadar uzaklaşırsa mikroorganizmaların dezenfektan ve antiseptiklere olan dirençleri de o kadar azalır. Bu nedenle bu kimyasal maddelerin en etkin oldukları bir en az bir de en çok pH sınırları vardır.
5. Ortamda bulunan mikroorganizmaların çevresini saran organik maddeler. Birlikte buldukları kan, serum, mukus, dışkı, doku artıkları vb. gibi maddeler mikroorganizmaların dezenfektan ve antiseptikler ile doğrudan ilişki kurmalarını engellediklerinden ve ayrıca bu tür organik maddeler, bu kimyasal maddelerin yapılarını bozabildiklerinden etkinliğin azalmasına neden olurlar. Özellikle mikroorganizmaların üzerindeki etkileri protein denatürasyonu mekanizmasına dayanan dezenfektan ve antiseptikler bu koşullardan daha çok etkilenebilirler.
6. Ayrıca ortamda bulunabilecek ve dezenfektan yada antiseptik ile kimyasal antagonist olan başka kimyasal maddelerin bulunması da onların etkinliğini bozar. Örneğin demir kloür ve karbon, fenollerin etkisini azaltan maddelerdir.
7. Yüzey gerilimi azaltıcı maddelerin bulunması dezenfektan ve antiseptiklerin ıslatma ve yayılma yeteneğini arttırarak mikroorganizmalarla daha kolay ve doğrudan ilişki kurmalarını sağladığından olumlu yönde etkili olurlar.
8. Ortamın ozmotik basıncının yüksek olması mikroorganizmaların hücre suyunun azalmasına neden olarak dirençlerini arttırır.
9. Mikroorganizmalara bağlı etmenler: Mikroorganizmaların cinsine türüne göre dezenfektanların etkisi değişik olabildiği gibi onların buldukları yaşam evresine göre de etki ayrımı gösterir. Örneğin vegetatif şekiller daha duyarlı, sporlar daha dirençli, logaritmik üreme dönemindeki mikroplar daha duyarlı, stasyonere üreme dönemindekiler daha dirençlidirler.
Ayrıca ortamdaki mikroorganizma sayısının çokluğu da olumsuz yönde etki göstererek dezenfektanın etkili olabilmesi için mikropların onun daha çok ve yoğun miktarları ve daha uzun süre temasta kalmasını gerektirir. Aynı türe ait bir topluluktaki mikroplar bir dezenfektana aynı derecede duyarlı olmayabilirler. Toplulukta çok duyarlı mikroplar olduğu gibi dezenfektanlardan etkilenmeyen dirençli mutanlar da bulunabilir.
10. Ağır metallerin oligodinamik etkisi: Gümüş, bakır, altın gibi ağır metaller birlikte buldukları mikroorganizmalar öldürücü yada üremelerini

engelleyici dezenfektan etki yaparlar. Bu etki metallerin ortama yayılan iyonlarının etkisi ile olmaktadır.

Kimyasal dezenfeksiyon yapılmadan önce daha uygun bir yöntem kullanılıp kullanılmayacağı mutlaka araştırılmalı, gereksiz yere bu işlem uygulanmamalıdır. Aksi halde kimyasal dezenfektanlara karşı direnç gelişimi ve ekonomik kayıplar söz konusu olur [17,18].

Yaygın olarak kullanılan bazı kimyasal antimikrobiyal malzemeler aşağıda gösterilmiştir [4,18,19].

1. Yüzey aktif ajanlar (suda eriyebilen ve lipitleri eritebilen maddelerdir. Sabun deterjan vb.)
2. Kuaterner amonyum bileşikleri
3. Çeşitli organik asitler ve türevleri
4. Ağır metaller (gümüş nitrat yenidoğanda gonokoksik konjoktivitte kullanılır, bakır sülfat havuzlarda alglerin büyümesini önler, selenyum bileşikleri antifungal etkilidir)
5. Halojenli bileşikler (klorit)
6. Klor ve hipoklorit (içme suyunun dezenfeksiyonunda sıklıkla kullanılır)
7. İyot ve iyodofor (antiseptik özelliğindedirler) (betadin)
8. Alkoller
9. Fenol ve fenol deriveleri (fenolikler) (organik materyalle kontamine malzemelerde kullanılır) (lizol) (canlı dokularda kullanılmaz)
10. Oksitleyici ajanlar (hidrojen peroksit) (hem antiseptik hem de dezenfektan özelliğindedir) (katalaz enzimi içeren doku ve bakteriler bu maddeyi inaktive eder) (derin dokuları oksijenlendirir ve anaeroplara öldürür)
11. Alkilleyici ajanlar (formaldehit, glutaraldehit, etilen oksit)
12. Bazı boyalar
13. Diğer ajanlar

Tablo 3.1. Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin bazı biyositler için MİK değerleri [20]

Kimya maddesi	MİK (µg/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, dezenfektan ve koruyucu maddeler, hücrede özgül bir hedefi bulunan antibiyotiklerden daha geniş bir etki spektrumuna sahiptir; çünkü bunların mikroorganizmalar üzerinde daha çok hedefi bulunmaktadır. Antibiyotiklerde olduğu gibi biyosit maddeler de değişik mekanizmalarla mikroplar üzerinde üremeyi durdurucu veya öldürücü etki gösterir. Bunların özellikle bakteriler üzerine etki mekanizmaları diğer mikroorganizmalara (virüs, protozoon) göre daha iyi belirlenmiştir. Aynı madde bir veya daha fazla mekanizma ile etki edebilir. Biyositler, hücre duvarını bozma (sentezi önleme, lipidleri, eritme), sitoplazma zarını bozma, protoplazmayı pıhtılaştırma, hücre içi bileşenlerinin dışarıya sızmasına neden olma, hücre homeostazini bozma, mikropların enzim, koenzim ve diğer protein yapılarını bozma (oksitleme, alkilleme vb.), elektron transportu ve oksidatif fosforilasyonu inhibe etme, makromoleküllerle etkileşme veya bunların sentezini önleme gibi mekanizmalarla etki etmektedir [21,22].

Tablo 3.2. Antiseptik ve dezenfektan maddelerin etki mekanizmaları [20,23]

Hedef	Antiseptik/dezenfektan	Etki şekli
Hücre duvarı, dış membran	Gluteraldehit EDTA ve diğer permeabilizerler Katyonik biyositler: klorheksidin diasetat, KAB, polihekzametilen biguanid, dibrompropamidin izotiyonat	Proteinlerin, peptidoglikanın –NH ₂ gruplarıyla etkileşim; gram pozitif bakterilerde peptidoglikanın çapraz bağlanması; gram negatif bakterilerde hücre duvarı proteinleriyle etkileşim Gram negatif bakteriler: Mg ²⁺ un çıkarılması, bazı LPS'lerin salınması Dış membranın hasarlanması ve biyositin kendi girişini hızlandırması
Sitoplazma zarı	KAB Klorheksidin Diaminler Hekzakorofen Polihekzametilen biguanid, aleksidin Fenol bileşikleri Metal bileşikleri (civa, gümüş, bakır)	Fosfolipid tabakaları içeren genel membran hasarı Düşük yoğunlukta hücre bütünlüğünü etkiler, yüksek yoğunlukta sitoplazmada pıhtılaşma yapar Aminoasitlerin sızmasını indükler Membran bağımlı elektron transport zincirini inhibe eder Membran lipidlerinin faz ayrışması ve asidik fosfolipitlerin domain oluşturması Genel membran hasarı sonucu sızıntı; bazıları mikroorganizmanın parçalanmasına sebep olur Protein ve enzimlerdeki -SH gruplarıyla etkileşim yaparlar
Makromoleküllerin çapraz bağlanması	Formaldehit Gluteraldehit	Proteinler, RNA ve DNA'nın çapraz bağlanması Hücre duvarı ve başka yerlerde proteinlerin çapraz bağlanması
DNA'a eklenme	Akridinler	Akridin molekülünün DNA'daki iki baz tabakası arasına eklenmesi
Tiyol gruplarıyla etkileşim	Gümüş bileşikleri	Membran bağlı enzimler etkilenir
DNA üzerine etkiler	Halojenler Hidrojen peroksit, gümüş iyonları	DNA sentezi inhibisyonu DNA zinciri kırılması
Oksidize eden maddeler	Halojenler Peroksijenler	Tiyol gruplarının disulfidlere, sulfoksitlere veya disulfoksitlere oksidasyonu Hidrojen peroksit: enzim ve proteinlerdeki tiyol gruplarını oksidize eden serbest hidroksi radikallerin (-OH) oluşumuna bağlı aktivite PAA: protein ve enzimlerdeki tiyol gruplarının bozulması

3.4. Antibakteriyal Fenolik Maddeler

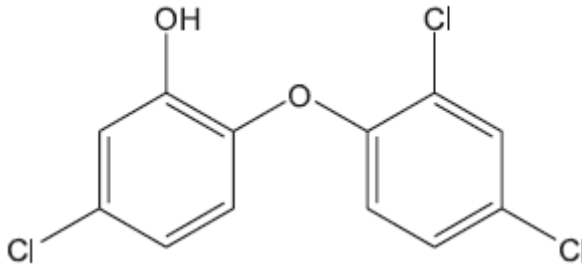
Fenollerin, antibakteriyal, antifungal ve antiviral etkileri vardır. Bunlar genel protoplazma zehirleri diye bilinir; üstelik membran aktif özellikleri vardır. Fenol, hücre membranını hasarlayıp potasyum dahil hücre içi bileşenlerinin hücre dışına çıkışına neden olur. Yüksek fenol konsantrasyonları sitoplazma içeriğini koagüle eder, enzimleri inaktive eder. Plazma zarını hasarlayıp, hücre içi bileşenlerin dışarı çıkmasına neden olarak antifungal etki gösterir [22,23].

Bisfenollerden triclosan özellikle gram pozitif bakterilere etkili olmakla beraber, yeni formülasyonlarla gram negatif bakteriler ve mayalar üzerine etkisi artırılmıştır. EDTA ile kombine edilmiş triclosan dış membran geçirgenliğini artırır. Triclosan esas olarak sitoplazma membranı üzerine etki gösterir [20,23].

Bisfenollerden olan diğer bir madde heksaklorofendir. Bu madde elektron transport zincirinin membran bağlı kısmını inhibe eder. Sızıntı indüksiyonu yapar, protoplast lizisine neden olur, solunumu inhibe eder [20]. Fenolik bileşiklerden halofenoller (kloroksilenol) mikrop membranları üzerine etki eder [21,22].

3.4.1. 2,4,4'-trikloro-2'-hidroksidifenileter (Triclosan)

Triclosan (2,4,4'-trikloro-2'-hidroksidifenileter) ilk olarak İsviçre'de Ciba-Geigy Şirketi tarafından sentetik olarak 1960'lı yılların başında üretilmiştir. Tatsız, kokusuz, beyaz renli, kristalimsi bir toz olan triclosanın yapısı şekil 3.2'de verilmiştir. Moleküler ağırlığı 289,5 g/mol ve erime noktası ise 56-58 °C arasında değişmektedir. Suda fazla çözünmeyen triclosan bazik çözeltilerde suya göre daha fazla çözünürken çoğu organik çözeltilerde ise oldukça iyi çözünmektedir [24].



Şekil 3.2. Triclosanın molekül yapısı [25]

3.4.2. Triclosanın Etki Mekanizması

Daha önce yapılan çalışmalar triclosanın primer etkisinin stoplazmik membranda olduğunu göstermiştir. *E. coli* ile yapılan çalışmalarda triclosan subinhibitör konsantrasyonlarda esansiyel besin alımını inhibe etmektedir. Oysa daha yüksek bakterisidal konsantrasyonlarda selüler komponentlerin hızlı salınımına ve sonra da hücre ölümüne neden olmaktadır. Diğer araştırmalar triclosanın hedefi olarak fati asit biyosentezinin önemini aydınlatmaktadır [26].

İdeal bir antiseptik geniş bir etki spektrumuna sahip olmalı, hızlı ve uzun süreli etki göstermelidir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de de alkol, klorheksidin, iyodoforlar, triclosan ve para-kloro-metaksinelol bu amaçla kullanılan antiseptiklerdir [27,28].

Gram pozitif bakteriler (MRSA dahil) üzerine etkilidir, ancak Gram negatif mikroorganizmalara özellikle *P. aeruginosa* üzerine zayıf etkilidir. Bakteri sporları, mikobakteriler ve virüslere karşı düşük aktivite gösterirler. Bakterilerin hücre sitoplazmik membranı üzerine ayrıca protein, yağ asitleri ve RNA sentezi üzerine etki eder. Bakterisidal etkinlik kısa süreli ve orta derecelidir. % 1'lik konsantrasyonları MRSA'lara karşı etkili bulunmuştur [29].

Ameliyat öncesi hastanın antiseptiklerle duş yapmasının deride mikrobiyal koloni sayısını azalttığı gösterilmiştir. Yediyüzden fazla hastanın değerlendirildiği bir

çalışmada, klorhexidinin bakteriyel koloni sayısını 9 kez, povidon-iyodun 1.3 kat, triclocarban sabunların ise 1.9 kat azalttığı gösterilmiştir [30].

Tablo 3.3. Triclosanın etki mekanizması diğer maddelerle kıyaslama yapılmıştır [31]

Ajan	Mekanizma	Gram pozitif	Gram negatif	Etki hızı
Alkol	Protein denaturasyonu	Çok iyi	Çok iyi	En hızlı
Chlorhexidine	Hücre membranı yıkımı	Çok iyi	İyi	Orta
Iodine/Iodophorlar	Oksidasyon	Çok iyi	İyi	Orta
PCMX	Hücre membranı yıkımı	İyi	Kötü	Orta
Triclosan	Hücre membranı yıkımı	İyi	İyi	Orta

3.4.3. Triclosanın Kullanım Alanları

Bir Bifenol olan triclosan etkisini derhal gösteren ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip kimyasal bir maddedir [32]. Özellikle bakterilere karşı oldukça etkin olan triclosan üzerine yapılan antibakteriyel çalışmalar sonunda yağ asiti sentezinin inhibisyonu sonucu bakterileri öldürdüğü anlaşılmıştır [33]. Bir antibiyotik olarak da tanımlanabilen triclosan, oldukça kuvvetli antibakteriyel özelliğinin yanında, az da olsa bir miktar antifungal ve antiviral etkilere de sahiptir [34]. Triclosan kuvvetli antibakteriyel özelliği sebebiyle ilk olarak 1960'lı yıllarda deodorant sabunlarda ve koltukaltı deodorantlarında kullanılmıştır. Daha sonraları 1972'de ameliyathanelerde ve 1985'de diş macunlarında kullanılmaya başlanmıştır [35].

Günümüzde triclosan, dünya çapında birçok farklı ürünün yapısında antibakteriyel ajan olarak bulunmaktadır [24]. Triclosanın popülerliği, etkisini derhal gösteren ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olmasının yanı sıra, uygun miktarlarda kullanılması şartı ile insan derisi ve ağız sağlığı için herhangi bir olumsuz etki göstermemesidir. İnsanlar ve laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan

son derece yoğun çalışmalar neticesinde, triclosanın %1 ve daha az miktarlardaki konsantrasyonlarının insanlara herhangi bir olumsuz etkisi olmayacağını göstermiştir [35]. İnsanlarda triclosan metabolizması üzerine yapılan bir çalışmada ise triclosanın vucudu değişmeden idrar ve dışkı ile terk ettiği gösterilmiştir [36].

Şampuanlar, elsabunları, diş macunları, gargara sıvıları, duş jelleri, el losyon ve kremleri, sıvı el sabunları ve deodorantlar gibi kişisel bakım ürünlerinin yanısıra ameliyat eldivenleri, kumaşlar, plastik mutfak eşyaları, plastik oyuncaklar, hatta halı ve kilimlerin de yapısında antibakteriyel ajan olarak triclosan bulunur [24,34,35]. Örneğin antimikrobiyal tabakalar [37,38], antibakteriyel içeren polimerler [39-41] ve triclosan (TR) 2,2,4'-triclo-2'-hidroksidifenil eter [42]; steril kumaş yüzeylerin yapımında kullanmak için geliştirilebilir. Bununla birlikte bu ürünler antimikrobiyal direncin (acil olarak - tehlikeden) korunmasını önlemek için gösterilmesine gerek duyarlar [43].

3.4.4. Triclosan ve Çevresel Sorunları

Kimyasal açıdan oldukça kararlı bir ürün olan triclosanın dünya çapındaki yaygın kullanımı çevremizde birikmesine sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalar triclosanın yerleşim yerlerinden atık sular içerisinde çevreye yayılıp, akarsular, göller ve denizlerde biriktiğini göstermiştir [44,45]. Bu nedenle batı ülkelerinin çoğunda çevresel suları triclosandan temizlemek için özel arıtım çalışmaları yapılmakta fakat yine de bir miktar triclosan çevrede birikmektedir [45-49]. Çevrede biriken triclosanın ya aynen kaldığı veya daha kararlı olan metil triclosana dönüştürüldüğü gözlenmiştir [45]. Yapılan bazı çalışmalarda ise yüzey sularındaki triclosanın güneş ışığı etkisi ile fotokimyasal olarak 2,2'-diklodibenzo-*p*-dioksin'e dönüştürüldüğü de tespit edilmiştir [50,51].

Avrupa Birliği (EU) Direktif 76/768/CEE ve düzeltmelerine göre kişisel bakım ürünlerinde %0.30(w/w) maksimum konsantrasyonda kullanımına izin veriliyor [52]. Bu uygulamalardan dolayı ve lipofilik karakteristiği sonucu, bu bileşik insan vücudunda ve çevrede yaygın kontaminant haline gelir. Triclosanın varlığının kanıtı

tüketici ürünleri örneğin plazma, marine sedimentleri, şehir atık suları, yüzey suyu, atık suya maruz kalmış balık safra kesesi ve insan sütünde rapor edilmiştir. Triclosanın memelilere toksisitesi henüz gösterilmedi fakat invitro çalışmalarda metabolik sistemleri ve hormon homeostasisini düzenini bozabilen düşük seviyeleri gösteriyor. Tiroid hormon ilişkili gen ekspresyonunu modüle eden ve postembriyonik anuran gelişimi engelleyen bakterisidal ajan olarak rapor edilmiştir [53]. Ayrıca triclosan suda yaşayan organizmalara balık ve özellikle alge toksiktir, çevredeki varlığının, bakterilerin direnç mekanizmalarında ciddi implikasyonları vardır [54]. Ensinerasyon prosesi boyunca ve güneş ışığı radyasyonu altında düşük chlorinated dioxinler oluşturma yeteneği yüzünden dikkat bu bileşiğe çekildi [54,55].

Triclosanın çevresel olarak her geçen gün daha fazla birikmesi bilim adamlarını bu bileşiğin gelecekteki muhtemel etkileri üzerine çeşitli araştırmalar yapmaya yöneltmektedir. Amerikada yapılan bir çalışmada sularda biriken bir triclosanın algelere (su yosunları) zarar verdiğini göstermiştir [56]. Yeryüzündeki canlılar için en büyük oksijen sağlayıcısı ve tabiattaki besin zincirinin döngüsünün başlarında yer alan bu canlıların zarar görmesi ekolojik dengeleri alt üst edebilir. Nitrit yükseltgeyici bakteriler ile yapılan bir çalışmada çevrede biriken triclosanın nitrit oksidasyonunu yüksek oranlarda inhibe ettiği tespit edilmiştir [57]. Tabiattaki azot döngüsünün önemli bir kısmını oluşturan nitrit oksidasyonundaki aksamalar, gelecekte bütün canlılar için büyük sorunlar teşkil edecektir.

Literatürde triclosanın çevre etkisinin incelendiği başka çalışmalarda bulunmaktadır. Bu konuda yapılan bazı çalışmalarda triclosanın balıklarda biyolojik birikime sebep olduğu deneysel veriler ile ortaya konmuştur [35,44,58]. Bu durum hem balıklara zarar verebilir hem de balıklar ile beslenen diğer canlılarda aşırı miktarlarda birikerek bugün bilinmeyen önemli rahatsızlıklara hatta ölümlere sebep olabilir. Diğer taraftan kimyasal yapısı bakımından bisfenol A'ya oldukça benzeyen triclosanın, çevrede aşırı birikimi neticesinde özellikle insanlara ulaşması ile hormonal bozuluklara sebep olabileceğine dair sonuçlar veren çalışmalarda bulunmaktadır [59,60].

Triclosanın çevreye etkisi hususunda yapılan bazı çalışmalar sonunda, bu bileşiğin dünya çapında aşırı ve bilinçsiz kullanımı şimdiden ona dirençli bazı bakterilerin gelişmesine sebep olduğunu ortaya koymuştur [61,62]. Bu durum devam ederse önümüzdeki yıllarda triclosan kullanılamaz hale gelecektir [63].

3.5. Ağır Metal İçeren Antimikrobiyal Maddeler

Bakır, çinko ve gümüş gibi metallerin iyonlarının güçlü bir antibakteriyal etkiye sahip olduğu bilinmektedir [64]. Genellikle kompleks oluşturan metalik bileşikler, aktif enzim merkezlerinin engellenmesine neden olur. Bu oligodinamik etki olarak tanımlanır. En etkilisi kadmiyumdur ve bu bileşiği sırasıyla gümüş, pirinç, bakır ve civa takip eder. Altın, platinyum, demir, alüminyum ve çinko ile bu etki oluşmaz [65]. Antibakteriyal etkiye sahip bu metallerin kullanımında en büyük kısıtlama biyo uyumluluklarıdır. Diğer metaller ile kıyaslandığında gümüş, insanlar için toksik (zehirli) etkisi en düşük olan elementtir [64].

3.5.1. Gümüş bileşikleri (Gümüş sulfadiazin, Gümüş nitrat)

Gümüş iyonlarının antimikrobik etki mekanizması onların enzim ve proteinlerdeki tiyol (sulfidril, -SH) gruplarıyla yakın ilişkisine bağlıdır. Bununla birlikte muhtemelen başka hedef yerleri de vardır. *P. aeruginosa*'nın bölünmesini inhibe eder; hücre zarı ve içeriğini bozar. Virüs etki -SH gruplarına bağlanma sonucudur. Mantar enzimlerinin ana gruplarına bağlanarak bunlar üzerine etkili olur. Gümüş, mikroorganizmalardan K^+ salınımına neden olur; sitoplazma veya sitoplazma membranındaki pek çok enzim gümüş etkisinin hedef yeridir. Gümüş iyonları nükleik asitlerle de ilişkiye girer (özellikle DNA'daki bazlarla) [20,23]. Gümüş nitrat ve gümüş sulfadiazine göre gümüş iyonları ve gümüş nanopartiküllerinin, insan hücrelerine karşı zehirsiz ve öldürücü etkiye sahip olmadıklarından mükemmel antimikrobiyal ajanlar oldukları fark edildi. Bununla beraber, gümüş nanopartiküllerinin biosidal konsantrasyon etkisi, gümüş iyonlarının mikromolar seviyesine karşın nanomolar seviyededir. Matrikse aşılınmış gümüş polimeri, gümüşün taşınmasıyla serbest kalarak antimikrobiyal etki sağlar [66].

3.5.2. Nano gümüş

Nanoteknolojinin gelişimi, organik ve inorganik nanokompozitelerle birleşmiş antibakteriyal aktiviteli polimerlerin değerli özelliklerinin formasyonu yoluyla gümüşün kullanımı için yeni bir fırsat ortaya çıkardı. Polimerlerle birleşmiş gümüş nanopartikülleri çoğu araştırmacı için büyük bir ilgi alanıdır. Çünkü geniş yayılım alanı olarak gıda uygulamalarında materyallerin kullanımı, medikal ekipmanları, tarım, biyokimya, dokumada ve daha birçok alandadır [67].

Dünya nanoteknoloji pazarının 2010-2015 yıllarında yıllık yaklaşık 1 trilyon doları bulması beklenmektedir [68]. En belirgin nanoüretim nanogümüştür. Nano gümüş partikülleri genellikle 100 nm den daha küçüktür ve 20-15.000 gümüş atomlar içerir [69]. Gümüşün sahip olduğu özellikler ve kullanım alanları onu en çok araştırma yapılan metallere biri olmasını sağlamıştır [70]. Gümüş metali, sahip olduğu kimyasal kararlılık, yüksek sıcaklık, elektrik iletkenliği ve katalitik özellikleri sayesinde çok yüksek bir ilgiye sahiptir. Gümüş nano parçacıklarıyla kullanılan çeşitli polimerler literatüre girmiştir. Örneğin; polivinil prolidon sentezinde, polivinil alkol ve poliüretan sentezlerinde, poliakrilonitril farklı gümüş nano partikülleri için denenmiştir. Farklı kimyasal yapıları ve gümüş-polimer etkileşimleri sayesinde oluşturulmuş çok önemli varyasyonlardan ortalama büyüklükte gümüş nano parçacıklar bulunmaktadır [71].

Gümüş metali geçiş metalleri arasında geleceği en parlak olandır [72]. Gümüş nano partiküllerinin en önemli özelliklerinden biri birçok organik çözücüde ve sulu ortamlardaki çözünürlükleridir [73].

Nano boyutta gümüş pudrası, birçok elektronik alettaki iletken boyaların, macunların ve yapışkanların önemli bir parçasıdır. Birçok çalışma yüksek iletkenliklerinden dolayı gümüş nano parçacıkları ve macunların hazırlanması üzerine yapılmıştır. Son yıllarda, PbO içerikli camların insan sağlığına ve çevreye oluşturduğu tehlike sebebiyle kurşunsuz gümüş macunlu camlar geliştirilmiştir [74].

Gümüş ekleyerek farklı inorganik bileşiklerin değiştirilmesi, mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklardan insanları korumak için en etkili bir metottur. Nano ölçüdeki gümüş parçacıklar büyük bir yüzey alanına sahiptirler fakat topaklar oluşturmaya eğilimlidirler. Antibakteriyel aktivitesi, gümüş konsantrasyonundaki artışla birlikte artar ve gümüş nanoparçacıklarının parça büyüklüğünün artmasıyla birlikte azalır. Daha büyük çaptaki gümüş nanoparçacıklar buna uygun olarak daha az yüzey alanına sahiptirler. Daha iyi yayılmış gümüştozlarını elde etmenin yollarından biri de, silika malzemeleri içinde onları katkı maddesi olarak kullanmaktır [75].

Son yıllarda gümüş iyonları birçok araştırmacını ilgisini, yarı iletken fotokatalizör nano kristalleri üzerine olan özgün etkileri ve antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle çekmiştir [76]. Gümüş iyonları bakterilerin proteinlerini ve nükleik asitlerini onların negatif yüklü komponentlerine bağlanarak denatüre eder. Bunun yanında gümüş, bakterilerin hücre duvar membranlarını harap eden oksijen üretiminde rol oynar. [77]. İlginç olarak, gümüş oldukça etkili bir antimikrobiyal ajan türü olmasına rağmen, gümüş esaslı sargıların domuzların temiz yaralarında kullanıldığında yaranın epitelizasyonunu arttırdığının bulunması yaralarda gümüş iyonlarının antimikrobiyal aktivitesinin yanında faydalı bir etkisinin de olduğunu göstermiştir [78,79]. Bu yüzden gümüş esaslı yara sargı ürünleri potansiyel yara enfeksiyonlarına karşı önemli sayıda geliştirildi.

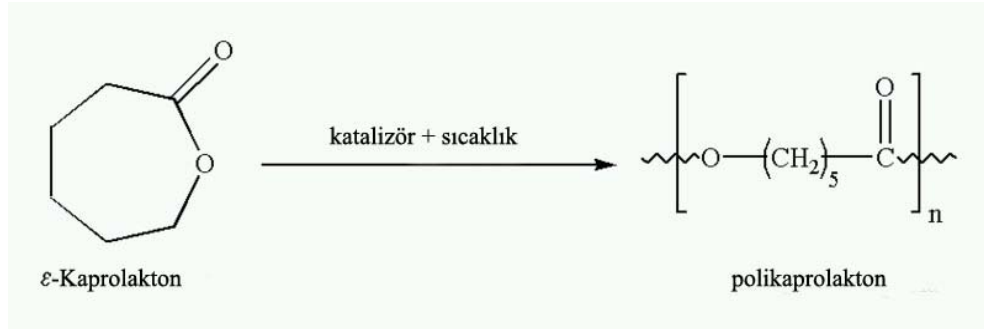
Uluslararası dağıtım şirketi olan DKSH, plastik, elyaf ve kaplama için yeni bir antimikrobiyal sistem geliştirmiştir. “Sarpı” olarak da adlandırılan bu sistem 25 nm civarında nano boyutlu gümüş parçacıkları içermekte olup Güney Kore’ de nanoteknoloji ile üretilmiştir. DHKS’a göre sarpı, geniş ve çok özel bir alandan faydalanmaktadır. Bu alan bakterilerde sağladığı geniş temas alanı neticesinde sarpının antimikrobiyal etkisini arttırmaktadır. Şirket sarpıyı pazarlayarak bağıl olarak düşük konsantrasyonlarda (50 ppm), her gün kullanılan uygulamalarda, sentetik elyaflarda ve plastiklerde gerekli olduğunu öne çıkarmaktadır [80].

Gümüş ve altının nano parçacıklarının kontrollü üretimi için çok sayıda sentetik metot önerilmiş olsa da bu iki önemli nano materyalin daha kolay ve ticari olarak uygulanabilir bir biçimde üretilebilmesi için çalışmalar sürmektedir.

BÖLÜM 4. POLİKAPROLAKTON YAPILI BİYOMALZEMELER

4.1. Giriş

Polikaprolakton geniş in vivo ve in vitro testlerden sonra birtakım medikal ve ilaç dağıtım cihazlarını üretmek için FDA tarafından onaylanan ve non-toksik ve doku uyumlu olarak kabul edilen biyoparçalanabilir alifatik polyesterdir. Ayrıca mükemmel özelliklerinden dolayı, 1970 yıllarından beri yara-iyileştirici malzeme ve ilaç salım sistemi olarak üzerinde çalışmalar yapılmıştır [81,82].



Şekil 4.1. Polikaprolaktonun sentezi ve kimyasal yapısı [83]

4.2. Polikaprolakton Kompozitler

Biyoparçalanabilir polimerler ve onların kopolimerleri bir çok doku mühendisliği uygulamalarında örneğin dental tamirlerde, ligament rekonstrüksiyonunda , ortopedik fiksasyon cihazlarında yanı sıra birçoğunda yaygın olarak kullanılır [84]. Bu biyoparçalanabilir polimerler arasında polikaprolakton son günlerde düşük maliyet, dayanıklılık ve rölatif olarak düşük camsı geçiş sıcaklığı (yaklaşık -60°C) ve ayrıca düşük erime sıcaklığından (yaklaşık 60°C) kaynaklanan işlemlenmeden dolayı hayli ilgi gördü [85-87].

PCL-silika kompozitleri de hazırlanarak çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır. Silika yaygın olarak nem tutucu (kurutucu) ve kromotografide inert kolon maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca biyomalzemelerde kompozitlerin hidrofilik karakterini arttırmak amacıyla dolgu malzemesi olarak da kullanılmaktadır.

4.3. Polikaprolakton Biyomalzemelerin Önemi ve Tıpta Kullanımı

Polikaprolakton biyomedikal alanda yaygın olarak kullanılan biyoparçalanabilir polimerlerden biridir. Rölatif olarak düşük sıcaklıklarda ($T_m = 60^\circ\text{C}$) düşük maliyet , yüksek dayanıklılık ve işlenebilmesinden dolayı son zamanlarda daha fazla ilgi çekti. Toksik olmayan ve osteoblastlarla oldukça fazla uyumlu olduğu bilinen PCL, FDA tarafından medikal implantlar ve ilaç salım cihazları üretmek için onaylandı. Bakteriyal enfeksiyon medikal cihazların kullanımı ile ilişkili major medikal komplikasyondur. Medikal cihazlara antimikrobiyal ajanları katma metotları biyomateryal ilişkili enfeksiyonları önleme ve kontrol için sıklıkla kullanılıyor. Çeşitli tiplerde antimikrobiyal ajanlar örneğin, organikler, metal tuzları ve kompleksleri ve nano metaller, eriterek karıştırma, çözücünden döküm ve kaplama işlemleri için uygundur.

Polikaprolakton yüksek derecede kristallik ve hidrofobisite ile yarı-kristal alifatik polyesterdir. Hidrofobisitesi yüzey erezyonu/bozulmasına yol açabilir, Xu ve ark. [88] hidrofobik polyesterler için olan çalışmasında açıkladıkları gibi. Polimerin tamamen yıkılması kristallik derecesine bağlı olarak 2 yıllık bir periyod içinde meydana gelir [89]. PCL osteoblastlar ile oldukça uyumludur ve bundan dolayı uzun süreli implant uygulamaları için elverişli olabilir [90].

BÖLÜM 5. MATERYAL VE METOT

5.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Malzemeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan triclosan (TR), DSF products, UK tarafından araştırma amaçlı olarak hediye edilmiştir. Sodyum Triclosan (NaTR) ise triclosanın yeniden kristallendirilmesi ile sodyum tuzu halinde ($\text{Na}^+\text{TR}^-(\text{TR})_2\cdot\text{H}_2\text{O}$) hazırlanmıştır [91]. Deneylerde kullanılan diğer sarf malzemeler olan etanol, NaOH ve hekzan Merck'den temin edilmiştir.

Gümüş Nitrat (AgNO_3 , %99.8) Carlo Erba'dan satın alınmıştır. Ferrosen ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Fe}^{\text{II}}$) ve silika ise Fluka'dan temin edilmiştir. Nano Gümüş katı faz indirgeme yöntemiyle aşağıda belirtildiği gibi sentezlenmiştir. Polycarolacton (PCL, $M_n= 42500$, $M_w= 65000$, m.p.= 60 C, $d= 1.145 \text{ gr/cm}^3$) Aldrich'den temin edilmiştir.

Çalışmamızda Kullandığımız Mikroorganizmalar olan *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) Biomerieux Diagnostik A.Ş.'den temin edilmiştir. Besiyerleri olarak kullanılan Triptik Soy Broth ve Nutrient agar PREMEDI Tıbbi Ürünler San.Tic.Ltd. Şti.'den sağlanmıştır.

5.2. Polycaprolacton-Silika Kompozit Filmlerin Hazırlanması

Triclosan, sodyum triclosan, gümüş nitrat ve nano gümüş çubuk içeren PCL-silika kompozitleri yaklaşık 100 °C' de eritme karıştırma (melt-mixing) yöntemiyle hazırlanmıştır. PCL-silika kompozitler (5 cm X 2 cm boyutlarında ve 0.25 mm kalınlığında) çift silindirli haddeleme yöntemiyle (roll milling) [91-93] aşağıda Şekil 5.1'de gösterilen cihaz kullanılarak ince film halinde hazırlanmıştır.



Şekil 5.1. Kompozit filmlerin hazırlanmasında kullanılan çift silindirli haddenin fotoğrafı.

5.3. Hazırlanan Kompozit Filmlerin Karakterizasyonu:

Hazırlanan filmlerin yüzeyi, mikroyapısı, kristallerin büyüklüğü ve morfolojisi, PCL içine dağılmış silika parçalarının görünümü taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve FT-IR kullanılarak analiz edilmiştir.

5.4. Antibakteriyel Aktivite Ölçümleri

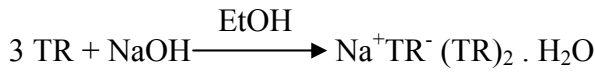
Antibakteriyel aktiviteleri ölçebilmek için iki deney gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, 1. deneylerde, PCL-silika kompozit filmlerin *S. aureus* ve *E. coli* ye karşı antimikrobiyal performansları, inhibisyon zon aralığı ölçüm yöntemi (Parallel Streak Method of American Association of Textile Chemists and Colorists, AATCC Manuel, method 147-1998) kullanılarak değerlendirilmiştir [94]. Daha sonra yapılan 2. deneylerde ise koloni sayım yöntemi (plate-counting) kullanılarak, hazırlanan kompozit filmlerin yüzeylerinin mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri ölçülmüştür [95].

BÖLÜM 6. DENEYSEL BULGULAR

6.1. Na⁺TR⁻(TR)₂.H₂O Hazırlanması

Sodyum triclosan tuzu bazik şartlarda triclosanın etanolden kristallendirilmesi ile hazırlanmıştır. Triclosan Şekil 6.1’de gösterilen ince uzun iğne şeklinde kristal yapısı gösterirken, NaTR Şekil 6.2’de gösterilen triklinik morfolojiye sahip kristaller şeklinde hazırlanmıştır. Kristallerin hazırlanması ve yapısal karakterizasyonu X-ışınları tek kristal analizi yöntemi ile daha önceki çalışmalarda yapılmıştır [91]. Bu çalışmada kristaller yeniden hazırlanarak, antibakteriyal aktivitenin triclosana kıyasla bir değişme gösterip göstermediği araştırılmıştır. Triclosan yüksek oranda hidrofobik özellik göstermektedir ve nötral bir molekül olarak davranmaktadır. Sodyum tuzunun yapısına bakıldığında, su molekülü içermesi ve iyonik yapı göstermesi sulu ortamda daha yüksek dozda çözünme ve mikroorganizmalar ile farklı şekilde etkileşebileceği öngörülmektedir. Ayrıca, su bazlı formülasyonların hazırlanmasında triclosanın tersine daha uyumlu bir davranış göstermesi beklenmektedir.

Etonolden triclosanın kristalizasyonu yönteminde, maddelerin molekül ağırlıklarına göre reaksiyon miktarları aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.

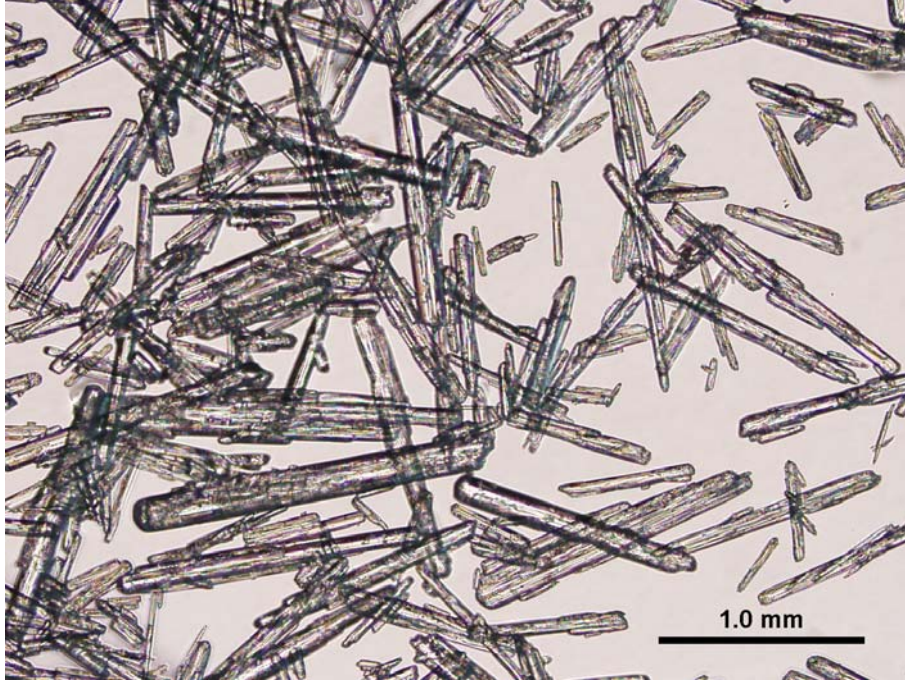


TR: 289,53 gr/mol

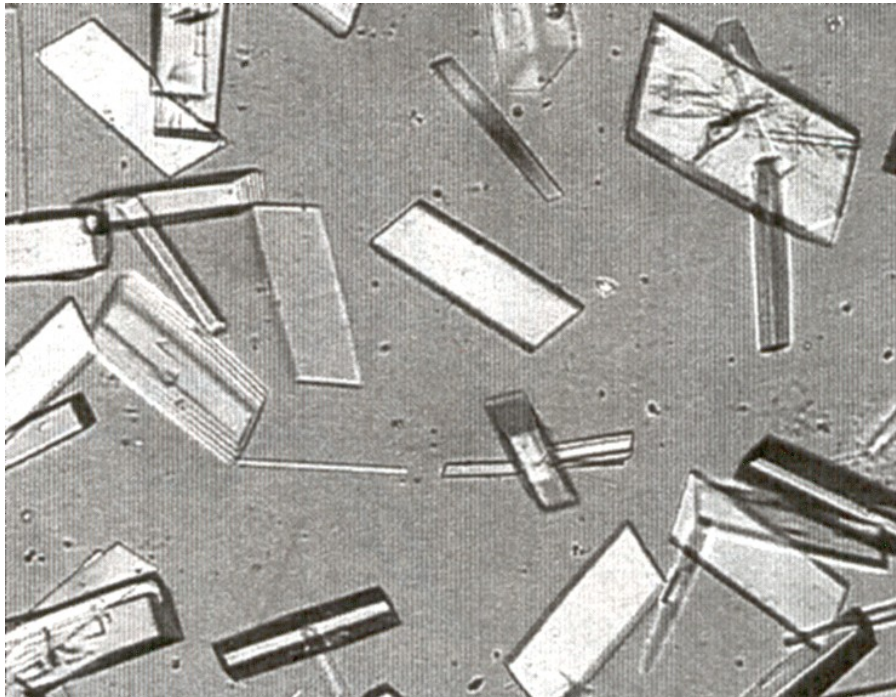
NaOH: 40 gr/mol

250 ml lik behere konulan 5 ml etanolun içerisine 0.1 gr NaOH ilave edip karıştırıyoruz. NaOH iyice ezildikten sonra 2.171 gr TR ilave edilir. 45 °C sıcaklıktaki su banyosunda yaklaşık 5 dakikalık karıştırmadan sonra kristallenme gözlenmeye başlanır. Daha sonra n-hegzanla yıkama gerçekleştirilip kristaller ayrılır. Şekil 6.2’de gösterildiği gibi istenen şekil ve büyüklükte triklinik prizma

morfolojisinde kristaller elde edilmiştir. Kurutma işleminden sonra da polimere katılmak üzere toz haline getirilmiştir.



Şekil 6.1. Triclosanın kristal yapısı



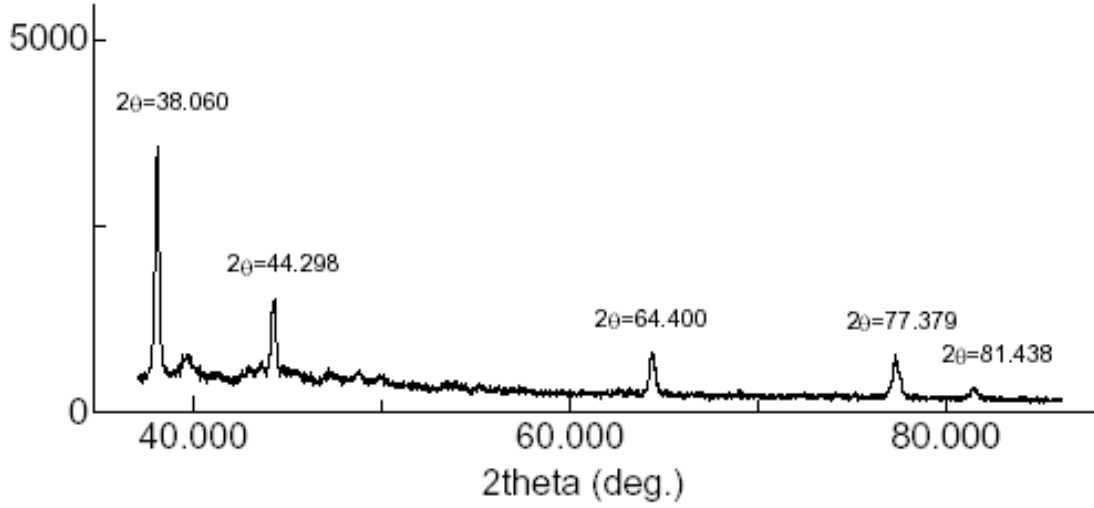
Şekil 6.2. Sodyum triclosanın $\text{Na}^+\text{TR}^- (\text{TR})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ kristal yapısı

6.2. Nano Gümüş Çubukların Hazırlanması

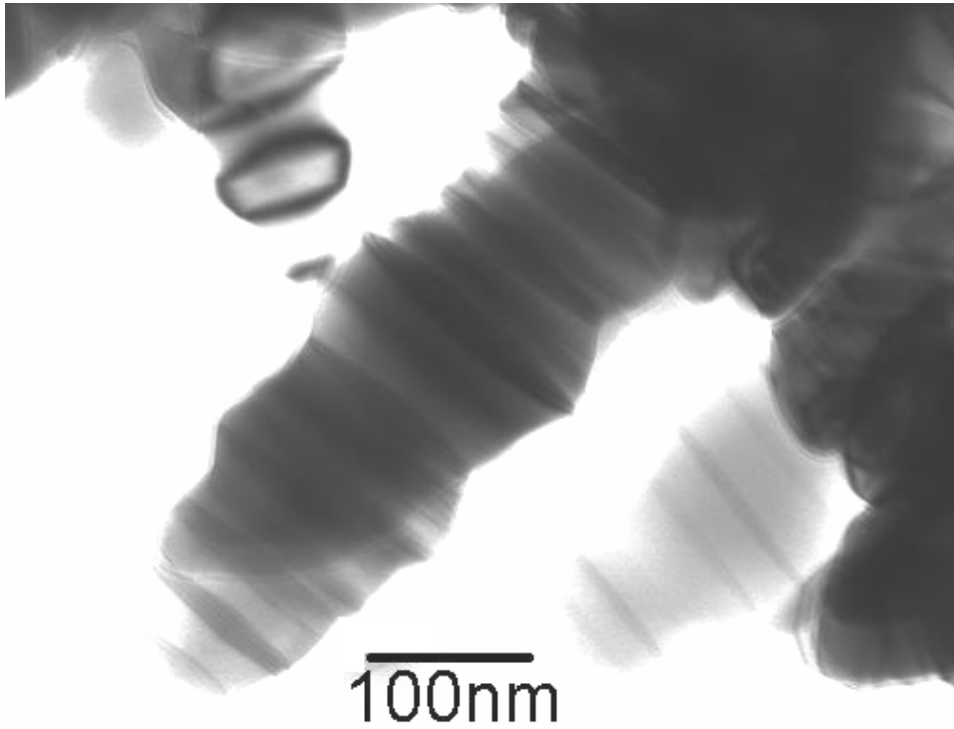
Nano gümüş partikülleri geniş bir kullanım alanına sahiptir, dolayısıyla literatürde nano gümüş hazırlanmasına ilişkin çok sayıda yöntem mevcuttur. Yaygın olarak kullanılan polyol yönteminde bir alkol ile Ag^+ iyonlarının çözümlenmiş yüksek sıcaklıklarda Ag^0 nano kolloidlerine indirgenmesi yapılmaktadır. Bu sırada partiküllerin büyümesini önlemek amacıyla ortama ligand gruplar içeren çeşitli organik maddelerin katılması gerekmektedir. Karmaşık sentez şartları, yüksek sıcaklık ve organik safsızlıkların ortamdaki ayrılmasındaki zorluklar ve bunların kullanım sırasındaki toksik etkileri istenmeyen bir durumdur. Bu yöntemlere alternatif olabilecek daha basit, düşük maliyetli ve yüksek verimli yeni sentez şartlarının araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmada nano gümüş partiküllerinin çözücü kullanılmadan doğrudan katı fazda büyüme özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada suda çözünebilir ligand olarak sulfanilik asit ve indirgeyici olarak da Ferrosen kullanılmıştır. Katı halde 30 mg gümüş nitrat, 30 mg sulfanilik asit ve 30 mg ferrosen yaklaşık 5-10 dakika öğütülerek koyu siyah bir karışım elde edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda farklı boyutlarda çubuk şeklinde nano gümüş partiküllerinin olduğu tespit edilmiştir. Şekil 6.3'de gösterilen x-ışınları toz difraksiyonu (XRD) (Shimadzu XRD-6000) analiz sonucunda kristal yapıya sahip nano gümüş partiküllerine ait difraksiyon pikleri (111, 200, 220, 311 ve 222) gözlemlenmiştir. Ayrıca, hazırlanan numune için yapılan TEM (JEOL JEM 3010) analizi, Şekil 6.4'de verildiği gibi çubuk şeklindeki nano gümüş partiküllerini göstermektedir. Yaklaşık 50-100 nm kalınlığında ve 200-300 nm uzunluğunda partiküllerin farklı boyutlarda ve toplanmış halde olduğu görülmektedir. Diğer taraftan, partiküllerin farklı kalınlıklarda ve düzensiz yüzey morfolojisi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu yöntem ile sentezlenen nano gümüş partiküllerinin su ve alkolde kolayca çözündüğü tespit edilmiş olup, hazırlanan gümüş nano çubukların Şekil 6.5.'de verilen UV-görünür bölge spektrumu da literatüre uygun olarak karakteristik absorpsiyon pikleri göstermektedir. Hazırlanan karışım doğrudan nano gümüş kaynağı olarak polimer katkı maddesi şeklinde kullanılmıştır. Partiküllerin toplanmasını önlemek ve daha homojen şekilde

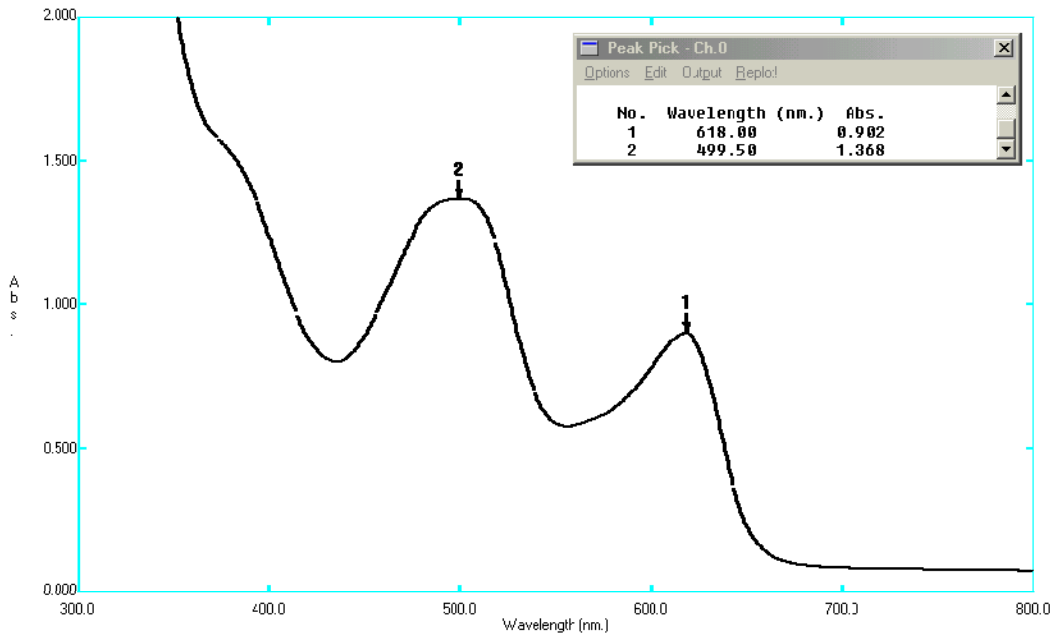
polimer içerisinde yaymak amacıyla silika tozu ile önceden karıştırıldıktan sonra polimer eriyikleri içerisine katılmıştır.



Şekil 6.3. Nano gümüş çubukların x-ışınları toz difraksiyonu (XRD)



Şekil 6.4. Nano gümüş çubukların taramalı elektron mikroskop (TEM) görüntüsü

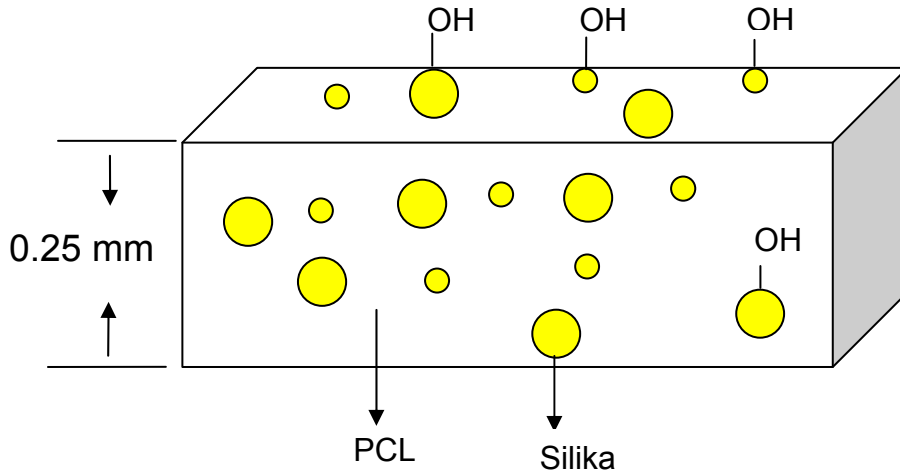


Şekil 6.5. Nano gümüş çubukların etanoldeki UV-görünür bölge spektrumu

6.3. PCL-Silika Kompozitlerin Hazırlanması

Triclosan, sodyum triclosan, gümüş nitrat ve nano gümüş çubuk içeren PCL-silika kompozitleri yaklaşık 100 °C’ de eritme karıştırma (melt-mixing) yöntemiyle hazırlanmıştır.

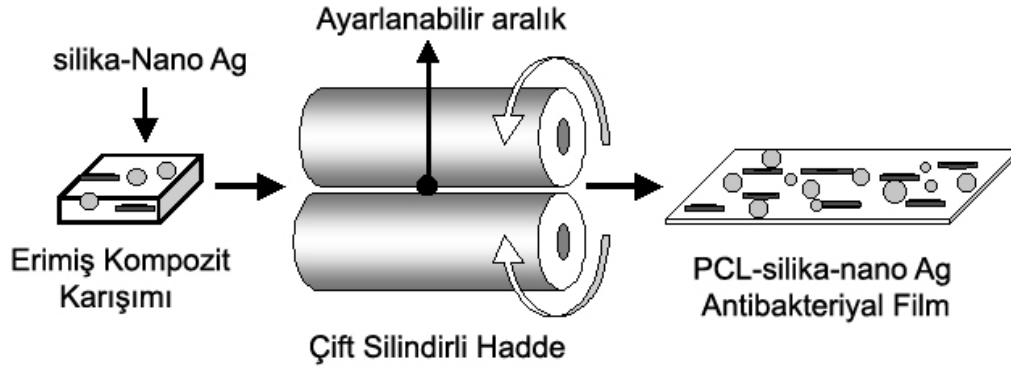
PCL-silika kompozitleri çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır. Silika yaygın olarak nem tutucu (kurutucu) ve kromatografide inert kolon maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca biyomalzemelerde kompozitlerin hidrofilik karakterini arttırmak amacıyla dolgu malzemesi olarak da kullanılmaktadır. Şekil 6.6.’da gösterildiği gibi silika suyu sevme ve kolayca ıslanma özelliklerinden dolayı sentetik polimer kompozitler ile doğal organlar arasında biyoyumlu arayüzey sağlamaktadır. İdeal olarak hazırlanan biyomalzemelerin yüzeyinde zamanla hücrelerin ölmemesi ve çoğalması beklenmektedir.



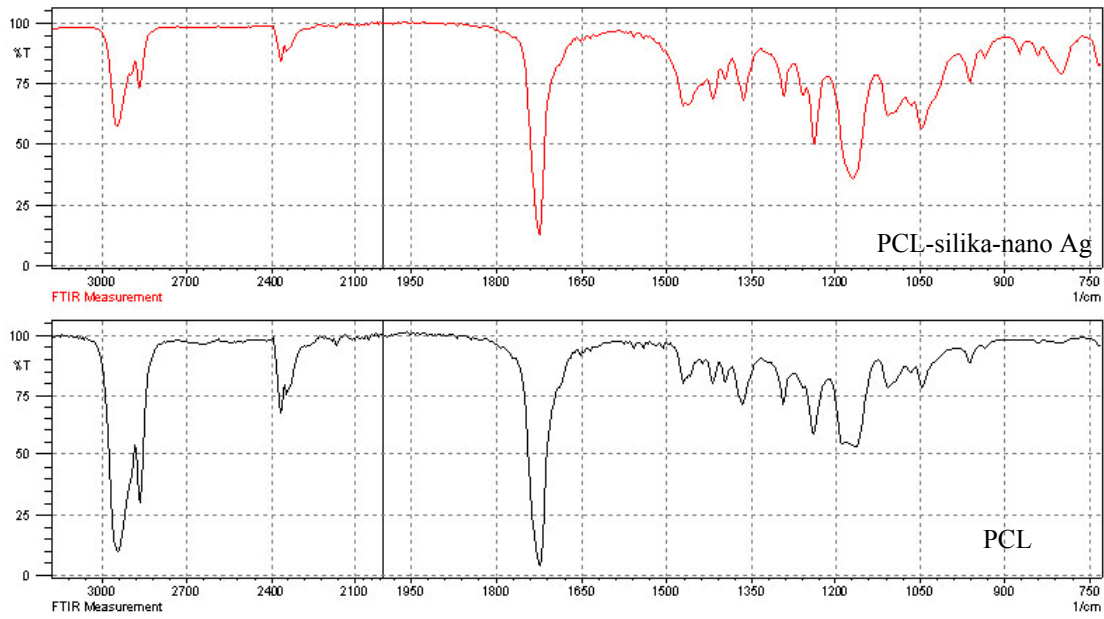
Şekil 6.6. PCL-silika kompozit malzeme yapısının gösterimi

6.4. PCL-Silika İnce Filmlerin Hazırlanması

Bu çalışmada, PCL-silika polimer kompozitleri çift silindri hadde kullanılarak ince film haline dönüştürülmüştür. Şekil 6.7’de gösterildiği gibi kompozit karışım ince bir aralıktan geçirilmek suretiyle basınç altında şekillendirilmektedir. Bu işlem sırasında daha aktif ve geniş bir yüzey alanı oluşması sağlanmaktadır. Ayrıca, silika ve nano gümüşün polimer içerisinde daha homojen bir şekilde yayılması da meydana gelmektedir. Hazırlanan nano gümüş katkılı PCL-silika ince filmlerin ATR yöntemiyle FT-IR yüzey analizi yapılarak PCL film ile kıyaslanmıştır (Şekil 6.8.) Kompozit filmler, PCL’ye benzer şekilde güçlü alifatik C-H ve ester C=O titreşimlerine ait pikler göstermektedir.

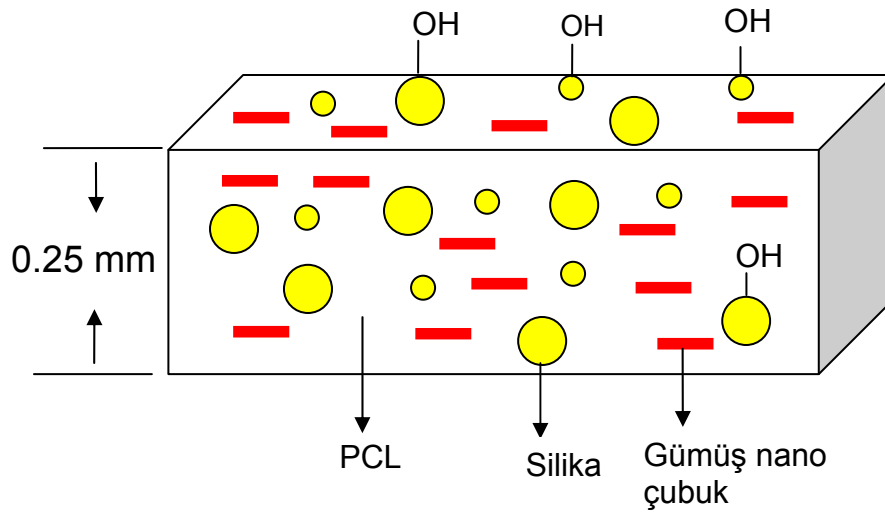


Şekil 6.7. Kompozit karışımların çift silindirli hadde kullanılarak film haline getirilmesi işlemi

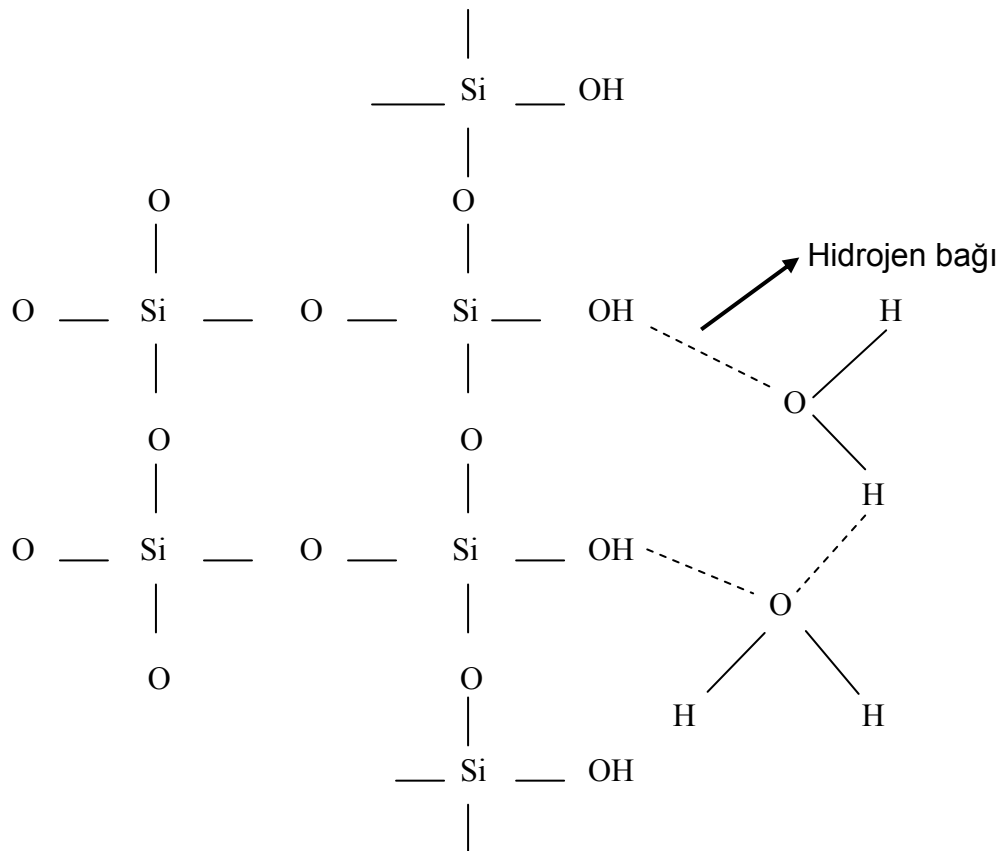


Şekil 6.8. Nano Ag içeren PCL-silika ince filmlerin ve PCL filmin FT-IR yüzey analizi

PCL-silika kompozitler 2 cm X 5 cm boyutlarında ve 0,25 mm kalınlığında (roll milling) haddeleme yöntemi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan filmlerin kompozisyonu ve su ile etkileşimi şekilsel olarak aşağıda gösterilmiştir (Şekil 6.9- Şekil 6.10.)

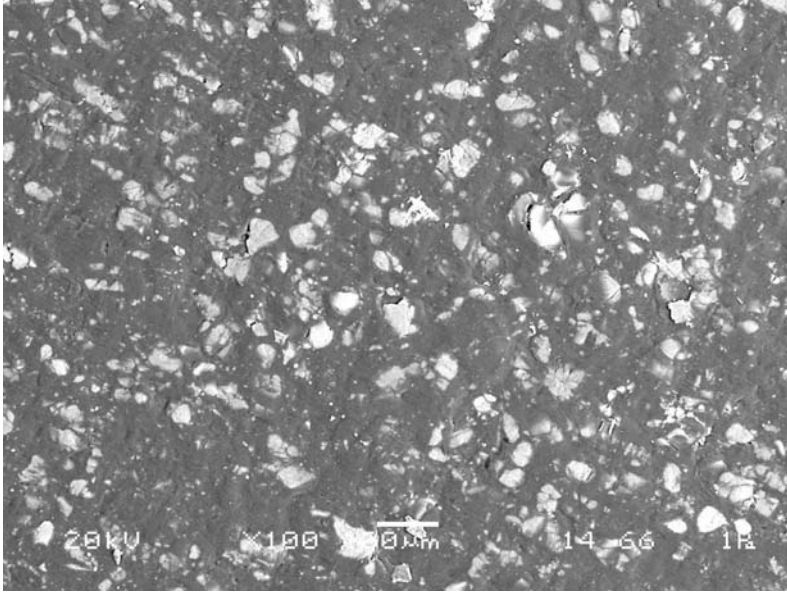


Şekil 6.9. Gümüş nano çubuk katkılı PCL-silika kompozit malzeme yapısının gösterimi

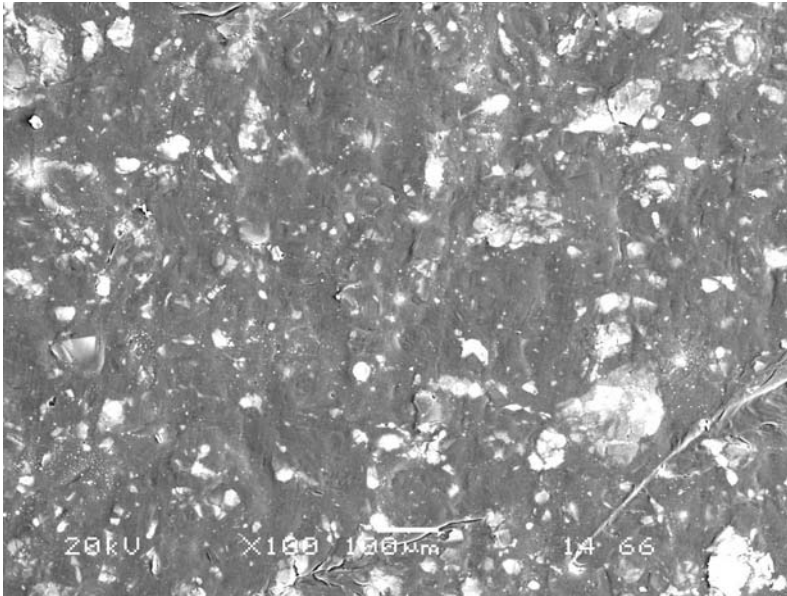


Şekil 6.10. Silika-Su arayüzeyinde hidrojen bağları ile meydana gelen etkileşim

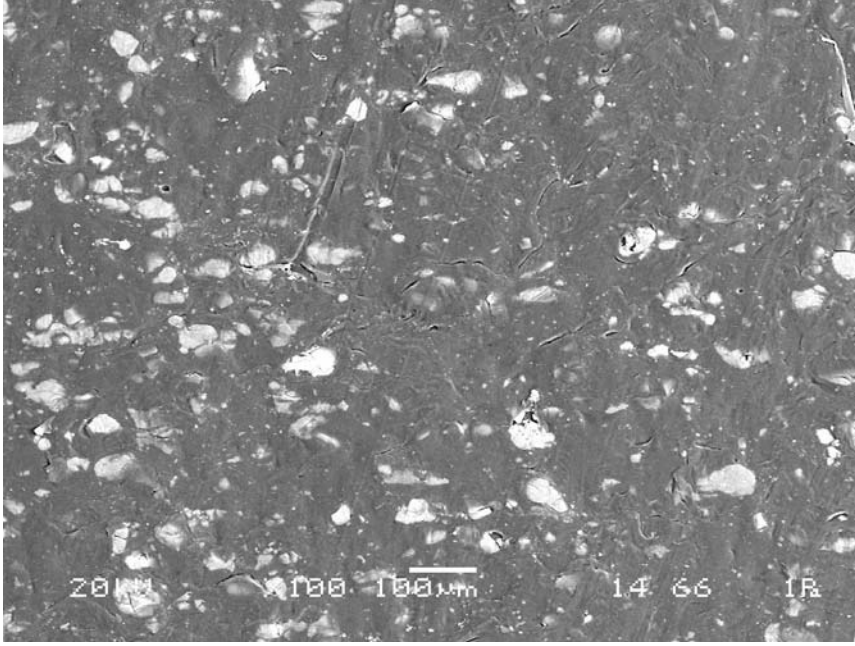
Hazırlanan filmlerin yüzeyi, mikroyapısı, kristallerin büyüklüğü ve morfolojisi, PCL içine dağılmış silika parçalarının görünümü taramalı elektron mikroskopu (SEM) (JEOL JSM-6060) kullanılarak analiz edildi. Polimer kompozit filmlerin üzerindeki mikroyapılar gösterilmiştir. (Şekil 6.11 – 6.15)



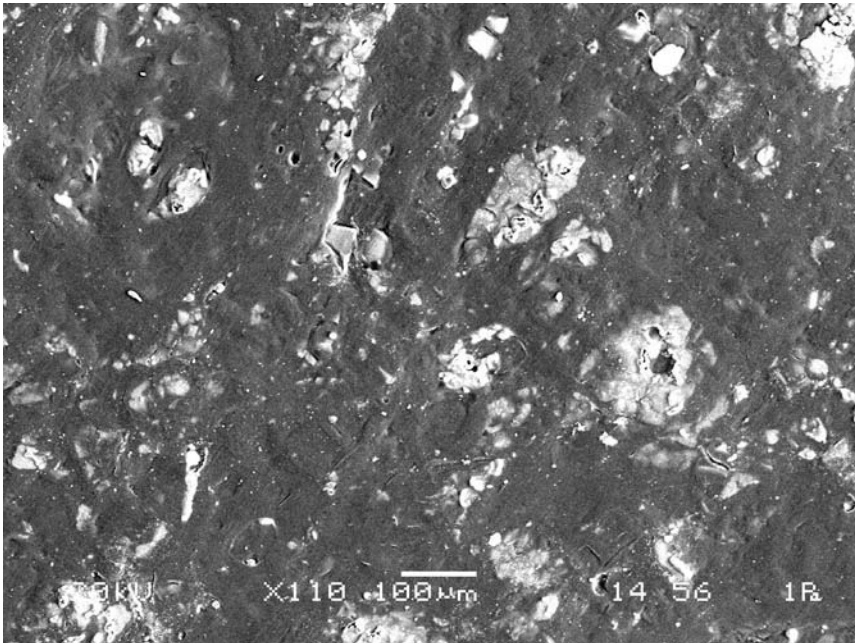
Şekil 6.11. PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü



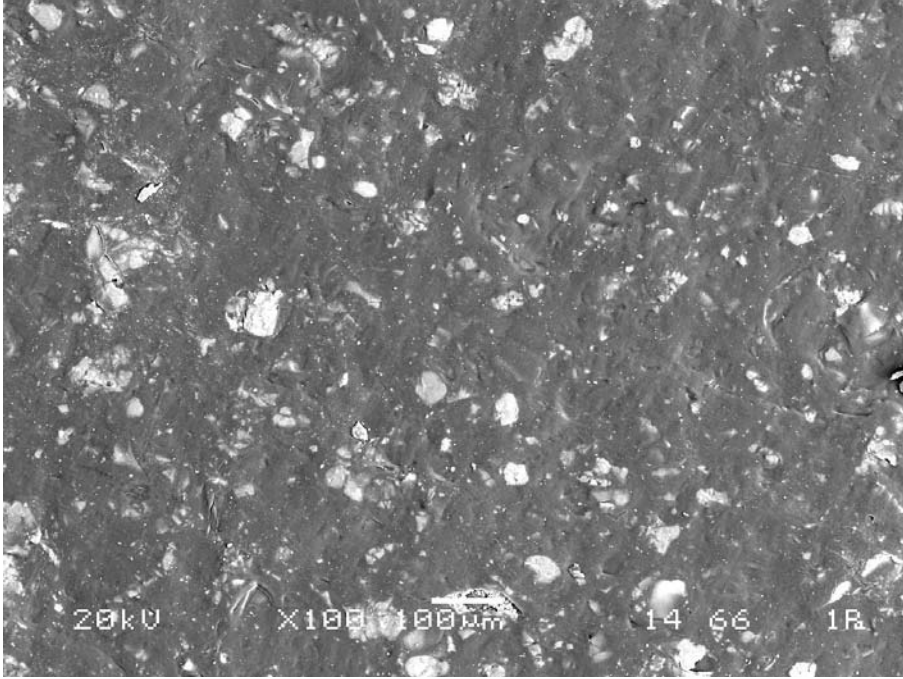
Şekil 6.12. Gümüş nitrat katkılı PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü



Şekil 6.13. Triclosan katkıli PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü



Şekil 6.14. Sodyum triclosan katkıli PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü



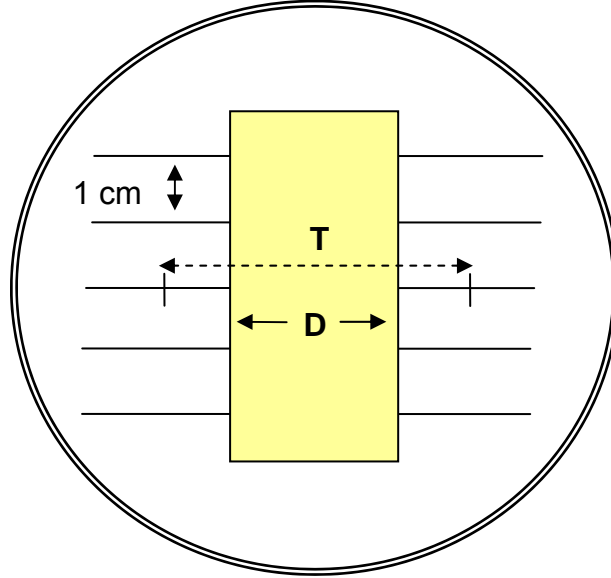
Şekil 6.15. Nano gümüş çubuk katkılı PCL-silika kompozit filmlerin taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü

6.5. Antibakteriyal Aktivite Ölçümleri

a) İnhibisyon Aralığı Ölçüm Yöntemi

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, bir antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türüne karşı invitro etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir [94,96]. İnhibisyon aralığı ölçüm methodunda ilk olarak, 1ml 24 saatlik triptik soy broth kültürüne 9 ml distile su ilave edilerek organizma inokülasyon çözeltisi hazırlanır. Bu çözeltilerden çapı 4 mm olan özelerle nutrient agar içeren besiyerlerine birbirine paralel 5 çizgi çekilir. Her bir çizgi üzerine öze bir kere dokundurularak bakteri ekimi gerçekleştirilir. Daha sonra hazırlanan kompozitler agar yüzeyine yerleştirilir. Bütün petri ler 37 ± 2 °C de 24 saat etüvde inkübe edilir. Her bir petri için inhibisyon zon aralıkları mm olarak ölçülür. Zon aralıklarını hesaplamak için kullanılan formül $W = (T_{ORT} - D) / 2$ dir. Şekil 6.16'da inhibisyon aralığı ölçüm yöntemi şematik olarak gösterilmiştir.

Şekil 6.16’da gösterildiği gibi, burada W inhibisyon zon aralığı, T üreme olmayan beş çizginin ortalaması ve D kompozit filmlerin enidir.



Şekil 6.16. İnhibisyon aralığı ölçüm yönteminin şematik gösterimi

b) Koloni Sayım Yöntemi

Koloni sayım yönteminde ise 0.2 ml lik bakteri solusyonu UV ile steril edilen membran filmlerin üzerine eklenir ve filmlerin yüzeyi polipropilen film ile kaplanır. Bu halde nispi nem %90 dan fazla, sıcaklık 37 ± 1 °C de örnekler altı saat inkübe edilir. Sonra 20 ml %87 lik NaCl ile pH 7.0 ± 0.5 de örnekler yıkanır. Aktif bakteri gözlenmesi için 0.2 ml yıkama solüsyonu nutrient agar için değişik kaplara eklenir. Benzer koşullar altında 24 saat inkübasyondan sonra aktif bakteriler sayılıp ve antimikrobiyal etki hesaplanır [95]. Antimikrobiyal etkiyi hesaplamak için kullanılan formül $R(\%) = (B-C)/B \times 100$. R antimikrobiyal etkinin yüzde olarak gösterimi, B, kontrol örnekteki bakteri sayısı (cfu/ml), C, modifiye örnekteki bakteri sayısıdır (cfu/ml).

6.5.1. İnhibisyon Aralığı Ölçüm Yöntemi

Tablo 6.1. Farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin özellikleri (İnhibisyon aralığı ölçüm yöntemi)

Katki Maddeleri	Test Edilen Etken Maddeler				
	Kontrol	TR	Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ . H ₂ O	AgNO ₃	Nano Ag
Silika (%)	25	25	25	25	25
Antimikrobiyal madde (%)	0	0.5	0.5	0.5	0.5

TR: Triclosan

Bu yöntemde PCL-silika kompozit filmlerin *S. aureus* ve *E. coli* ye karşı antimikrobiyal performansları Parallel Streak Method (American Association of Textile Chemists and Colorists AATCC Manuel, method 147-1998) kullanılarak değerlendirilmiştir [94]. Tablo 6.1’de inhibisyon aralığı ölçüm yöntemine kullanılan farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin özellikleri gösterilmiştir. 1 ml 24 saatlik triptik soy broth kültürüne (içindeki bakteri miktarı 1.5×10^8 CFU/mL) 9 ml steril distile su ilave edilerek çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerden çapı 4 mm lik özelerle nutrient agara birer cm arayla birbirine paralel 5 çizgi çekildi. Üzerlerine hazırladığımız PCL-silika kompozitler yerleştirildi. Petriler 37 ± 1 °C de 24 saat etüde bekletildi. 24 saat sonunda inhibisyon zon aralıkları ölçülerek antimikrobiyal etki değerlendirildi. Tablo 6.2 ve 6.3 de sonuçlar gösterilmiştir. Şekil 6.17’de farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin *E.coli*’ye karşı antimikrobiyal aktivitesini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralıklarının fotoğrafları gösterilmektedir. Şekil 6.18’de de farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin *S. aureus*’a karşı antimikrobiyal aktivitesini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralıklarının fotoğrafları gösterilmektedir.

Tablo 6.2. TR ve Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O katkılı kompozit filmlerin gösterdiği antimikrobiyal etki

Mikroorganizmalar	W: İnhibisyon zon aralıkları (mm)		
	Kontrol	TR (0.5 %)	Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ . H ₂ O (0.5 %)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0 (+)	10 (-)	9 (-)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0 (+)	9 (-)	5 (-)

(+) : Kompozit filmlerin altında üreme var

(-) : Kompozit filmlerin altında üreme yok

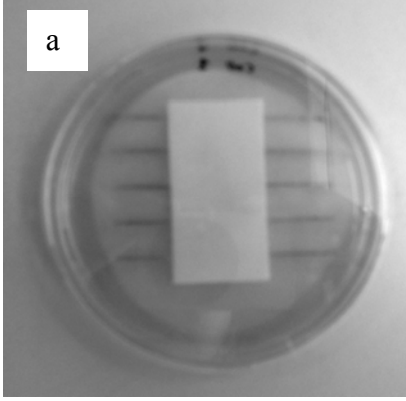
TR: Triclosan

Tablo 6.3. AgNO₃ ve Nano Ag katkılı kompozit filmlerin gösterdiği antimikrobiyal etki

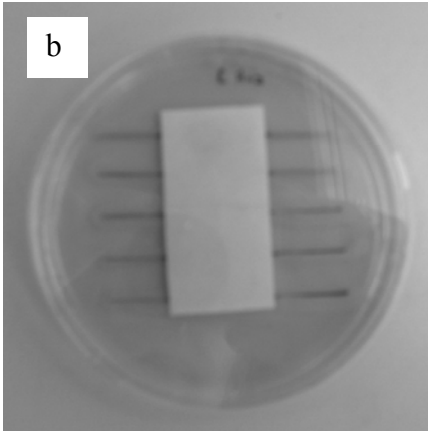
Mikroorganizmalar	W: İnhibisyon zon aralıkları (mm)		
	Kontrol	AgNO ₃ (0.5 %)	Nano Ag çubuk (0.5 %)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0 (+)	0 (-)	0 (-)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0 (+)	0 (-)	0 (-)

(+) : Kompozit filmlerin altında üreme var

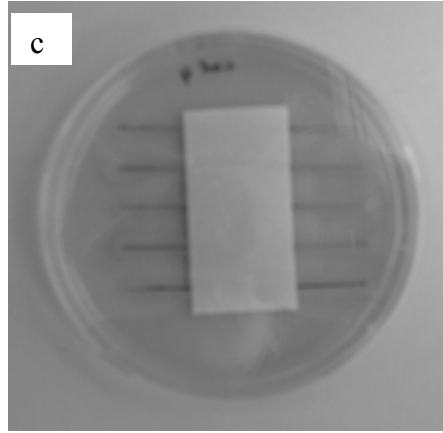
(-) : Kompozit filmlerin altında üreme yok



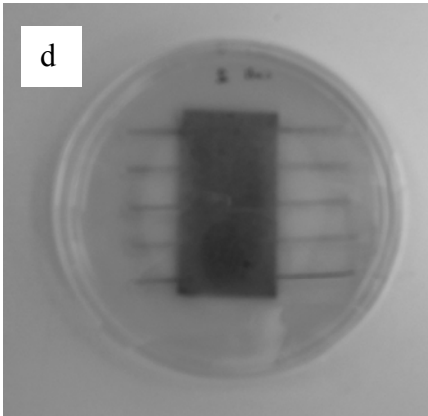
(PCL-SiO₂ Kontrol) W: 0 mm



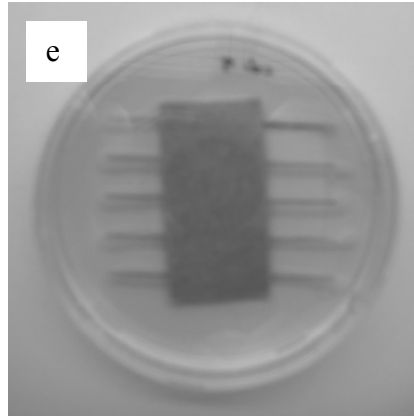
(PCL-SiO₂ 0.5% TR) W: 9 mm



(PCL-SiO₂ 0.5% Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O) W: 5 mm

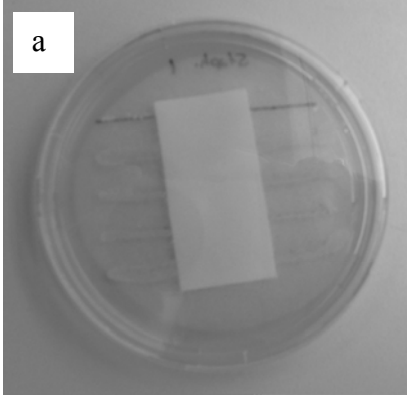


(PCL-SiO₂ 0.5% AgNO₃) W: 0 mm

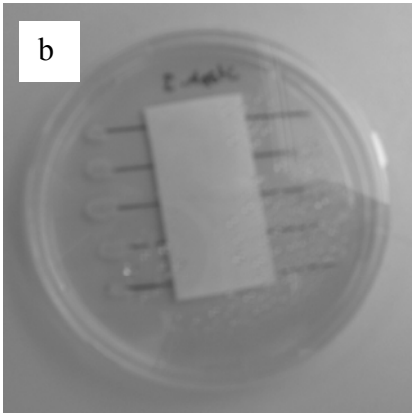


(PCL-SiO₂ 0.5% Nano Ag çubuk) W: 0 mm

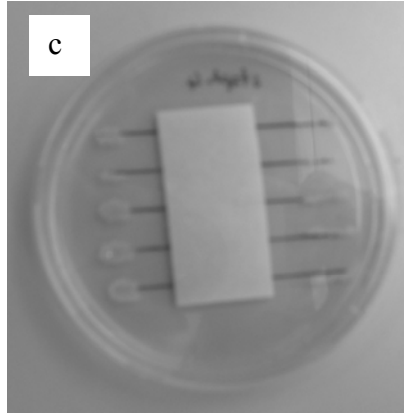
Şekil 6.17. (a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmin *E.coli*' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *E.coli*' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (c) Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *E.coli*' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *E.coli*' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *E.coli*' ye karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı



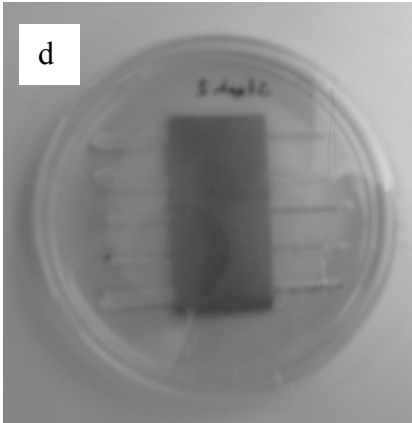
(PCL-SiO₂ Kontrol) W: 0 mm



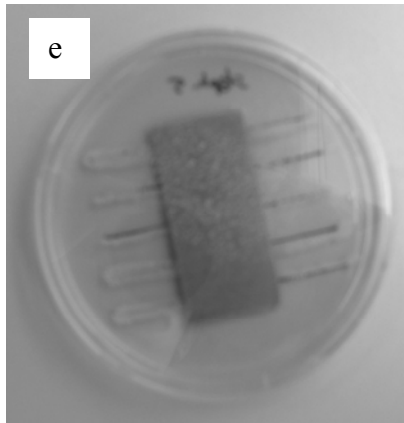
(PCL-SiO₂ 0.5% TR) W: 10 mm



(PCL-SiO₂ 0.5% Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O) W: 9 mm



(PCL-SiO₂ 0.5% AgNO₃) W: 0 mm



(PCL-SiO₂ 0.5% Nano Ag çubuk) W: 0 mm

Şekil 6.18. (a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (c) Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etkisini ölçtüğümüz inhibisyon zon aralığı

6.5.2. Koloni Sayım Yöntemi

Tablo 6.4. Farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin özellikleri (Koloni sayım yöntemi)

Katki Maddeleri	Test Edilen Etken Madde				
	Kontrol	TR	Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ . H ₂ O	AgNO ₃	Nano Ag çubuk
Silika (%)	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
Antimikrobiyal madde (%)	0	0.25	0.25	0.15	0.15

PCL-silika kompozit filmlerin *S. aureus* ve *E. coli* ye karşı antimikrobiyal performansları (plate-counting) petride sayım yöntemi ile saptanmıştır. Tablo 6.4’de koloni sayım yönteminde kullanılan farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin özellikleri gösterilmiştir. Test örneklerine ilk olarak filmlerin yüzeyindeki tüm bakterileri öldürmek için UV ile muamele edildi. Sterilizasyondan sonra 0.2 ml lik (içindeki bakteri miktarı 3.0×10^7) bakteri solüsyonu (ID Broth ile hazırlanan) yüzeyin üstüne eklendi ve filmlerin yüzeyi polipropilen film ile kaplandı. Nispi nem %90 dan fazla, sıcaklık 37 ± 1 °C de örnekler altı saat inkübe edildi. Sonra 20 ml %87 lik NaCl ile pH 7.0 ± 0.5 de örnekler yıkandı. Aktif bakteri gözlenmesi için 0.2 ml yıkama solüsyonu nutrient agar için değişik kaplara eklendi. Benzer koşullar altında 24 saat inkübasyondan sonra aktif bakteriler sayıldı ve antimikrobiyal etki hesaplandı. Antimikrobiyal etkiyi hesaplamak için kullanılan formül $R(\%) = (B-C)/B \times 100$. R antimikrobiyal etkinin yüzde olarak gösterimi, B, kontrol örnekteki bakteri sayısı (cfu/ml), C, modifiye örnekteki bakteri sayısıdır (cfu/ml). Tablo 6.5.’de farklı kompozit filmler için ölçülen koloni sayıları (0.2 ml ekim) , Tablo 6.6’ da ise bakteri ekimi yapılan farklı kompozit filmlerin yüzeylerinden altı saat sonunda 20 ml serum fizyolojik ile yıkanarak ölçülen bakteri derişimleri gösterilmiştir. Tablo 6.7.’ de de farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmler için bulunan antibakteriyal aktivite (%R) değerleri gösterilmiştir.

Şekil 6.19’da farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin *E.coli*’ye karşı antimikrobiyal aktivitesini ölçtüğümüz koloni sayım yönteminin fotoğrafları gösterilmektedir. Şekil 6.20’de de farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmlerin *S. aureus*’a karşı antimikrobiyal aktivitesini ölçtüğümüz koloni sayım yönteminin fotoğrafları gösterilmektedir.

Tablo 6.5. Farklı kompozit filmler için ölçülen koloni sayıları (0.2 ml ekim)

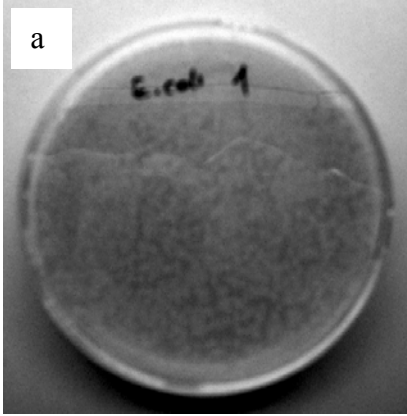
Mikroorganizmalar	Koloni Sayısı (CFU)				
	Kontrol	TR (% 0.25)	Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ . H ₂ O (% 0.25)	AgNO ₃ (% 0.15)	Nano Ag çubuk (% 0.5)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	239	12	6	1	14
<i>E. coli</i> ATCC 25922	900	267	700	0	0

Tablo 6.6. Bakteri ekimi yapılan farklı kompozit filmlerin yüzeylerinden 6 saat sonunda 20 ml serum fizyolojik ile yıkanarak ölçülen bakteri derişimleri

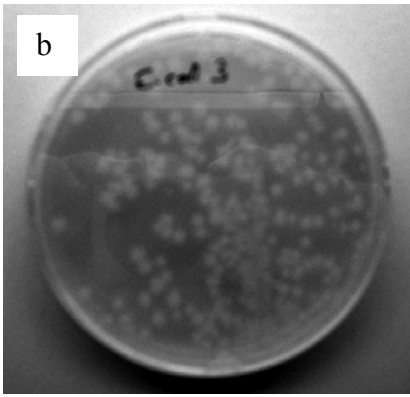
Mikroorganizmalar	Bakteriyel Derişim (CFU/mL)				
	Kontrol	TR (% 0.25)	Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ . H ₂ O (% 0.25)	AgNO ₃ (% 0.15)	Nano Ag çubuk (% 0.15)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1195	60	30	5	70
<i>E. coli</i> ATCC 25922	4500	1335	3500	0	0

Tablo 6.7. Farklı etken maddeler içeren PCL-silika kompozit filmler için bulunan antibakteriyal aktivite (%R) değerleri

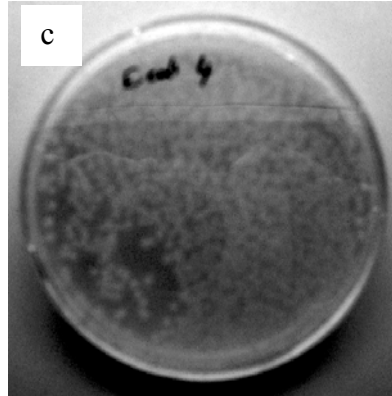
Mikroorganizmalar	% R : Antibakteriyal Aktivite				
	Kontrol	TR (% 0.25)	Na ⁺ TR ⁻ (TR) ₂ . H ₂ O (% 0.25)	AgNO ₃ (% 0.15)	Nano Ag çubuk (% 0.15)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0	95	97	99	94
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	70	22	100	100



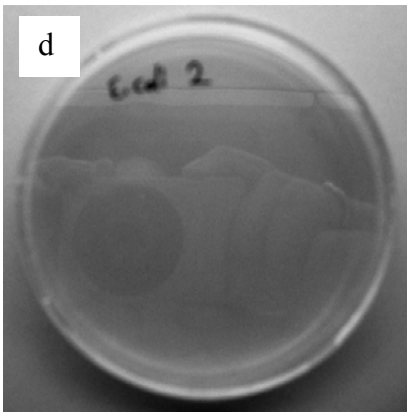
PCL-SiO₂ Kontrol (900)



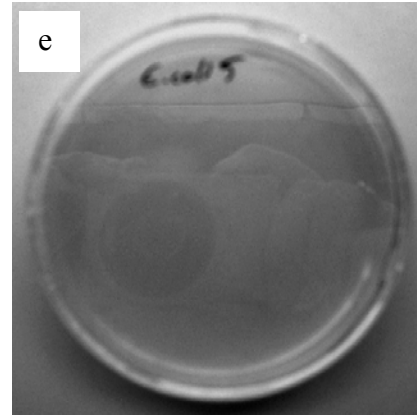
PCL-SiO₂: 0.25% TR (267)



PCL-SiO₂: 0.25% Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O (700)

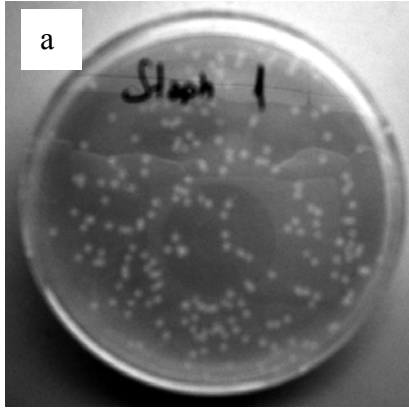


PCL-SiO₂ 0.15% AgNO₃ (0)

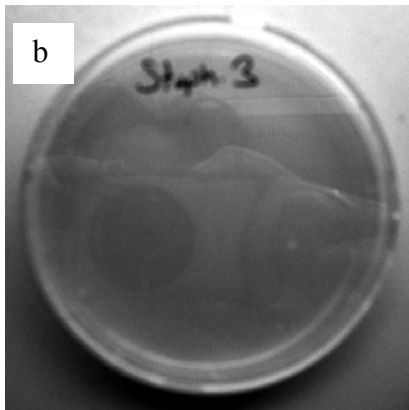


PCL-SiO₂: 0.15% NanoAg çubuk (0)

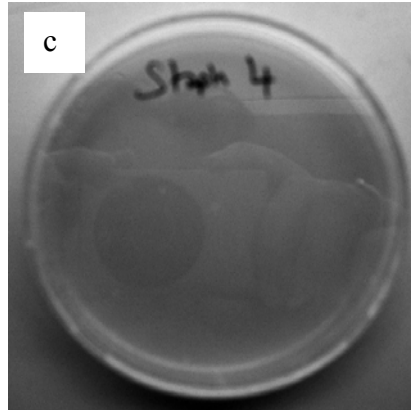
Şekil 6.19. (a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *E.coli* kolonilerinin sayısı (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *E.coli* kolonilerinin sayısı. (c) Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *E.coli* kolonilerinin sayısı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde hiç koloni büyümesi gözlenmemiştir. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit hiç koloni büyümesi gözlenmemiştir.



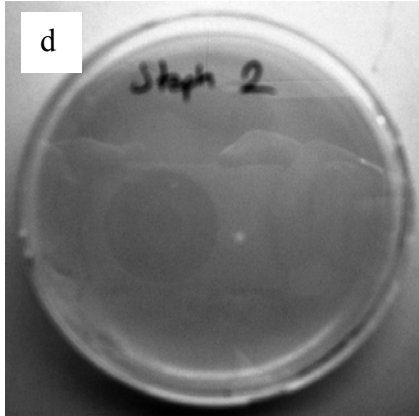
PCL-SiO₂ Kontrol (239)



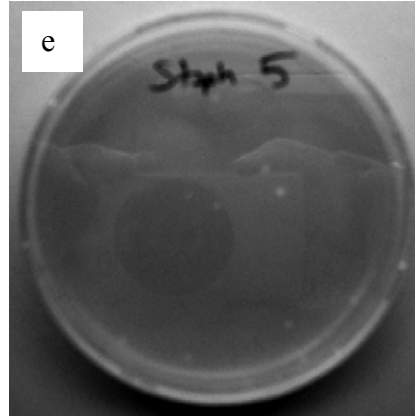
PCL-SiO₂: 0.25% TR (12)



PCL-SiO₂: 0.25% Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O (6)



PCL-SiO₂: 0.15% AgNO₃ (1)



PCL-SiO₂: 0.15% NanoAg çubuk (14)

Şekil 6.20. (a) Kontrol polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı (b) Triclosan katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı. (c) Na⁺TR⁻ (TR)₂ . H₂O katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı. (d) Gümüş nitrat katkılı polikaprolakton-silika kompozit filmde büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı. (e) Nano gümüş katkılı polikaprolakton-silika kompozit büyüyen *S.aureus* kolonilerinin sayısı.

BÖLÜM 7. DENEYSEL BULGU SONUÇLARI

Yapılan deneysel incelemelerde çeşitli antimikrobiyal maddelerin etkinliği saptanarak birbirleriyle karşılaştırma gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız triclosan 2,2,4'- trikloro-2'-hidroksidifenileter yapısal formülüne sahip antimikrobiyal madde olarak yaygın olarak kullanılan geniş spekturumlu organik bir kimyasaldır. Triclosana karşı zamanla mikroorganizmaların direnç meknizmaları geliştirmeleri önemli bir sorundur. Aynı zamanda triclosan bozulmadığından uzun süreli kullanımlarında doğada birikim göstererek olumsuz çevresel etkiler oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, hidrofobik yapılı triclosanın hidrofilik yapılı tuzunu elde ederek difüzyon özelliğini arttırdık. Böylelikle triclosanın polimer katkı maddesi olarak etkinliğini arttırıp arttıramadığımızı tespit etmeye çalıştık. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda polikaprolaktona karıştırılan triclosan ve triclosan tuzunun birbirine oldukça yakın antibakteriyal etki gösterdiği görülmüştür.

Antimikrobiyal katkılı polimer kompozitler hastanelerde, gıda ambalajları, biyoyumlu implantlar gibi geniş kullanım alanına sahiptir. Polimere ilave edilen antimikrobiyal maddelerin difüzyon hızı, süresi, polimer içinde veya yüzeyinde oluşu gibi özellikler bu maddelerin antimikrobiyal aktivitesinde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca polimer kompozitlerin hidrofobik veya hidrofilik yapıda olması da önemlidir.

Çalışmamızda polimer olarak kullandığımız polikaprolakton birçok avantaja sahiptir. Biyoyumlu ve biyoparçalanabilir olması, düşük erime sıcaklığına sahip olması (60 °C) avantajları arasındadır. Ancak bu kadar avantajının yanı sıra hidrofobik olma gibi bir dezavantaja sahiptir. Silika (%12,5 oranında) polikaprolaktona ilave edilerek oluşturulan kompozit hidrofilik özellik göstermiş polikaprolaktonun dezavantajı ortadan kaldırılmıştır. SiO₂, polikaprolaktonun deney ortamımız olan su molekülleri

ile etkileşimini sağlayarak etkin bir ara yüzey oluşturmaktadır. Böylelikle yüzeyin ıslatılması gerçekleştirilmiştir. Bu durumda polimere su girişi olabilmekte aynı zamanda polimer içinde bulunan antimikrobiyal madde ise polimer yüzeyine oradan da ortama diffüze olabilmektedir. Bu difüzyonu gerçekleştirerek uzun süreli antimikrobiyal etki elde edilebilecektir.

DeneySEL incelemelerde, daha önceden çalışılmış etkinliği bilenen gümüş nitrat ve triclosan kullanılarak kıyaslama gerçekleştirilmiştir. Nanogümüş parçacıklarının gümüş nitrat ve triclosana göre daha uzun süreli etki göstermesi beklenmektedir. Nanogümüşün daha önceki çalışmalarda %5 ile %0.5 aralığında polimerlere katılarak antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışmada bu oranı %0.15 e düşürerek nanogümüşün triclosana kıyasla antimikrobiyal aktivitesi ölçülmüştür. Nanogümüş triclosana kıyasla daha etkili antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, kendi kendine yüzeyini temizleyebilen polimer ve kompozit malzemelerin üretiminde nano gümüş parçacıklarının büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

BÖLÜM 8. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Tıbbi implant cihazların kullanımı sırasında ortaya çıkan ve çokca karşılaşılan bakteriyel enfeksiyonlara bağlı komplikasyonlar artan bir sorun teşkil etmektedir. Bu sorunu çözmek için değişik tıbbi cihazların yüzeylerine antibakterial maddeler uygulanmaktadır. Yapılan çalışmalarda iltihaplardan kaynaklanan enzimleri engellemek adına kullanılan antibiyotik ilaçları etkin hale getirmek için bakteriler ile ayrışabilen yeni polimer kullanımının uygulanabilirliği ölçülmüştür. Yapılan çalışmaların sonucu şunu gösterdi ki bu antimikrobiyal polimerler ya da benzer örnekler tıbbi cihazlardan kaynaklanan enfeksiyonların kontrolünde kullanmak için gelecek vaad ediyor [97].

Gümüş iyonunun ya da tuzların antimikrobiyal etkileri iyi bilinmektedir. Fakat mikroorganizma ve antimikrobiyal düzeneklerdeki gümüş nano parçacıkların etkisi açıkça belirtilmemektedir [98]. Bu çalışma da %0.15 nanogümüşlü 0.25mm polikaprolakton-silika'nın yüzeyindeki mikroorganizmalara karşı kendi kendini steril edebildiğini gösterdik. Bunun ötesinde, polikaprolakton, silika ve nanogümüşün kompozitleri çevresel ve insan toksitesi olmadan doğada bakterilere ayrışabilir [3].

Bu yüksek lisans çalışmasından hareketle daha düşük oranlı nanogümüş kullanılarak antimikrobiyal aktivite ölçümünün amaçlandığı bir çalışma yapılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] KENAWY, E., WORLEY, S.D., BROUGHTON, R., The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State-of-the-Art Review, American Chemical Society, 8, 5, pp. 1359-1382, 2007
- [2] SARKAR, S., JANA, A.D., SAMANTA, S.K., MOSTAFA, G., Facile Synthesis Of Silver Nano Particles With Highly Efficient Anti-Microbial Property, Polyhedron 26, pp. 4419–4426, 2007
- [3] OLGUN, U., TUNÇ, K., ÖZASLAN, V., Preparation of Self-Cleaning Polycaprolactone-Silica Composite Films with Nanosilver Particles and Their Antibacterial Activity Against *E. coli* and *S. aureus*, Nanobilim ve Nanoteknoloji Konferansı, İstanbul, sf. 144, 2008
- [4] DUAN, Y., JIA, J., WANG, S., YAN, W., JIN, L., WANG, Z., Preparation of Antimicrobial Poly(ϵ -caprolactone) Electrospun Nanofibers Containing Silver-Loaded Zirconium Phosphate Nanoparticles, Journal of Applied Polymer Science, 106, pp. 1208-1214, 2007
- [5] KLASSEN, H. J., Historical review of the use of silver in the treatment of burns: I. Early uses. Burns 26, pp. 117, 2000
- [6] MUTLU, G., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, sf. 479-480, Ankara, 1999
- [7] http://4.bp.blogspot.com/_DZH2cmCoois/Rm7DZNSnKeI/AAAAAAAAACUw/czAu4g5PPQE/s400, Nisan 2009
- [8] <http://www.pen-project.eu/images/site/gallery/Coloured%20em1%20ecoli>, Nisan 2009
- [9] HAKKI, B., Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları (Uygulama Konuları İle), Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, sf. 3-9, 240-247, İzmir, 2000
- [10] http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/moder_just/Images, Nisan 2009
- [11] ULUSOY, S., USLUER, G., SIVAL, S., Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları, Bilimsel Tıp Yayınevi, sf. 9, Ankara, 2004
- [12] <http://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/S.aureus>, Mayıs 2009

- [13] http://bioinfo.bact.wisc.edu/themicrobialworld/gram_pos, Mayıs 2009
- [14] ARIKAN, S., Temizlik, Dezenfeksiyon ve Sterilizasyon, Hastane İnfeksiyonları Dergisi (Turkish Journal of Hospital Infections), 1, 2, sf. 61, 1997
- [15] WILKE TOPÇU, A., SOYETİR, G., DOGANAY, M., Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Sistemlere Göre Enfeksiyonlar, 1, Nobel Tıp Kitapevleri, sf. 459 , İstanbul, 2008
- [16] BİLGEHAN, H., Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, sf. 48-49, İzmir, 2002
- [17] RUTALA, W.A., WEBER, D.J., The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, Draft Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, HICPAC, 2b. CDC, 2, pp. 20, 2002
- [18] <http://www.ific.narod.ru/Manual/Clean.htm>, Mart 2009
- [19] SEHULSTER, L., CHINN, R.Y.W., Guidelines for Environmental Infection Control in Health-Care Facilities Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, 2003
- [20] MCDONNELL, G., RUSSELL, A.D., Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance, Clinical Microbiology Reviews, 12, pp. 147, 1999
- [21] RUSSELL, A.D., Principles of Antimicrobial Activity, In: Block SS(ed), Disinfection, Sterilization, and Preservation, Fourth ed, Philadelphia, Lea&Febiger, 29-58, 1991
- [22] CHAMBERS, H.F., HADLEY, W.K., Miscellaneous Antimicrobial Agents; Disinfectants, Antiseptics & Sterilants, Basic & Clinical Pharmacology, Seventh ed, Connecticut, Appleton & Lange, 803-11, 1998
- [23] RUSSELL, A.D., Microbial susceptibility and resistance to chemical and physical agents. In: Collier L, Balows A, Sussman M(ed). Topley&Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Ninth Edition, London, Arnold, 1998
- [24] BHARGA, H.N., PATRICIA A., "Triclosan: Applications and Safety", Am J. Inf. Cont., 24, pp. 209-218, 1996
- [25] GAO, Y., CRANSTON, R., Recent Advances in Antimicrobial Treatments of Textiles, Textile Research Journal, 78, 1, pp. 60-72, 2008

- [26] McDONNELL, GE., Antisepsis, Disinfection and Sterilization: Types, Action and Resistance, American Society for Microbiology, pp. 138, Washington, 2007
- [27] LOWBURY, EJ., LILLY, HA., AYLIFFE, GA., Preoperative Disinfection Of Surgeons' Hands: Use Of Alcoholic Solutions And Effects Of Gloves On Skin Flora, Br Med J, 4, pp. 369, 1974
- [28] LILLY, HA., LOWBURY, EJ., WILKINS, MD., ZAGGY, A., Delayed Antimicrobial Effects Of Skin Disinfection By Alcohol. J Hyg (Lond), 82, pp. 497-500, 1979
- [29] <http://muratomu.tripod.com/elhijyeni>, Mart 2009
- [30] KAISER, AB., KERNODLE, DS., BARG, NL., PETRACEK, MR., Influence Of Preoperative Showers On Staphylococcal Skin Colonization: A Comparative Trial Of Antiseptic Skin Cleansers, Ann Thorac Surg, 45, pp. 35-8, 1988
- [31] ÇELİK, Ü., PARSAK, C., AKSARAY, N., Cerrahi Alan Enfeksiyonlarından Korunma, Çocuk Enfeksiyonları Dergisi, 1: 102-8, sf. 103-104, 2007
- [32] LEWY, C.W., ROUJEINIKOVA, A., SEDELNIKOVA, S., BAKER P.J., STUITJE A.R., SLABAST, A.R., RICE, D.W., RAFFERTY, J.B., "Moleculer Basis of Triclosan Activity", Nature, pp. 398, 383-385, 1999
- [33] HEATH, R.J., WHITE, S.W., ROCK, C.O., "Lipit Biosynthesis as a Target for Antibacterial Agents", Progress in Lipit Research, 40, pp. 467-497, 2001
- [34] SCHWEIZER, H.P., "Triclosan: A Widely Used Biocide and Its Link to Antibiotics", FEMS Microbiology Letters, 1-7, pp. 202, 2001
- [35] JONES, R.D., JAMPANI, H.B., NEWMAN, J.L., LEE, A.S., "Triclosan: A Review of Effectiveness and Safety in Health Care Settings", Am. J. Inf. Cont., 28, pp. 184-196, 2000
- [36] ADOLFSSON-ERICI, M., PETTERSSON, M., PARKKONEN, J., STURUE, J., " Triclosan A Commonly Used Bactericide Found in Human Milk and in the Aquatic Environment in Sweden", Chemosphere, 46, pp. 1485-1489, 2002
- [37] TILLER, J.C., LIAO, C.J., LEWIS, K., KLIBANOV, A.M., Designing Surfaces That Kill Bacteria On Contact, Proc Natl Acad Sci, USA , 98, pp. 5981, 2001

- [38] LIN, J., TILLER, J.C., BEOM LEE, S., LEWIS, K., KLIBANOV, A.M., Insights Into Bacterial Action Of Surface-Attached Poly(Viny-N-Hexylpyridinium)Chains, *Biotechnology Lett*, 24, pp. 801, 2002
- [39] LU, J., HILL, M.A., HOOD, M., GREESON, D.F Jr., HORTON, J.R., ORNDORFF, P.E., HERNDON, A.S., TONELLI, A.E., Formation Of Antibiotic, Biodegradable Polymers By Processing With Irgasan DP300R (Triclosan) And Its Inclusion Compound With B-Cyclodextrin, *J Ap Poly Sci*, 82, pp. 300, 2001
- [40] IMAZATO, S., TORII, M., TSUCHITANI, Y., Antibacterial Effect Of Composite Incorporating Triclosan Against *Sreptococcus mutans*, *J Osaka Univ Dnt Sch*, 5-11, pp. 35, 1995
- [41] SIMMONS, J., Antimicrobial Additive Systems See Increased Use In Polymers, *Plastics Additives & Compounding*, 3, pp.16-8, 2001
- [42] KALYON, B.D., OLGUN, U., Antibacterial Efficacy Of Triclosan-Incorporated Polymers, *AJIC Am J Infect Control*, 29, pp.124, 2001
- [43] MCMURRY, L.M., OETHINGER, M., LEVY, S.B., Overexpresion of *marA*, *soxS*, or *acrAB* Produces Resistance To Triclosan In Laboratory And Clinica Strains Of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*, 166, pp. 305-9, 1998
- [44] BALMER, M.E., BUSER, H.R., MULLER, M.D., Pol GER, T., “ Occurrence of Some Organic UV filters in wastewater, in Surface Waters, and in Fish from Swiss Lakes”, *Environmental Science and Technology*, 39, pp. 953-962, 2005
- [45] MUELLER, S.R., SINGER, H.P., CANONICA, S., “ Fate and Behavior of the Biocide Triclosan in the Aquatic Environment” Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 219, pp. 624, 2000.
- [46] THOMAS, P.M., FOSTER, G.D., “ Tracking Acidic Pharmaceuticals, caffeine, and Triclosan through the Wastewater Treatment Process”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, pp. 25-30, 2005
- [47] LEE, R.B., SARAFIN, K., PEART, T.E., SVOBODA, M.L., “Acidic Pharmaceuticals in Sewage- Methodology, Stability Test, Occurrence, and Removal from Ontario Samples”, *Water Quality Research Journal of Canada*, 38, pp. 667-682, 2003.
- [48] ERIKSSON, E., AUFFARTH, K., EILERSEN, A.M., HENZE, M, LEDIN, A, “Household Chemicals and Personal Care Products as Sources for Xenobiotic Organic Compounds in Grey Wastewater”, *Water Sa*, 29, pp. 135-146, 2003.

- [49] PAXEUS, N., "Removal of Selected Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (Nsaids), Gemfibrozil, Carbamazepine, Beta-Blockers, Trimethoprim and Triclosan in Conventional Wastewater Treatment Plants in Five EU Countries and Their Discharge to the Aquatic Environment", *Water Science and Technology*, 50, pp. 253-260, 2004.
- [50] LATCH, D.E., PACKER, J.L., STENDER, B.L., VANOUERBEKE, J., ARNOLD, W.A., MCNEILL, K., "Aqueous Photochemistry of Triclosan: Formation of 2,4-dichlorophenol, 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin, and Oligomerization Products", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, pp. 517-525, 2005.
- [51] TIXIER, C., SINGER, H.P., CANONICA, S., MULLER, S.R., "Phototransformation of Triclosan in Surface Waters: A Relevant Elimination Process for This Widely Used Biocide-Laboratory Studies, Field Measurements, and Modelling" *Environmental Science and Technology*, 36, pp. 342, 2002.
- [52] PICCOLI, A., FIORI, J., ANDRISANO, V., ORIOLI, M., Determination Of Triclosan In Personal Health Care Products By Liquid Chromatography (HPLC), *Il Farmaco*, 57, 5, pp. 369, 2002
- [53] VELDHOEN, N., SKIRROW, R., OSACHOFF, H., WIGMORE, H., CLAPSON, D., GUNDERSON, M., AGGELEN, G., HELBING, C., The Bactericidal Agent Triclosan Modulates Thyroid Hormone-Associated Gene Expression And Disrupts Postembryonic Anuran Development, *Aquatic Toxicol*, 80, pp. 217, 2006
- [54] MEZCUA, M., GOMEZ, M., FERRER, I., AGÜERA, A., HERNANDO, M., FERNANDEZ-ALBA, A., Evidence Of 2,7/2,8-Dibenzodichloro-*P*-Dioxin As A Photodegradation Product Of Triclosan In Water And Wastewater Samples, *Anal. Chim. Acta*, 524, 1-2, pp. 241, 2004
- [55] SANCHEZ-PRADO, L., LLOMPART, M., LORES, M., GARCIA-JARES, C., BAYONA, J., CELA, R., Monitoring The Photochemical Degradation Of Triclosan In Wastewater By UV Light And Sunlight Using Solid-Phase Microextraction, *Chemosphere* 65, pp. 1338, 2006
- [56] WILSON, B.A., SMITH, V.H., DENOYELLES, F, LARIVE, C.K., "Effects of Three Pharmaceutical and Personal Care Products on Natural Freshwater Algal Assemblages", *Environmental Science and Technology*, 37, pp. 1713-1719, 2003
- [57] DOKIANAKIS, S.N., KORNAROS, M.E., LYBERATOS, G, "On the Effect of Pharmaceuticals on Bacterial Nitrite Oxidation", *Water Science and Technology*, 50, pp. 341-346, 2004

- [58] KANDA, R., GRIFFI, P., JAMES, H.A., FOTHERGILL, J., "Pharmaceutical and Personal Care Products in Sewage Treatment Works", *Journal of Environmental Monitoring*, 5, pp. 823-830, 2003
- [59] BOYD, G.R., PALMERI, J.M., ZHANG, S.Y., GRIMM, D.A., "Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) and Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) in Stormwater Canals and Bayou St. John in New Orleans, Louisiana, USA", *Science of the Total Environment*, 333, pp. 137-148, 2004
- [60] FORAN, C.M., BENNETT, E.R., BENSON, W.H., "Developmental Evaluation of a Potential non-steroidal Estrogen: Triclosan", *Marine Environmental Research*, 50, pp. 153-156, 2000
- [61] SCHUSTER, A., DASCHNER, F., "Antibacterial Products in the Home: Change or Hazard?", *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 127, pp. 2340-2344, 2002
- [62] RUSSEL, A.D., "Biocides and Pharmacologically Active Drugs as Residues and in th Environment: Is There a Correlation with Antibiotic Resistance?", *American Journal of Infection Control*, 30, pp. 495-498, 2002
- [63] YILMAZER, S., Triclosan Antibiyotiğinin *Cephalosporium Aphidicola* Küfü ile Biyotransformasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, sf. 19-21, 2005
- [64] <http://www.nano-en.com/uygulama-antibakteriyel.html>, Mart 2009
- [65] TOPRAKKAYA, D., ORHAN, M., GÜNEŞOĞLU, C., Tekstillerde Hijyen Uygulamaları, Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongresi, Samsun, 2003
- [66] KONG, H., JANG, J., Antibacterial Properties Of Novel Poly(Methyl Methacrylate) Nanofiber Containing Silver Nanoparticles, *Langmuir*, 24, pp. 2051-2056, 2008
- [67] PERKAS, N., AMIRIAN, G., DUBINSKY, S., GAZIT, S., GEDANKEN A., Ultrasound –Assisted Coating Nylon 6,6 With Silver Nanoparticles And Its Antibacterial Activity, *Journal of Applied Polymer Science*, 104, pp. 1423-1430, 2007
- [68] BARTIK, K., Nano Ölçekte Talaş Kaldırmanın Simülasyonu, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007
- [69] CHEN, X., SCHLUESENER, H.J., Nanosilver: A Nanoproduct in Medical Application, *Toxicology Letters*, 176, 1, pp. 1-12, 2008

- [70] POPA, M., PRADELL, T., CRESPO, D., MORENO, J., Stable Silver Colloidal Dispersions Using Short Chain Polyethylene Glycol, *Physicochem*, 303, 3, pp. 184-190, 2007
- [71] BAKAR, N.H.H., ISMAIL, J., BAKAR, M., Synthesis And Characterization Of Silver Nanoparticles In Natural Rubber, *Chemistry and Physics*, 104, pp. 276-283, 2007
- [72] ZHENG, J., YU, H., LI, X., ZHANG, S., Enhanced Photocatalytic Activity Of TiO₂ Nano-Structured Thin Film With A Silver Hierarchical Configuration, *Applied Surface Science*, 254, 6, pp.1630-1635, 2007
- [73] KHANNA, P.K., SINGH, N., KULKARNI, D., DESHMUKH, S., CHARAN, S., ADHYAPAK, P.V., Water Based Simple synthesis Of Re-Dispersible Silver Nano-Particles, *Materials*, 2006.
- [74] PARK, K., SEO, D., LEE, J., Conductivity Of Silver Paste Prepared From Nanoparticles, *Physicochem*, 2007
- [75] BUGLA-PŁOSKOŃSKA, G., LESZKIEWICZ A., BORAK, B., JASIORSKI, M., DRULIS-KAWA, Z., BASZCZUK, A., MARUSZEWSKI, K., DOROSZKIEWICZ, W., Bactericidal Properties Of Silica Particles With Silver Islands Located On The Surface, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29, 6 , pp. 746-748, 2007
- [76] SOBANA, N., MURUGANADHAMI, M., SWAMINATHAN, M., Nano Ag Particles Doped TiO₂ For Efficient Photodegradation of Direct Azo Dyes, *Journal Of Molecular Catalysis*, 2006.
- [77] LANSDOWN, A.B., Toxicity In Mammals And How Its Products Aid Wound Repair, *J Wound Care*, 11, pp. 173, 2002
- [78] LANSDOWN, A.B., SAMPSON, B., LAUPATTARAKASEM, P., VUTTIVIROJANA, A., Silver Aids Healing In The Sterile Skin Wound: Experimental Studies In The Laboratory Rat. , *Br J Dermatol*, 137, pp. 728, 1997
- [79] GERONEMUS, R.G., MERTZ, P.M., EAGISTEIN, W.H., *Arch Dermatol*, *Journal of Applied Polymer Science*, 115, pp. 1311, 1979
- [80] ATGER, S., Antimicrobial Silver Nano-Particles Effective At Low Concentrations, *Materials*, 7, 3, pp. 13, 2005
- [81] YOU, Y., PARK, W.H., KO, B.M., MIN, B.M., Effects Of PVA Sponge Containing Chitooligosaccharide In The Early Stage Of Wound Healing. *J Mater Sci Mater Med*, 15, 3, pp. 297, 2004

- [82] DHANARAJU, M.D., GOPINATH, D., AHMED, M.R., JAYAKUMAR, R., VAMSADHARA, C., Characterization Of Polymeric Poly(Epsilon-Caprolactone) Injectable Implant Delivery System For The Controlled Delivery Of Contraceptive Steroids, *J Biomed Mater Res*, 76, 1, pp. 63, 2006
- [83] http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fc/Pcl_synthesis.png, Mart 2009
- [84] PRABHAKAR, R.L., BROCCINI, S., KNOWLES, J.C., Effect Of Glass Composition On The Degradation Properties And Ion Release Characteristics Of Phosphate Glass–Polycaprolactone Composites. *Biomaterials*, 26, pp. 2209–2218, 2005
- [85] MONDRINOS, M.J., DEMBZYNSKI, R., LIU, L., BYRAPOGU VENKATA, K.C., WOOTTON, D.M., LELKES, P.I., ZHOU, J., Porogen-Based Solid Free Form Fabrication Of Polycaprolactone–Calcium Phosphate Scaffolds For Tissue Engineering, *Biomaterials*, 27, pp. 4399–4408, 2006
- [86] YAO, D.G., SMITH, A., NAGARAJAN, P., VASQUEZ, A., DANG, L., CHAUDHRY, G.R., Fabrication Of Polycaprolactone Scaffolds Using A Sacrificial Compression-Molding Process., *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 77, pp. 287–295, 2006
- [87] SEREGIN, V.V., COFFER, J.L., Biomineralization of Calcium Disilicide In Porous Polycaprolactone Scaffolds, *Biomaterials*, 27, pp. 4745–4754 2006
- [88] XU, X.J., SY, J.C., SHASTRI, V.P., Towards Developing Surface Eroding Poly(A-Hydroxy Acids), *Biomaterials*, 27, pp. 3021, 2006
- [89] PRABHAKAR, R.L., BROCCINI, S., KNOWLES, J., Effect Of Glass Composition on The Degradation Properties And Ion Release Characteristics of Phosphate Glass–Polycaprolactone Composites, *Biomaterials*, 26, pp. 2209, 2005
- [90] MANO, J.F., SOUSA, R.A., BOESEL, L.F., NEVES, N.M., REIS, R.L., Bioinert, Biodegradable And Injectable Matrix Composites For Hard Tissue Replacement: State of The Art and Recent Developments, *Comp Sci Technol*, 64, pp. 789–817, 2004
- [91] OLGUN, U., Communication, 2009 (Bu Çalışmada Kullanılan Na^+TR^- $(\text{TR})_2\cdot\text{H}_2\text{O}$, Nano Gümüş ve PCL Kompozit İnce Filmler İle 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)

- [92] OLGUN, U., $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ Induced Solid-State and Solution Polymerization of Amino Acids, Yüksek Lisans Tezi, Stevens Institute of Technology, USA, 1999
- [93] FOO, H.L., TANIGUCHI, A., YU, H., OKANO, T., TEOH, S.H., Catalytic Surface Modification Of Roll-Milled Poly(ϵ -Caprolactone) Biaxially Stretched To Ultra-Thin Dimension, Materials Science And Engineering, C, 27, pp. 300, 2007
- [94] <http://www.dfmng.com.tw/member/standard/aatcc/aatcc/Front.pdf>, Nisan 2009
- [95] ZHANG, W., CHU, P.K., JI, J., ZHANG, Y., FU, R.K.Y., YAN, Q., Antibacterial Properties Of Plasma-Modified And Triclosan Or Bronopol Coated Polyethylene, Polymer, 47, pp. 932, 2006
- [96] ŞENER, B., Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Eğitim Kitabı, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, sf. 212, Ankara, 2003
- [97] WOO, G.L.Y., MITTELMAN, M.W., SANTERRE, J.P., Synthesis and Characterization of a Novel Biodegradable Antimicrobial Polymer, Biomaterials 21, pp. 1235-1246, 2000
- [98] KIM, J.S., KUK, E., YU, K.N., KIM, J.H., PARK, S.J., LEE, 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, pp. 95–101, (2007)

ÖZGEÇMİŞ

Vildan Özaslan 1981 yılında Kocaeli’de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Kocaeli’de tamamladı. 2002 yılında Sakarya Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Bölümünü bitirdi. 2003 yılında başladığı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2006 yılında fakülte birincisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.