

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

VÜCUT DIŞI POLİMERİK BİYOMALZEME
YÜZEYLERİNE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK VE
BİYOUYUMLULUK KAZANDIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜLŞAH ARSLAN

AĞUSTOS 2018

MUĞLA

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

VÜCUT DIŞI POLİMERİK BİYOMALZEME
YÜZEYLERİNE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK VE
BİYOUYUMLULUK KAZANDIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜLŞAH ARSLAN

AĞUSTOS 2018

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü
TEZ ONAYI

GÜLŞAH ARSLAN tarafından hazırlanan **VÜCUT DIŞI POLİMERİK BİYOMALZEMELERE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK VE BİYOUYUMLULUK KAZANDIRILMASI** başlıklı tezinin, 28/Ağustos/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Fatma AYHAN (Danışmanı)
Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



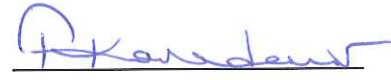
Doç. Dr. Hasan ERTAŞ (Jüri Başkanı)
Kimya Anabilim Dalı,
Ege Üniversitesi, İzmir

İmza:



Dr. Öğr. Üyesi Fikret KARADEMİR (Üye)
Sağlık Hizmetleri M.Y.O
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Mehmet Emin DURU
Kimya Anabilim Dalı Başkanı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Prof. Dr. Fatma AYHAN
Danışman, Kimya Anabilim Dalı,
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:



Savunma Tarihi: 28/08/2018

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Gülşah ARSLAN

28/08/2018

ÖZET

VÜCUT DIŞI POLİMERİK BİYOMALZEME YÜZEYLERİNE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK VE BİYOUYUMLULUK KAZANDIRILMASI

Gülşah ARSLAN

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Fatma AYHAN

Ağustos 2018, 116 sayfa

Tek kullanımlık kan torbaları içine alınan kan dondurulmadan en fazla 1 hafta dayanıklıdır. Kan torbalarının içinde antikoagülan olarak sodyum sitrat bulunur. Dondurulduktan sonra çözülerek hastalara verilen kan vücut tarafından etkin şekilde değerlendirilememektedir. Hasta vücutlarının verilen kanı daha etkin bir şekilde kullanabilmesi adına ve kanın daha uzun süre dayanım kazanması ve dondurulup-çözülen kanın şekilli kan hücrelerinde bozulmaları engellemek amacıyla kan torbası iç yüzeyinde bazı yüzey modifikasyon işlemleri yapılmıştır. Dondurulmadan verilecek kanın hastanın iyileşme sürecine etkisinin daha büyük olacağı açıktır.

Ticari kan torbalarının biyouyumluluğun artırılması ve antibakteriyel özellik kazanımı için yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, Medikal özellikli Polivinil klorürden (medical grade PVC) üretilmiş tek kullanımlık kan torbalarının kan ile temas halinde olan yüzeylerinin özelliklerinin değiştirilmesinde fiziksel adsorpsiyon ve Atmosferik plasma (elektriksel boşalım) (glow discharge) yöntemleri kullanılmıştır. Konvansiyonel kimyasal adsorbsiyon yöntemleri ile gelen safsızlıkların ve toksisite faktörlerinin azaltılması ve yüzey adsorbsiyon kapasitesinin artırılması amacıyla bu yöntem seçilmiştir. Sonraki yüzey modifikasyon işlemlerinde fiziksel adsorbsiyon kullanılmıştır. Bu bağlamda kan torbalarının iç yüzeyleri üç farklı yöntem ile modifiye edilmiştir.

Fiziksel adsorpsiyon yönteminde biyomalzeme yüzeyleri PEG, AgNP ve PEG+AgNP olmak üzere üç farklı şekilde modifiye edilmişlerdir. Atmosferik plazma sistemi kullanılarak yapılan işlemlerde ise Argon inert gazı ortamında farklı sürelerde (1-3-5

dak.) ve farklı güçlerde (0,5-1-3 A) yüzeyler elektriksel boşalım yöntemi ile pürüzlendirilmiştir. İkinci aşamada pürüzlendirilmiş yüzeyler polietilen glikol (PEG) ile kaplanarak biyoyumluluğun artırılması sağlanmış, üçüncü aşamada ise çevreci bir yaklaşımla grubumuz tarafından üretilen Gümüş nanopartiküller (AgNp) yüzeye adsorplanarak antibakteriyel özellik kazandırılmıştır. Araştırmada Muğla yöresi *Liquidambar orientalis* Mill. (Sığla ağacı) bitkisinin yaprak özütü kullanılarak gümüş nanoparçacık sentezi gerçekleştirilmiştir. Sonuçta kan ile temas halinde olan tıbbi malzemenin yüzey özellikleri, atmosferik plazma uygulanmasından sonra; PEG, AgNP ve PEG+AgNP immobilizasyonu olmak üzere üç farklı şekilde değiştirilmiştir. FTIR spektrumları ile yüzeyde oluşan fonksiyonel grup değişimleri belirlenmiş, biyoyumlu malzeme olan PEG'in de biyomalzeme yüzeyindeki varlığı benzer şekilde fonksiyonel gruplar ile doğrulanmıştır.

Modifiye edilen yüzeylerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacı ile nazokomiyal mikroorganizmaların üremeleri Disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bakteriler (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Metisilin dirençli S. aureus*) Nutrient besi ortamında, *C. albicans* ise Saboraud dekstrozu besi ortamında aktifleştirildikten sonra Muller Hinton agar bulunan Petri kutularına ekilmişlerdir. Yüzey özellikleri değiştirilen ve belli büyüklükte hazırlanan biyomalzemeler 2 cm aralıklarla besiyerine yerleştirilip inkübasyona bırakılarak süre sonunda inhibisyon zonları ölçülmüştür. İşlem görmemiş yüzeylerde antimikrobiyal aktivite % 50 iken en çok atmosferik plazma uygulaması sonrası bu oran %70 olarak hesaplanmıştır. Fiziksel adsorpsiyon denemelerinde bu değer % 89'a ulaşmıştır. Atmosferik plazma uygulaması sonrası gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite değeri % 95 oranında gerçekleşmiştir. Sonuç olarak önerilen yöntemler ile nazokomiyal mikroorganizma türlerine karşı antimikrobiyal aktivite kazandırmak için kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyomalzeme, Atmosferik Plazma Modifikasyonu, Poli(etilen glikol) (PEG), Gümüş nanoparçacıklar, İmmobilizasyon, Biyoyumluluk, Antimikrobiyal aktivite.

ABSTRACT

CREATING ANTIMICROBIAL PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY ON EXTRAKORPOREAL POLYMERIC BIOMATERIAL SURFACES

Gülşah ARSLAN

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Fatma AYHAN

July 2018, 116 pages

The blood taken to single use blood bags can be stored up to one week without freezing. Blood bags contain sodium citrate as anticoagulant. The use of defrozen blood in patients can not be beneficial effectively by body. The inner surface of the disposable blood bags was modified with several methods in order to be more effective when used in patient, make blood to stored for longer period, and to prevent the lysis of the blood cells after frozen and defrozen processes. It is clear the the use of blood without freezing will be more effective in healing time of patients.

The surface of the commercial blood bags was modified in order to increase the biocompatibility and gain antibacterial property. For this purpose, physical adsorption and atmospheric plasma (glow discharge) methods were used to change the single use blood bag's surface made from medical grade polyvinyl chloride (PVC) that contact with blood. Physical adsorption was selected due to trace materials and toxicity factors coming from conventional chemical adsorption methods and to increase the adsorption capacity. Hence, surface modification processes were conducted with physical adsorption method. In this context, the inner surface of single use blood bags was modified by using three methods.

Biomaterial surfaces were modified with physical adsorption method with three different types of arrangements which are selected as PEG, AgNP ve PEG+AgNP. The surfaces were roughened by glow discharge in atmospheric plasma system containing inert Argon phase at different times ((1-3-5 dak.) and powers (0,5-1-3 A). The roughened surfaces were coated with PEG to alter the biocompatibility in second stage, and third stage was the adsorption of the silver nanoparticles (AgNPs)

synthesized with green chemistry approach in our group to attain antibacterial properties. The AgNPs synthesis was performed by liquid leave broth of Muğla region *Liquidambar orientalis* Mill. (Sığla ağacı) plant. Ultimately, the surface properties of medical material contact with blood after with atmospheric plasma treatment were changed to three different types by immobilization of PEG, AgNP, and PEG+AgNP. The change in functional groups were determined by FTIR spectrums, the presence of biocompatible material, PEG was also conformed by its functional groups on biomaterial surface.

In order to determine the antimicrobial activities of modified surfaces, the growth of nosocomial microorganisms was estimated by Disk diffusion method. The culturing in Muller Hinton agar containing petri dishes were performed after the activation of bacteria (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Metisilin dirençli S. aureus*) in Nutrient broth, and *C. albicans* in Saboraud dextrose. Biomaterials with different surface properties were cutted at predetermined size were placed on growth media to incubate and the inhibition zones formed after incubation time were measured. Antimicrobial activity on untreated surfaces was about 50 % while it was calculated as 70 % after atmospheric plasma treatment. This ratio reached to 89 % in physical adsorption tests. The antimicrobial activity of 95 % ratio was obtained when atmospheric plasma application was performed. In conclusion, the proposed methods can be used to add antimicrobial activity on biomaterial surfaces against nosocomial microorganism types.

Key Words: Biomaterial, Atmospheric Plasma Modification, Poly(ethylene glycol) (PEG), Silver nanoparticles, Immobilization, Biocompatibility, antimicrobial activity.

Bu çalışma,

2000 yıllık insanlık tarihi boyunca en önemli bilimsel buluşların sahiplerine,

Dünya'ya vizyon katan en ufak fikir tanesini dudaklarından dökmüş her insana,

İlham veren çalışmalarını sakınmadan paylaşan, bilim meşalesini ellerinde söndürmeden taşıyan tüm paydaşlara,

Bilim yoldaşlarına,

Bu sevdaya gönül vermiş, bu uğurda öldürülmüş nefesi, boğazı kesilmiş buna rağmen son nefesine kadar susmamış, gerçeği haykırarak, tarihe damga vurmuş tüm bilim insanlarına,

Ve en çok da, tam 100 yıl öncesinde bugünlere gelebilmem için, **benim** için, bizim için uğraşmış, okuyabilmemi sağlamış, haklarımı savunmuş, aydın bir insan olma yolunda özgürce ilerlememi sağlamış, bilim üretirken, gece gündüz çalışırken, her umutsuzluğa kapıldığımda hep arkamda hissettiğim, en büyük destekçim, hiç tanışmadığım,

Sayın Gazi Mustafa Kemal Atatürk'e

Açtığı yolda, gösterdiği hedefte

İthaf edilmiştir.

ÖNSÖZ

Çok yönlü çalışma ortamını ve rahatlığını, engin bilgilerini, yer yer hayat tecrübelerini benimle paylaşarak, bana değer veren ve bunu her fırsatta gösteren çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Fatma Ayhan'a ve Prof. Dr. Hakan Ayhan hocama, özellikle, laboratuvarımızın evim olmasını sağladıkları için sonsuz teşekkür ederim. Farklı bir disiplinde ilerlemek isteyişimi, şevkimi hiçbir zaman kırmadıkları, aksine teşfik ettikleri, sadece bilimsel ilerleme değil aynı zamanda kişisel gelişimime katkıda bulundukları için de ayrıca teşekkür ederim.

Yüksek lisansa Muğla Üniversitesi Kimya Bölümü'nde başlamama ön ayak olan ve yüksek lisans süresince desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Oğuz Akpolat hocama, mikrobiyoloji deneylerinde hem laboratuvarını, hem bilgilerini benimle paylaşan çalışmalarımıza büyük katkı sağlayan sevgili hocam Dr. Öğretim Üyesi Fikret Karademir'e çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans ders döneminde yanımda olan, yola beraber çıktığım, benim okul içinde hiç yabancılık çekmememi sağlayan değerli arkadaşım Kimyager Ezgi Öztürk'e ve en çok da tüm sorularımı bıkmadan cevaplayan, tüm sorunlarımı çözmemde bana yardım eden, hastalıkta, sağlıkta, okulda, evde, sınavlarda, bilim kongrelerinde, başka şehirlerde hep yanımda olan çok değerli Yüksek Biyokimyager Sabiha Demirci'ye ise teşekkürlerimi borç bilirim.

Bilim ışığında yürürken her zaman yanımda olan kardeşim Mehmet Arslan'a, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve bugünlere güçlü bir şekilde ulaşmamı sağlayan annem Münevver Arslan ve babam Serdar Arslan'a en içten minnet ve duygularla;

Sonsuz Teşekkürlerimi Sunarım.

Gülşah ARSLAN

28/08/2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT	viii
ÖNSÖZ.....	ix
İÇİNDEKİLER	x
ÇİZELGELER VE TABLOLAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xviii
1.GİRİŞ	19
1.1. Amaç ve Kapsam.....	22
1.2. Kaynak Özetleri.....	24
1.2.1. Biyomalzemeler	25
1.2.1.1. <i>Biyomalzemelerin kullanım alanları</i>	25
1.2.1.2. <i>Metalik biyomalzemeler</i>	26
1.2.1.3. <i>Seramik biyomalzemeler</i>	27
1.2.1.4. <i>Polimerik biyomalzemeler</i>	27
1.2.1.5. <i>Kompozit biyomalzemeler</i>	28
1.2.2. Medikal özellikli Polivinil Klorür (PVC) kan torbaları.....	28
1.2.3. Polietilen Glikol (PEG).....	28
1.2.4. Nanopartiküller	31
1.2.4.1. <i>Biyosentez yöntemi</i>	32
1.2.4.2. <i>Nanopartiküllerin biyomedikal alanda kullanımı</i>	33
1.2.4.3. <i>Gümüş nanopartiküller</i>	33
1.2.5. Biyouyumluluk	36
1.2.6. Yüzey modifikasyonları	37
1.2.6.1. <i>Fiziksel adsorpsiyon</i>	37
1.2.6.2. <i>Kimyasal adsorpsiyon</i>	38
1.2.6.3. <i>Biyolojik adsorpsiyon</i>	38
1.2.6.4. <i>Elektrostatik adsorpsiyon</i>	39

1.2.6.5. PEG'ilasyon.....	39
1.2.6.6. İmmobilizasyon	40
1.2.7. Plazma teknolojisi.....	42
1.2.7.1. Atmosferik plazma	43
1.2.7.2. Plazma tipleri	44
1.2.7.3. Çalışma prensibi	44
1.2.7.4. Plazma teknolojisi uygulamaları	46
1.2.8. Antimikrobiyal aktivite kavramı	49
1.2.8.1. Antimikrobiyal aktivite için uygun tekniğin belirlenmesi.....	49
2. MALZEME VE YÖNTEM	51
2.1. Malzemeler	51
2.1.2. Kullanılan cihazlar	51
2.2. Yöntem	52
2.2.1. Çevreci yaklaşımla agnp sentezi.....	52
2.2.2. Fiziksel adsorbsiyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu.....	53
2.2.2.1. Biyomalzeme yüzeylerine PEG adsorpsiyonu	53
2.2.2.2. Biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu	54
2.2.2.3. PEG kaplı biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu.....	54
2.2.3. Atmosferik plazma yöntemiyle yüzey modifikasyonu	54
2.2.3.1. Atmosferik plazma yöntemiyle biyomalzeme yüzeylerine PEG immobilizasyonu	55
2.2.3.2. Atmosferik plazma yöntemiyle biyomalzeme yüzeylerine AgNP immobilizasyonu.....	56
2.2.3.3. Atmosferik Plazma Yöntemiyle PEG Kaplı Biyomalzeme Yüzeylerine AgNP İmmobilizasyonu	56
2.2.4. Biyomalzemenin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi	57
3. BULGULAR VE TARTIŞILMASI	59
3.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	59
3.2. Yöntem	61
3.3. Çevreci Yaklaşımla AgNP sentezi	61
3.2.2. Fiziksel adsorbsiyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu.....	62
3.2.2.1. Biyomalzeme yüzeylerine PEG adsorpsiyonu	63
3.2.2.2. Biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu	63
3.2.2.3. PEG kaplı biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu.....	64

3.2.3. Atmosferik plazma yöntemiyle yüzey modifikasyonu	66
3.2.3.1. <i>Biyomalzeme yüzeylerine PEG immobilizasyonu</i>	67
3.2.3.2. <i>Biyomalzeme yüzeylerine AgNP immobilizasyonu.....</i>	68
3.2.3.3. <i>PEG kaplı biyomalzeme yüzeylerine AgNP immobilizasyonu</i>	69
3.2.4. PVC Biyomalzemelerin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi	70
3.2.4.1. <i>PVC biyomalzemelerin adsorpsiyon işlemi sonrası antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi</i>	70
3.2.4.2. <i>PVC biyomalzemelerin plazma işlemi öncesi antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi</i>	76
3.2.4.3. <i>PVC biyomalzemelerin sadece plazma işlemi sonrası antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi</i>	79
3.2.4.4. <i>PVC biyomalzemelerin plazma işlemi sonrası immobilize yüzeylerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi</i>	86
3.2.4.4.1. <i>Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları</i>	88
3.2.4.4.2. <i>Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları</i>	94
3.2.4.4.3. <i>Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları</i>	100
4. SONUÇLAR	107
KAYNAKLAR	108
EKLER.....	

ÇİZELGELER VE TABLOLAR DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Biyomalzemelerin kullanımına örnekler	25
Çizelge 1.2.	Gümüş nanopartiküllerin kullanım alanlarına örnekler	33
Çizelge 2.1.	Nazokomial mikroorganizmalar ve özellikleri	57
Çizelge 3.1.	Adsorpsiyon yöntemi ile üç farklı yüzey özelliği kazandırılan PVC biyomalzeme yüzeylerinin antimikrobiyal aktiviteleri	70
Çizelge 3.2.	İşlem görmemiş PVC biyomalzemelerin antimikrobiyal aktivite değerleri	76
Çizelge 3.3.	PVC biyomalzemelerin plazma işlemi sonrası antimikrobiyal aktivite değerleri.	79
Çizelge 3.4.	Üç Farklı kimyasal özelliğe sahip PVC biyomalzemelerin antimikrobiyal aktivite değerleri.....	86

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Polietilen glikol molekülünün açık formülü.....	28
Şekil 1.2.	Bazı Polietilen glikol türevleri.....	30
Şekil 1.3.	Çevreci nanopartikül sentezinin mekanizması	32
Şekil 1.4.	Maddenin halleri.....	43
Şekil 1.5.	Plazma işlemi.....	45
Şekil 2.1.	Çevreci yaklaşımla gümüş nanopartikül sentez aşamaları	53
Şekil 2.2.	PEG çözeltisi ile muamale edilen PVC biyomalzeme	53
Şekil 2.3.	Plazma polimerizasyon cihazı	55
Şekil 2.4.	Plazma polimerizasyon cihazının plakaları arasına yerleştirilmiş 10 mm çaplı PVC biyomalzeme.....	56
Şekil 2.5.	Atmosferik plazma işlemi sonrası yüzey modifikasyonlarına hazırlanmış örnekler	57
Şekil 3.1.	Yöresel <i>L. orientalis</i> mill. bitkisinin yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin TEM fotoğrafları.....	60
Şekil 3.2.	Sentezlenen AgNP'lerin boyut analizi.....	61
Şekil 3.3.	Sentezlenen AgNP (EDS analizi)	61
Şekil 3.4.	AgNP FTIR spekturumu.....	62
Şekil 3.5.	Araştırmada kullanılan kan torbası biyomalzeme.	62
Şekil 3.6.	Deneylerde kullanılmak üzere hazırlanmış biyomalzeme.....	63
Şekil 3.7.	Medikal PVC Biyomalzeme yüzeyinin a) AgNP, b) PEG-AgNP ve c) PEG ile değiştirildikten sonra alınan ATR-FTIR spektrumları. 65	
Şekil 3.8.	İşlem görmemiş PVC yüzey ATR-FTIR spekturumu.....	66
Şekil 3.9.	Plazma sonrası boş PVC yüzey ATR-FTIR spekturumu.....	66
Şekil 3.10.	ATR-FTIR spektrumları; (a) işlem görmemiş PVC yüzey; (b) Plazma sonrası PVC yüzey	67
Şekil 3.11.	PEG immobilize PVC yüzey ATR-FTIR spekturumu.....	67
Şekil 3.12.	AgNP immobilize PVC yüzey ATR-FTIR.	67
Şekil 3.13.	PEG+AgNP immobilize PVC yüzey ATR-FTIR.....	68
Şekil 3.14.	Antimikrobiyal aktivite denemeleri öncesi modifiye biyomalzeme ..	69

Şekil 3.15.	<i>E. coli</i> ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.	71
Şekil 3.16.	<i>K. pneumoniae</i> ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.	72
Şekil 3.17.	<i>P. aeruginosa</i> ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.	73
Şekil 3.18.	<i>S. aureus</i> ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.	73
Şekil 3.19.	<i>Met Dirençli S. aureus</i> ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.	74
Şekil 3.20.	<i>C. albicans</i> ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.	76
Şekil 3.21.	İşlem görmemiş PVC biyomalzemelerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) <i>C.albicans</i> ; (b) <i>E. Coli</i> ; (c) <i>K. pneumoniae</i> ; (d) <i>P. aeruginosa</i> ; (e) <i>Metisilin dirençli S. aureus</i> ; (f) <i>S. Aureus</i>	78
Şekil 3.22.	<i>C. albicans</i> ile Plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika	80
Şekil 3.23.	<i>E. Coli</i> ile Plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.	81
Şekil 3.24.	<i>K. pneumoniae</i> ile Plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.	82
Şekil 3.25.	<i>P. aeruginosa</i> ile Plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.	83
Şekil 3.26.	<i>Metisilin dirençli S. aureus</i> ile Plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.	84
Şekil 3.27.	<i>S. aureus</i> ile Plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.	85
Şekil 3.28.	<i>C. albicans</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper;	

	(c) 5 Amper.....	89
Şekil 3.29.	<i>E. coli</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	90
Şekil 3.30.	<i>K. pneumoniae</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	91
Şekil 3.31.	<i>P. aeruginosa</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.	92
Şekil 3.32.	<i>Metisilin dirençli S. aureus</i> 13 ile Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	93
Şekil 3.33.	<i>S. aureus</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.	94
Şekil 3.34.	<i>C. albicans</i> ile Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.	95
Şekil 3.35.	<i>E. coli</i> ile Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	96
Şekil 3.36.	<i>K. pneumoniae</i> ile Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	97
Şekil 3.37.	<i>P. aeruginosa</i> ile Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	98
Şekil 3.38.	<i>Metisilin dirençli S. aureus</i> ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	99

Şekil 3.39.	<i>S. aureus</i> ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	100
Şekil 3.40.	<i>C. albicans</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG + AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	101
Şekil 3.41.	<i>E. coli</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	102
Şekil 3.42.	<i>K. pneumoniae</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	103
Şekil 3.43.	<i>P. aeruginosa</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	104
Şekil 3.44.	<i>Metisilin dirençli S. aureus</i> 13 ile Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	105
Şekil 3.45.	<i>S. aureus</i> ile Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.....	106

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

PEG	Polietilen Glikol
AgNP	Gümüş Nanopartikül
PVC	Polivinil Klorür
<i>L.orientallis</i> mill.	<i>Liquidambar orientallis</i> miller
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>P. aurogenisia</i>	<i>Pseudomonas aurogenisia</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
A	Amper
Dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
µg	Mikrogram
kmol	Kilomol
kcal	Kilokalori
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
nm	Nanometre
rpm	Revolutions per Minute
°C	Santigrat Derece Sıcaklık Birimi
°A	Angstrom Uzunluk Birimi
°K	Kelvin Sıcaklık Birimi
pH	Hidrojen Potansiyeli
MA	Molekül Ağırlığı
UV	Ultra Viyole
ATR-FT-IR	Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
TEM	Transmission Electron Microscope (Trasmisyon Elektron Mikroskobu)
MLK	Minimal Letal Konsantrasyonu
MİK	Minimal İnhibitör Konsantrasyonu

1. GİRİŞ

Kanın insan hayatı içi önemi oldukça büyüktür. Kan içerisinde tüm doku, organ ve sistemleri besleyebilecek biyolojik materyalleri barındırır. Kan, canlı bir sıvı olarak damarlar içerisinde sürekli hareket halindedir. Plazma ve hücrelerden oluşan kanın, plazma kısmını su oluşturur ve proteinler, besin maddeleri ve metabolitler gibi katı maddeleri birçok farklı şekilde barındırır. Kan ise içerisinde bulundurduğu bu maddelerin dokulara naklini sağlamaktadır. % 50-60'ı sıvı kısım olan plazma ve %40-50'si ise hücrelerden meydana gelen kan, ortalama olarak bir insanda 5000-6000 mL (5-6 litre) kadar bulunmaktadır. Plazmanın kısmının % 90'ı sudur. % 8'i proteinler, % 2'si ise diğer çözünmüş maddeler olan plazmanın toplamda yaklaşık %10'u katı maddelerden oluşmaktadır. Kanın temel protein içeriğinde Albumin (% 60), Globulinler (% 36), Fibrinojen (% 4) bulunmaktadır. Şekli hücreler ise, Lökositler, Eritrositler, Lenfositler, Nötrofiller, Trombositler (Platletler), Parçalı Lökositler (Granulositler, PMNL), Bazofiller, Parçalı Olmayan, Lökositler (Agranulositler, MNL), Eozinofiller, Monositlerdir.

Modern tıp uygulamaları içerisinde vazgeçilmez araçlardan olan ve kan ile temas eden biyomalzemeler belirli amaçlarla uzun süreli kullanımı sağlanmaktadır. Bu kapsamlı, yararlı kullanımlarıyla kan ile teması olan biyomalzemeler, hastalar için büyük yararlar sağlarlar da, mekanik ve infeksiyöz komplikasyonlar sebebiyle mortalite ve morbiditeye neden olurlar. Kalıcı olarak uzun süre biyomalzeme kullanımının en önemli komplikasyonları trombus oluşumu ve enfeksiyondur. Özellikle *S.aureus* gibi biyofilm tabaka oluşturan ve virülansları yüksek bakterilerin osteomyelit ve endokardit gibi sistemik enfeksiyon yapma ve erken rekürrens sıklığı daha yüksektir. Kan ile teması olan biyomalzemelerin kolonizasyonunun en sık karşılaşılan etkenleri koagülaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* türleri gibi biofilm oluşturabilen mikrobiyal organizmalardır. Söz konusu enfeksiyonlar kan ile teması olan biyomalzemelerin yüzeylerinde meydana gelen biyofilm tabakası ile ilgilidir. **Kolonizasyon** ve

biyofilm biyomalzeme yerleştirildikten sonra üç gün içinde oluşur. On günden daha az sürelerde biyomalzemenin dış yüzünde biyofilm oluşurken, 30 günü aşan sürelerde biyomalzemenin iç yüzeyinde de oluştuğu gözlemlenmiştir.

Biyouyumluluk biyomalzemenin vücutdoku ve sistemlerine uygun cevap verebilme kabiliyeti olarak tanımlanmıştır. Bir biyomalzemenin en önemli özelliği biyouyumluluktur. Biyouyumlu (**vücutla uyuşabilir**) bir biyomalzeme, etrafındaki dokuların normal değişim ve faaliyetlerini engellemeyen ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) oluşturmeyen malzemedir. Biyouyumluluk biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğu olarak iki farklı şekilde tanımlanmıştır. **Yüzey uyumluluğu**, bir biyomalzemenin vücut doku ve organlarına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. **Yapısal uyumluluk** ise, malzemenin vücut doku ve organlarının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur. Canlı bedenine yerleştirilebilir cihazların hazırlanmasında biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler kullanılır.

Polietilen glikol (PEG), polimer-protein konjugatların hazırlanmasında kullanılan alternatif polimerdir. Ardışık olarak tekrar eden etilen oksit monomerleri içerirler. Bu monomerler birden fazla türde birleştirilebilir. PEG, küçük veya büyük bir PEG molekülü olarak veya 2 PEG molekülü olarak tek bir noktaya veya çok sayıda küçük zincirler olarak ilişkili proteinin yapısına yapıştırılabilir. PEG'in avantajları: Yüksüz, çözünür, nontoksik ve nonimmunojenik oluşudur ve bu nedenle de aktif biyomolekülleri korumak için ideal bir malzemedir.

Nanopartikül üretiminde maliyetin engelleyici bir unsur olması ve aynı zamanda bu risklerin tam olarak bilinmemesi nedeniyle son yıllarda mikroorganizmalar, mantarlar ve çeşitli bitki özütleri kullanılarak yeni üretim metotları denenmeye başlanmıştır. Bu yöntemler **biyosentez** tanımı organizmalardaki kimyasal süreçleri belirten terimdir. Bu süreçler, basit yapılı maddelerden daha kompleks yapılı maddelerin sentezini enerji kullanılarak elde etmeye olanak sağlar. **Biyosentezin** nontoksik, basit ve ekonomik oluşu, ticari üretime geniş yelpazede elverişli olması farmakolojik ve biyomedikal uygulamalara uygun oluşu gibi avantajlarından dolayı çok sık kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca yeşil kimya açısından da sentez için seçilen çözücü ortamı, çevre açısından tehlikesiz indirgeme ajanının seçimi ve nanoparçacıkların sabitlenmesi için zehirli olmayan bir maddenin seçimi yönleri ile

de biyolojik yöntemler önem kazanmaktadır.

Gümüşün uzun zamandır tıbbi ve endüstriyel işlemlerde yer alan birçok bakteri suşunu ve mikroorganizmaları engelleyici özellikte olduğu bilinmektedir. Gümüş ve gümüş nanopartikül en yaygın kullanılan ve bilinen uygulamaları yanık ve açık yaralarda iltihap engelleyici gümüş içeren bölgesel merhem ve kremler, gümüş içeren polimerler ile hazırlanmış tıbbi cihaz ve implantlar yer almaktadır. Gümüş bileşenleri ile kaplanmış polimerik biyomalzemelerde, nazokomiyal bakteriler tarafından oluşturulan mikrobiyal biyofilm tabakasının yol açtığı enfeksiyonları önlemek amacı ile kullanılmaktadır. Doğal kaynaklardan özellikle gümüş nanopartikülleri elde edilmesi son yıllarda üzerinde sıkça çalışmalar yapılan bir yöntemdir. AgNP sentezinde seçilen biyolojik yöneme göre örneğin alglerde özütteki proteinin indirgeme ve şekil kontrolünden sorumlu olduğu, mantar kullanıldığında Ag⁺ iyonlarının indirgenmesinde nadha bağlı redüktazı içeren enzimatik işlemin sorumlu olduğu, yine başka özütlerde proteinlerin ve protein kalıntılarının sorumlu olduğu yönünde raporlar bildirilmiştir.

Plazma polimerizasyon işleminin biyomalzemelerin kaplanması ve yüzey özelliklerinin modifikasyonu açısından önemlidir. İşlem, kısa işlem süreleri düşük maliyetler, ve zararlı kimyasallar gibi atıklardan kaçınma avantajları ile çevre dostu bir yöntemdir. Ayrıca, biyomalzemelerin yüzey özellikleri değiştirilirken mekanik özelliklerine zarar verilmemektedir. Biyomalzemelerin esas özellikleri etkilenmemektedir çünkü plazmanın etkileri, malzeme yüzeyden et kalınlığı boyunca içeriye doğru 100Å'dan seviyelerini geçemez.

Bir maddeye ardışık ve sürekli olarak enerji verildiğinde önce katı halden sıvı hale ardından sıvı halden gaz hale veya direkt olarak katı halden gaz haline geçer. Gaz haldeki bir maddede enerji verilmeye devam edildiğinde ise gazın öncelikler nötr atomları ve molekülleri yüklenir ve negatif veya pozitif yüklü iyonlara, negatif yüklü elektronlara ve diğer radikallere parçalanmaktadır. Fakat ortamın elektrik yükü net olarak nötürdür. "0" yüklü bu parçacıkların karışımına plazma adı verilmiştir.

Kısmen iyonize edilmiş olan gaz anlamına gelen plazma, aynı zamanda maddenin 4. hali olarak da adlandırılmaktadır. Plazma haline ulaşabilmek için çok yüksek sıcaklık ve güçlü elektrik akımı veya magnetic alana ihtiyaç vardır. Bazen de elektrik alan ve magnetik alan birlikte plazmayı oluşturabilmektedir. Tüm atomlar ve moleküller

1000°K'nin üzerindeki sıcaklıklarda plazma hale geçebilmektedir.

Evrenin % 99'unun plazma halde olduğu ancak Güneş sisteminde durumun böyle olmadığı tahmin edilmektedir. Laboratuvar koşullarında plazma, alev, elektriksel boşalım, kontrollü nükleer reaksiyonlar, şok, yanma ve benzeri etkilerle oluşturulabilmektedir

“Elektriksel boşalım” (glow discharge) sürekli plazma ortamı sağlamak için en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Elektriksel yük boşalımıyla oluşturulan plazma **“low-temperature plazma”** şeklinde adlandırılmaktadır.

1.1. Amaç Kapsam

Hastane enfeksiyonları tıptaki gelişmelerle birlikte gündemimize girmiştir ve tüm dünyayı ilgilendiren önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Önenebilir enfeksiyonlar olan hastane enfeksiyonları sağlık hizmetlerinin kalitesinde alınan sonuçların olumsuz etkilenmesine yol açmaktadır. Hastanelerdeki enfeksiyonlar hastane birimleri, hastaneler, bölgeler ve ülkeler arasında bile farklılık göstermektedir. Günümüzde hastanelerdeki enfeksiyon komiteleri aracılığı ile enfeksiyon oranları izlenmekte ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda riskli servisler belirlenerek kontrol önlemleri alınmaktadır. Örneğin yoğun bakım ünitelerinde diğer hastalara oranla, invazif giriş yolunun daha sık kullanılmış olduğu hastaların hastanede kalış süreleri genel durum bozuklukları nedeniyle daha uzun olmaktadır. Hastalara genelde geniş spektrumlu antibiyotik uygulanmaktadır. Bu yüzden özellikle yoğun bakım kısmında yatmakata olan hastalar hastane enfeksiyonlarıyla daha sık karşı karşıyadır (Ertürk, 2012).

Pediyatri ve Göğüs Hastalıkları Yoğun Bakım Ünite'lerinde, Ortopedi, Anestezi ve Reanimasyon, ve Beyin Cerrahisi, ve İç Hastalıkları Servisleri, Hematoloji kliniği ve yoğun bakım ünitelerinde *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Koagülaz Negatif Stafilokok* ve *Candida* türlerinin çeşitli ilaçlara karşı dirençlerinin arttığı araştırmalar ile gösterilmiştir (Ertürk, 2012; Karahocagel, 2011; Aytav).

Kan torbalarının içinde antikoagülan olarak sadece sodyum sitrat bulunur.

Dondurulduktan sonra çözülerek hastalara verilmiş kan, vücut tarafından etkin şekilde değerlendirilememektedir. Dondurulmadan verilecek kanın hastanın iyileşme sürecine etkisi daha büyüktür.

Yapılan bu araştırma kapsamında;

Hasta vücutlarının verilen kanı daha etkin bir şekilde kullanabilmesi adına ve kanın daha uzun süre dayanım kazanması, dondurulma işlemi ile şekilli kan hücrelerinde bozulmaları engellemek, biyoyumluluğun artırılması ve antibakteriyel özellik kazanımı amacıyla kan torbası yüzeyinde bazı yüzey modifikasyon işlemleri yapılmıştır.

Poli(etilen glikol) (PEG) yüksek hidrofilitesi, hidroksil grupları varlığı ve biyoyumluluğu nedeniyle tercih edilmiştir. Nanopartikül sentezlenirken Türkiye'nin özellikle güney-batı kıyı bölgelerinde yerel dağılım gösteren (Köyceğiz, Fethiye, Marmaris ve Milas) ve sığla ağacı olarak bilinen *Liquidambar orientalis* mill (*L.orientalis* mill.) yöresel bitkisi kullanılmıştır. Araştırmada Muğla yöresi sığla ağacı bitkisinin yaprak özütü ile gümüş nanoparçacık sentezi gerçekleştirilmiştir.

Kan ile temas halinde olan tıbbi malzemenin yüzey özellikleri, PEG, AgNP ve PEG+AgNP adsorpsiyonu ve immobilizasyonu olmak üzere her biri için üç farklı şekilde yüzey modifikasyonu sağlanmıştır.

Bu modifikasyonlara ek olarak Atmosferik plazma yöntemi kullanılarak yüzey pürüzlendirilmiş ve immobilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Belli sürelerde ve akım şiddetlerinde PVC yüzeye elektriksel boşalım uygulanmıştır. Daha sonra iki aşamalı olarak planlanmış yüzey modifikasyon işlemlerinden immobilizasyon uygulamasına geçilmiştir.

Mikroorganizmaların antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacı ile disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Ekimler sonucunda malzemenin inhibisyon zon çapı ölçülerek toplamda kullanılan 6 tip mikroorganizmaya uygun optimum antimikrobiyal aktiviteler yorumlanmıştır.

Hazırlanan bu tezde antimikrobiyal aktivite tayini için kullanılan biyomalzemenin sıvı formda olmaması, deney parametrelerinin fazlalığı ve inhibisyon zonunu ölçerken minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerini en uygun şekilde ölçebilen ekim yöntemlerinden disk difüzyon tekniği kullanılmıştır.

1.2. Kaynak Özetleri

Kanın insan hayatı içi önemi oldukça büyüktür. Kan içerisinde tüm doku, organ ve sistemleri besleyebilecek biyolojik materyalleri barındırır. Kan, canlı bir sıvı olarak damarlar içerisinde sürekli hareket halindedir. Plazma ve hücrelerden oluşan kanın, plazma kısmını su oluşturur ve proteinler, besin maddeleri ve metabolitler gibi katı maddeleri birçok farklı şekilde barındırır. Kan ise içerisinde bulundurduğu bu maddelerin dokulara naklini sağlamaktadır. % 50-60'ı sıvı kısım olan plazma ve %40-50'si ise hücrelerden meydana gelen kan, ortalama olarak bir insanda 5000-6000 mL (5-6 litre) kadar bulunmaktadır. Plazmanın kısmının % 90'ı sudur. % 8'i proteinler, % 2'si ise diğer çözünmüş maddeler olan plazmanın toplamda yaklaşık %10'u katı maddelerden oluşmaktadır. Kanın temel protein içeriğinde Albumin (% 60), Globulinler (% 36), Fibrinojen (% 4) bulunmaktadır. Şekli hücreler ise, Lökositler, Eritrositler, Lenfositler, Nötrofiller, Trombositler (Platletler), Parçalı Lökositler (Granulositler, PMNL), Bazofiller, Parçalı Olmayan, Lökositler (Agranulositler, MNL), Eozinofiller, Monositlerdir.

Modern tıp uygulamaları içerisinde vazgeçilmez araçlardan olan ve kan ile temas eden biyomalzemeler belirli amaçlarla uzun süreli kullanımı sağlanmaktadır. Bu kapsamlı, yararlı kullanımlarıyla kan ile teması olan biyomalzemeler, hastalar için büyük yararlar sağlasalar da, mekanik ve enfeksiyöz komplikasyonlar sebebiyle mortalite ve morbiditeye neden olurlar. Kalıcı olarak uzun süre biyomalzeme kullanımının en önemli komplikasyonları trombus oluşumu ve enfeksiyondur. Özellikle *S.aureus* gibi biyofilm tabaka oluşturan ve virülansları yüksek bakterilerin osteomyelit ve endokardit gibi sistemik enfeksiyon yapma ve erken rekürrens sıklığı daha yüksektir. Kan ile teması olan biyomalzemelerin kolonizasyonunun en sık karşılaşılan etkenleri koagülaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* türleri gibi biyofilm oluşturabilen mikrobiyal organizmalardır. Söz konusu enfeksiyonlar kan ile teması olan biyomalzemelerin yüzeylerinde meydana gelen biyofilm tabakası ile ilgilidir. Kolonizasyon ve biyofilm biyomalzeme yerleştirildikten sonra üç gün içinde oluşur. On günden daha az sürelerde biyomalzemenin dış yüzünde biyofilm oluşurken, 30 günü aşan sürelerde biyomalzemenin iç yüzeyinde de oluştuğu gözlemlenmiştir.

1.2.1. Biyomalzemeler

Hastalanmış veya yaralanmış dokunun desteklenmesi ya da değiştirilmesi için insan vücudunun onarımında kullanılan, üretilmiş ve işlenmiş malzeme olarak tanımlanır. İnsan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini desteklemek ya da yerine getirmek amacıyla kullanılır. Doğal ya da sentetik malzemelerdir ve belli zamanlarda ve de ayrıca sürekli olarak vücut sıvılarıyla (kan vb.) temas ederler. Biyomalzemeler ve dokuların etkileşimleri ile ilgili son 30 yıl büyük bir veri elde edilmiştir. Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliğidir. Biyomühendislik, Malzeme Bilimi, İmmünoloji, Kimya, Biyoloji ve Tıp bilim alanlarını da kapsayan interdisipliner bir alandır. Bilimsel anlamda yeni bir kavram olmasına rağmen, tarihin çok eski zamanlarında biyomalzemelerin uygulamalı olarak kullanıldığını görülmektedir.

1.2.1.1. Biyomalzemelerin Kullanım Alanları

Hastalıklı veya hasar görmüş kısımların yerine (diyaliz, protezler), fonksiyonelliği artırmak için (kontakt lens, kalp pili, işitme cihazı), iyileşmeye yardımcı olmak amacıyla (ameliyat ipliği, vidalar teller), tedavisine yardımcı olmak için (katater, drenaj), teşhisine yardımcı olmak amacıyla (biyosensörler, endoskopi, enjektör), kozmetik problemleri düzeltebilmek için (diş teli, deri implantasyonu, silikon), fonksiyon bozukluklarını düzeltmek amacıyla (omurga sabitleyiciler), biyoteknoloji ve farmasötik aparatlarda, dental implantlarda, hücre ve moleküler biyoloji ürünlerinde, diş dolgularında, ilaç taşınmasında, doku mühendisliği için iskelelerde biyomalzemeler kullanılmaktadır.

İdeal bir biyomalzeme; fiziksel özellikleri kullanılacağı yere uygun olmalıdır. (mukavemet, elastikiyet, dayanıklılık). İşlenebilir, kolaylıkla sterilize edilebilir, nonallerjenik, nonkorozyf, nontoksik, non-karsinojenik, non-mutajenik, ucuz ve üretimi kolay olmalıdır.

Biyomalzemeler; doğal ya da sentetik yapıda, katı ya da sıvı formda olabilirler. Metaller, Paslanmaz çelik, kobalt alaşımları, titanyum alaşımları Seramikler, Alüminyum oksit, zirkonyum dioksit, kalsiyum fosfat Sentetik polimerler, Silikon, poli(etilen), poli(vinil klorür), poliüretan

Doğal polimerler, kollajen, jelatin, elastin, silk, polisakkaritler, Kompozit malzemeler

Çizelge 1.1. Biyomalzemelerin kullanımına örnekler

Organ/ Doku	Örnekler
Kalp	Kalp pili, yapay valf, yapay kalp
Göz	Kontakt lens, intraoküler lens
Kulak	Yapay üzengi kemiği, koklea implantı
Kemik	Kemik plakaları, eklem protezleri, kemik çimentosu, kemik defektlerinin onarımı
Böbrek	Diyaliz makineleri
Mesane	Katater ve stent
Kas	Dikiş iplikleri, kas uyarıcılar
Kan Dolaşımı	Yapay kan damarları
Deri	Yanık sargıları, yapay deri
Endokrin	Enkapsüle edilmiş pankreatik adacık hücreleri

Maalesef hiçbir biyomateryalde tam biyouyumluluk gözlenememiştir. Buna rağmen bazı kardiyovasküler materyallerin daha düşük komplikasyonlara neden olduğu bilinmektedir (Arslan ve diğer., 2008; Desmet ve diğer., 2009; Gorbet ve Sefton, 2004; Ren, Weigel, Groth ve Lendlein, 2008).

1.2.1.2. Metalik biyomalzemeler

Metal ve metal alaşımları sahip oldukları metalik bağların gücü ve kristal yapıda olmaları nedeniyle biyomalzeme alanında oldukça fazla kullanılır. Avantajları; yüksek güçtedirler, eskimeye ve yorulmaya direçleri yüksektir. Üretimi ve sterilizasyonu kolaydır. Şekil hafızası vardır. Dezavantajları, biyouyumlulukları düşüktür, dokulara göre çok serttirler, metal iyonları salındığında dokuda alerjik reaksiyolara neden olabilirler, yüksek yoğunluğa sahiptirler, metalik görünümdeyler, yüksek modüllülük ve korozyona uğrayabilirler. Paslanmaz çelik, kobalt temelli alaşımlar, titanyum ve Ti- temelli alaşımlar, dişçilik metalleri (amalgam (AgSnCuZnHg), Ni-Ti alaşımları, altın), platin ve tantal metalik biyomalzeler arasında yer almaktadır.

1.2.1.3. Seramik biyomalzemeler (Biyoseramikler)

Seramikler polikristal yapısında olan refrakter malzemelerdir. Genellikle inorganik, oldukça inert, sert ve kırılğan, yüksek baskı dayanımına sahip, elektrik ve termal yalıtkanlıkları genellikle iyi olan, iyi estetik görünüm sahip malzemelerdir. Uygulamaları alanları, ortopedik implantlar, dental uygulamalardır. Yüksek baskı dayanımı, yüksek aşınma ve korozyon dayanımı, dental uygulamalar için oldukça iyi estetik görünümünün olması, biyoaktif / inert, yüksek modüllülük, düşük kırılma sertliği, zayıf yorulma dayanımı ve üretim zorluğu gibi avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır.

1.2.1.4. Polimerik Biyomalzemeler

Tekrarlayan küçük birimlerin (mer) oluşturmuş olduğu uzun zincirli moleküllere monomerler denilir. Genellikle karbon ve hidrojen atomlarından oluşur. Oksijen, klor, flor, silisyum, fosfor ve kükürt polimerlerin yapısında bulunabilen diğer elementlerdir. Ana zinciri karbon yerine silisyum veya fosfordan oluşan polimerler de vardır (inorganik polimerler). Gelişmiş özellikleri arasında da düşük yoğunluk yer almaktadır. Lif, film, rod (çubuk), viskoz sıvı gibi çeşitli formda kullanılabilirler.

Doğal ya da sentetik oluşu, biyobozunur olması, komplike parçalarının üretim kolaylığı, adapte edilebilir fiziksel ve mekanik özellikler, yüzey modifikasyonu, hücre vb. immobilizasyonu, su ve protein vb. absorpsiyonu, yüzey kontaminasyonu, eskime ve bozunma, biyobozunma, sterilizasyonunun zor olması avantaj ve dezavantajları arasındadır.

Yaygın olarak kullanılan polimerler, Doğal polimerler (kollajen, jelatin, elastin, ipek, polisakkaritler). Sentetik polimerler (silikon, poli(etilen), poli(vinil klorür), poliüretan, polilaktid, poly(metilmetakrilat) “PMMA”, Poly(etilen teraftalat)“PET”, poly(etilen oksit) “PEO”, poli(kaprolaktam) “Nalon”)

Polimerler, sensör / biyosensör, enkapsülasyon, gen aktarımı, ilaç aktarımı, doku mühendisliği, implantlar / yapısal biyomalzemeler gibi medikal uygulamalarda kullanılırlar.

1.2.1.5. Kompozit Biyomalzemeler

Kompozit, farklı kimyasal yapıdaki iki ya da daha fazla sayıda malzemenin, özelliklerini aynı zamanda da sınırlarını koruyarak oluşturduğuhem yeni özelliklere sahip bir malzeme hem de çok fazlı bir malzeme olarak tanımlanabilir. Kendisini oluşturan bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere sahip olur. Her bileşen biyouyumlu olmalıdır. Kompozitler, yüksek dayanıma ve düşük elastik modülüne sahiptirler. İmplantın vücuttaki kullanım alanlarına göre fizyolojik ve mekanik şartlara uyum sağlaması kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek kolaylaştırılabilir. Homojen malzemelere nazaran, kompozit malzemeler, yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlıdır.

Doğal sert dokular seramik (hidroksiapatit)-polimer kompozitlerdir: kemik ve diş takviyesi olarak kullanım alanları bulunmaktadır.

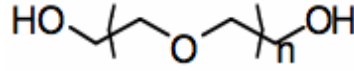
1.2.2. Medikal özellikli polivinil klorür (PVC) kan torbaları

Polivinil klorür, kullanım alanı oldukça geniş olan bir plastiktir. PVC'nin %50'den fazlası yapı sektöründe kullanılır. Sağlık sektöründeki kullanımı 50 yılı aşkın süredir gelişerek devam etmektedir. Parenteral kullanılan sıvıların, kan ve kan ürünlerinin transfüzyon setlerinde ve torbalarında, kanül, kateter ve drenlerde, stoma ürünlerinde ve daha birçok yerde PVC'den yapılan malzemelere rastlanmaktadır. Klorin(tuzdan) ve Etilenden (ham petrolden) oluşan Etilen diklorit, çok yüksek ısılarda Vinil klorid monomer (VCM) gazına dönüştürülür. Polimerizasyon reaksiyonuyla VCM kimyasal olarak toz haline getirilir ve bu formda sabitlenir. Sabitlenen bu toz forma PVC adı verilir. Monomer haldeki vinil kloridin polimerizasyonu ile polivinil klorid üretilir. PVC sert bir yapı ihtiva eder. Daha yumuşak ya da daha sert bir yapı elde edebilmek için plastikleştiriciler ilave edilmektedir.

1.2.3. Polietilen glikol (PEG)

Polimer-protein konjugatların hazırlanmasında kullanılan alternatif polimerdir. Tekrarlayan etilen oksit monomerleri içerirler. Bu monomerler çeşitli kombinasyonlarda birleştirilebilir. PEG küçük veya büyük bir PEG molekülü olarak

veya 2 PEG molekülü halinde tek bir noktaya veya çok sayıda küçük zincirler olarak ilişkili proteinin yapısına yapıştırılabilir (Harris, 1992).



Şekil 1.1. Polietilen glikol molekülünün açık formülü

PEG'in avantajları yüksüz, çözünür, nontoksik ve nonimmunojenik olusudur ve bu nedenle de aktif biyomolekülleri korumak için ideal bir malzemedir (Zhang 2002).

Modifikasyon amacıyla kullanılan polietilen glikol türevleri Polietilen glikoller beyaz sıvıdan mumsu katıya kadar değişen şekillerde bulunmaktadır. Bu bileşikler suda çözünür ve uçucu değildir. Lubrikant, vezikül, çözücü, bağlayıcı olarak ve gıda, ilaç, lastik, kozmetik, ziraat, tekstil, kağıt, petrol ve diğer birçok endüstri alanında kullanılmaktadır. PEG'lerin genel özellikleri şu şekilde verilebilir:

1. Amfipatik özelliktedir; su, toluen, 1,1,1-trikloroetan ve benzende çözünür, etil eter ve alifatik hidrokarbonlarda çözünmez.
2. Molekül ağırlığı (MA) 1000'den büyük olan PEG'ler toksik değildir. MA'ı 4000 olan PEG %10' luk çözeltisi intravenöz (i.v.) olarak 16 g/kg dozda sıçan, domuz, tavşan ve maymunlara uygulanabilir (Dahilen kullanım için FDA onayı alınmıştır.).
3. Zayıf immunojeniktir.
4. Yüksek konsantrasyonda hücre füzyonuna sebep olur.
5. Dekstran veya konsantre tuz çözeltisi gibi bazı makromoleküllerin sulu çözeltileri ile iki fazlı sistemler oluştururlar.
6. Protein ve nükleik asitleri çöktürmek amacıyla kullanılabilirler. Pegilasyon işlemi için çeşitli PEG türevleri kullanılabilir. Bu türevler genellikle monometoksi-PEG (mPEG) kullanılarak sentezlenmektedir. Bazı PEG türevleri aşağıda verilmiştir.

-Süksinimidil PEG Terminal karboksil grubu bulunan mPEG çok yönlü bir türevdir. Karboksil grubu polimerin aktif esterlerinin hazırlanması ve biyolojik önemi olan molekülere doğrudan bağlanması amacıyla kullanılabilir. PEG'nin N-hidroksisüksinimidil (NHS) esteri, pH 7-9 arasında protein yapısındaki amino grupları ile doğrudan etkileşmektedir.

- PEG-triazin Diğ er tıpteki modifiye edicilerden olan 2-(O-metoksipolietilenglikol)-4,6-dikloro-s-triazine, PEG1 olarak ve 2,4-bis (O-metoksipolietilenglikol)-6-kloro-s-triazin ise PEG2 olarak kısaltılmıştır. mPEG yapısındaki primer alkol siyanür ik klorür ile reaksiyona girerek sırasıyla bir veya iki triazin grubu ile yer değıştirmekte ve aktive edilmiş PEG1 veya PEG2'yi oluşturmaktadır.



- Fırça şekilli PEG’ler PEG ve maleik anhidrit kopolimeridir ve aktive edilmiş PM olarak kısaltılmaktadır. Fırça şeklinde olup çok değerlikli reaktif kısımları bulunmaktadır. Proteinlerin amino grupları PM yapısındaki maleik anhidriti ile birleşerek amid bağı oluşturmaktadır. Fırça şekilli PEG’ler protein molekülünü örtmekte ve/veya protein yüzeyine anyonik gruplar (-COOH) yerleştirmektedir.

- Diğer PEG türevleri: PEG türevleriyle amino grubu modifikasyonunun dışında protein modifikasyonu için değişik stratejiler geliştirilmiştir. PEG-amin, karbonil bileşiklerinin modifikasyonu için kullanılmıştır. Son zamanlarda heterofonksiyonel PEG türevleri yeni tip modifiye ediciler olarak sentezlenmiştir.

1.2.4. Nanopariküller

Nanopartiküller, boyutu 100 nanometrenin (nm) altında olan, hacimsel yapıli malzemelerden çok daha farklı ve üstün olarak kabul edilen özellikler sergilemektedirler. Nanoyapılı partiküllerin gösterdikleri üstün özellikler sayesinde elektrik-elektronik, biyomedikal, otomotiv ve kimya sektörleri başka olmak üzere birçok endüstriyel alanda kullanıma sahiptirler. Nanopartiküllerin fizikokimyasal ve morfolojik özellikleri kullanılan başlangıç malzemesinin karakteristiğinden etkilenmesinden dolayı farklı üretim yöntemlerin geliştirildiği görülmektedir.

“Bottom Up” ve “Top Down” olarak adlandırılan iki ana yaklaşım altında incelenmektedir. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı yöntemlerde hacimli malzemeye dışarıdan mekanik ve/veya kimyasal işlemler ile enerji verilmesi ile birlikte malzemenin nano boyuta kadar inebilecek küçük parçalara ayrılması esas alınmaktadır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı ile çalışan yöntemlere verilebilecek en genel örnekler; mekanik öğütme ve aşındırmadır. Bu tekniklerde klasik öğütme işlemlerinden çok daha fazla enerji tüketimi gerçekleştiğinden yüksek enerjili öğütme veya yüksek hız değirmenleri olarak da adlandırılmaktadırlar. Aşağıdan yukarıya yaklaşımında partikül oluşumunun atomik veya moleküler boyuttaki yapıların kimyasal reaksiyonlar ile büyüterek gerçekleştirilmesi olarak tanımlanmaktadır. Nanokristalin metal ve alaşımlarının üretiminde kullanılan ilk yöntem olan gaz yoğunlaştırma tekniği aşağıdan yukarıya yaklaşımıyla çalışmaktadır. Kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma, spreyl piroliz ve sol jel yöntemleri de bu yaklaşımın en çok bilinen diğer üyeleridir (Wolfgang ve Zaki, 2007).

Üretim Yöntemleri

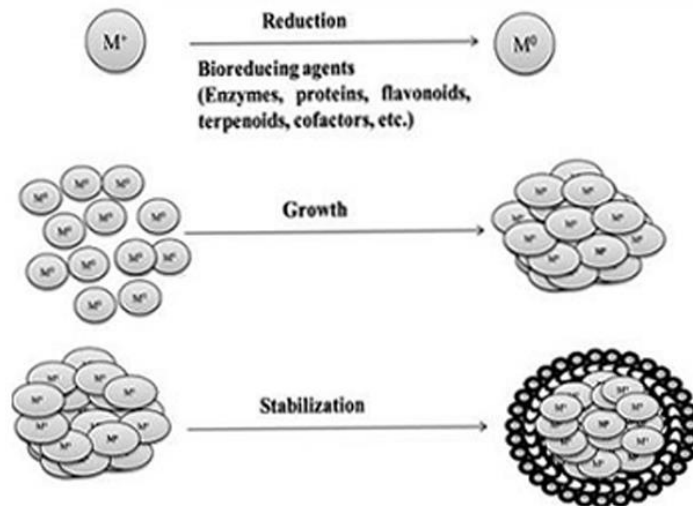
- Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi
- Hidrojen Redüksiyonu Yöntemi

- Mikroheterojen Sistemlerden Nanopartikül Üretimi
- Alev Sentezi Yöntemi
- Ultrasonik Sprey Piroliz (USP) Yöntemi
- Biyosentez Yöntemi

1.2.4.1. Biyosentez yöntemi

Canlı organizmalardaki kimyasal süreçlerin belirlenmesinde rol oynayan biyolojik faaliyetlere biyosentez denir.

Bitki ekstraktları, kimyasallar, canlı organizmalar, mikroorganizmalar, (mantar, maya, alg, virüs v.b) kullanarak nanotanecik sentezlemektir. Metal nanotaneciklerin yukarıda anlatılan klasik sentez yöntemleri karmaşık ve çok pahalı olması, farmakolojik ve biyomedikal uygulamalara uygun olmaması, toksik madde kullanımı gerektirmesi, gibi dezavantajlar içermesi söz konusudur. Biyosentez yöntemlerinin basit ve ekonomik oluşu, toksik madde açığa çıkarmaması ve kullanılmaması, farmakolojik ve biyomedikal uygulamalara uygun oluşu, ticari üretime oldukça elverişli olması gibi avantajlarından dolayı günümüzde sıkça kullanılan bir yöntem haline gelmiştir.



Şekil 1.3. Çevreci Nanopartikül Sentezinin Mekanizması (Mittal vd., 2013).

Bir materyalin ya da bir tepkimenin Green Sentezis olabilmesi için;

- a) Tepkimenin tek basamakta gerçekleşmesi
- b) Güvenli oluşu

- c) Çevresel olarak çıkan atığın oldukça az olması
- d) Çevresel olarak kabul edilebilir olması
- e) Yenilenebilir hammaddelerin kullanılması
- f) Ürünlerin tepkine ortamından basit bir şekilde ayrıştırılabilmesi
- g) Verimin %100 olması ve uygun koşulların sağlanması gerekmektedir. Ancak birçok tepkimede bu koşulların yerine getirilmesi oldukça zordur.

Metalik nanotaneceklerin sentezinde Yeşil kimya sentez yöntemi de kullanılmaktadır. Metal nanopartiküllerin biyosentezinde mantar, maya, bakteri, bitki özütleri (*Jatropha curcas*, *Hibiscus rosa sinensis*, *Solcan* otu) gibi maddeler indirgen olarak kullanılmaktadır (Dubey vd. 2010; Philip, 2010).

1.2.4.2. Nanopartiküllerin Biyomedikal Alanında Kullanımı

Vücut içerisinde bulunan manyetik nanopartiküllerin dışarıdan manyetik alan kullanılarak hareket ettirilmesi yeteğini biyomedikal uygulamalarda göstermektedir. Bu sayede hareketsiz hale getirilebilen, istenilen organa taşınabilen veya ısıtılabilen nano-partiküllerin kanser tedavilerinde ve tanı, tedavi ve hem tanı hem tedavi amaçlı ilaç taşıma sistemlerinde hedef olarak kullanılmaktadır.

MRI-Manyetik rezonans görüntüleme gibi teşhis ve tanı amaçlı kullanılan cihazlarda vücuda enjekte edilmiş olan nanopartiküller, hücre içerisinde oluşturdukları sinyaller vasıtasıyla kontrast farkı oluşturarak tanı işlemini kolaylaştırmaktadır.

Bazı santral sinir sistemi hastalıklarının (Beyin tümörleri ve Alzheimer gibi) aktif tedavisine yönelik geliştirilen bir diğer yaklaşım ise, PEG (polietilen glikol) ile konjuge edilmiş nanopartiküller ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Bu teknolojiye, PEG, kopolimerin hidrofobik bloğuna kovalent olarak bağlanmaktadır. Çekirdeğin hidrofobik yüzeyindeki PEG zincirleri ile nanopartiküller, in-vivo ortamda çok daha uzun dolaşım özelliği göstermektedirler (Brigger vd. 2002; Gültekin, 2009).

1.2.4.3. Gümüş Nanopartikül

Parlak ve beyaz rekte bir metalik element olan gümüş saf halde iken kolaylıkla biçimlenebilmektedir ve yüksek elektriksel/termal iletkenliğe sahiptir. Gümüş yüzyıllardır dezenfektan olarak bilinmekte ve klinik hastalıkların tedavisinde de

yaygın olarak değişik formlarda olmak üzere kullanılmaktadır. Gümüş içerikli maddelerin yeni doğanların göz hastalıklarından korunması; lokal yanıklar, ortopedik enfeksiyonların tedavisinde kullanılması sayısız uygulama alanı bulunan gümüşün tedavi edici bu kullanımlarına örnek olarak gösterilebilmektedir. Dişçilik için kullanılmakta olan alaşımların yapısında, kapasitesi yüksek olan gümüş-kadmiyum ve gümüş-çinko pillerinde, bazı lehimlerimlerin alaşımlarında, elektrik bağlantısı içeren bölgelerde kullanılmaktadır.. Çok uzun süre dayanan bir metaldir ve tekrar tekrar ergitilerek kullanılabilir (Blake, 1980).

Çizelge 1.2. Gümüş nanopartiküllerin kullanım alanlarına örnekler

Kullanım Alanı	Örnek Uygulama
Hastane Odaları ve Ameliyat Giysileri	Patojenlerin ve MSRA'nın hastanede yayılmasını önler, ameliyat elbiseleri ve ameliyathane döşemeleri, personel üniforması, banyo havluları, perdeler, el sabunu, cerrahi maske
Yara Tedavisi	Pansumanda polietilen nefes alabilen filmler, oyuk yaralarda hidrojel poliüretan köpük
Kişisel Temizlik	Pantolon, gömlek ve çoraplarda koku önleyici, cildin tahriş olmasına ve şiddetli ağrılara karşı çocuk bezinde
Sağlık Araçları, Vücuda Takılan Parçalar (implant)	Damar içine girip besin vermek ya da film çekmek için kullanılan ince uzun boruların kaplanması, yumuşak dokulara takılan parçalar ve tendonların onarılması
Mesleki Deri Hastalıkları	Mesleki deri hasarlarını önlemek için eldiven astarları
Saklama ve Muhafaza İşlemleri	Antik kitaplar, el yazmalarını, haritaları mantar ve kurtlardan korumak, gözenekli duvarların yalıtım malzemelerinde mantar ve küflerin hasarını engellemek,
Çevre	Banyo ve mutfak döşemelerinde küflere karşı dolgu maddesi olarak, yiyeceklerin saklandığı alanlarda bozulmayı ve zehirlenmeyi önlemek
Yiyecek Paketleme	Yiyecek kapları ve paketleme materyallerinde bozulmayı önlemek
Kozmetik	Sivilce ve aknelerde

Kolloidal gümüşün enfeksiyon önleyici, doğal antibiyotik özellikte olduğu bilinmektedir. Bir ortamda gümüşün varlığı virüs , bakteri, mantar ve diğer tek hücreli patojenlerin oksijenli solunum metabolizmasını etkisiz hale getirir. Mikroorganizmalar solunum sıkıntısı nedeniyle boğulur. Ölmüş olan mikroorganizmalar vücuttan bağışıklık sistemi tarafından fagozite edilerek, boşaltım kanalından atılarak ya da lenfatik olarak vücuttan atılır. Kolloidal gümüş, hücrelerin tek ya da çok hücreli oluşuna göre farklılık gösteren enzim tiplerine zarar vermediği için oldukça avantajlıdır. Antibiyotikler gibi enzimlerle zarar vermez. Bu nedenle kolloidal gümüş; canlılar için güvenlidir. Kolloidal gümüş sprey; banyo ve mutfak yüzeylerinde, cillte, boğaz ağrılarında, gözlerde, yanıklarda, kesiklerde, sıyrıklarda, açık yaralarda, bebeklerin gözlerinde vb. kullanılmaktadır (Bulut, 2007).

Gümüş nanopartiküllerin bilinen en önemli özelliği enfeksiyon önleyici özelliğidir. Boyutları 1-100 nm arasında olan gümüş nanopartiküllerin bu kadar küçük boyutlara indirgenmesi onun, bakteri, virüs ve mantarlar üzerindeki yok etme ve uzun süre koruma aktivasyonunu arttırmaktadır. Kateterlerin (vücut boşluğuna, damarına veya kanalına yerleştirilebilen tüpler) yüzeylerinin gümüş nanopartiküller ile kaplanması sonucu bu malzemeler antimikrobiyal özellik kazanmaktadırlar (Roe vd., 2008). Damar içi kateterler başta yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere değişik ünitelerde, belirli amaçlarla (ilaçlar, kan ürünleri, elektrolitler, sıvılar, parenteral besinlerin verilmesi; total parenteral beslenme; hemodinamik izleme; tetkik amacıyla kan alınması; hemodiyaliz uygulanması vb.) damar içine uygulanmakta ve uzun süre kullanılabilir. Uzun süreli kalıcı kateter kullanımının en önemli komplikasyonları trombus oluşumu ve enfeksiyondur (Fernandez vd. 2006; Hakyemez, 2008). Kateterlerin kolonizasyonunun en sık karşılaşılan etkenleri koagülaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* türleri gibi biofilm oluşturabilen mikrobiyal organizmalardır. Devam eden çalışmalarda bu kateterlerin antimikrobiyal hale getirilmesi çalışmaları sürmektedir (Fernandez vd. 2006; Hakyemez, 2008; Bertini vd. 2012).

Amerikan Besin ve İlaç Dairesi FDA, kolloidal nano gümüşü 2,5 - 5 ppm gibi az bir yoğunlukta bile, diğer antibiyotiklere direnç gösteren bütün patojenleri öldürdüğü için, ilaç olarak kabul etmiştir. Günümüzde hastane enfeksiyonu diye bilinen MRSA (Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*) bakterisinde de çok etkin sonuçlar oluşturmaktadır (Liu ve Hurt, 2010). Antimikrobiyal uygulamalarda kullanılan en yaygın etken maddeler triklosan, karbamer amonyum tuzları ve metallerdir (gümüş, çinko, bakır vb.) (Zikeli, 2002).

İnsan ve çevre sağlığı, proses ile ilgili kaygılar özellikle gümüş katkılı antimikrobiyal malzemelere ilgiyi arttırmıştır. Pek çok metalin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinmesine rağmen gümüş diğer metallere tercih edilmektedir. Bunun başlıca nedenleri bakterilere karşı en dirençli metal olması, kontrollü kullanımında vücuda karşı zararlı etkilerinin bulunmadığının eskiden beri bilinmesi, çoğu malzemeye göre son ürün haline getirilmesinin daha ucuz olması ve kolay üretim işlemidir (Üreyen vd., 2009).

1.2.5. Biyouyumluluk

Uygulama sırasında malzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği olarak tanımlanmıştır. Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliğidir. Biyouyumlu, yani “**vücutla uyuşabilir**” bir biyomalzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmeyen malzemedir. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularını mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur. Biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler, bedene yerleştirilebilir cihazların hazırlanmasında kullanılır.

Biyoyumluluk, belirli bir uygulamada malzemenin uygun konak cevabı oluşturma yeteneğidir. Vücut ve malzeme sıvılarının kimyasal etkileşimi ve bu etkileşimin fizyolojik sonuçlarının vücuda ne kadar zarar verip vermediğidir. Biyouyumluluk kavramı, yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına biyolojik fiziksel ve kimyasal olarak uygun olması, yapısal uyumluluğu, vücut dokularının mekanik davranışına malzemenin sağladığı optimum uyum olarak tanımlanmışlardır. Biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler, vücuda yerleştirilebilir cihazların hazırlanmasında kullanılmaktadır. Ancak halen mükemmel biyouyumluluğa sahip bir malzeme sentezi gerçekleştirilebilmiş değildir.

Biyoaktivite: malzemenin yaşayan dokuya bağlanmasını sağlayan özelliktir. İyileşme cevabını artırır, implant ömrünü uzatır.

Biyobozunma: kimyasal veya hücrel etkiler nedeniyle implantın bozunması. Biyobozunur malzemeler biyolojik olarak bozunarak zamanla doku ile yer değiştirir.

İmplant-Doku Etkileşimi

Bir canlı dokuya yerleştirilen malzeme, vücut tarafından tekiye maruz kalır. Tepkinin olduğu alan tam olarak implant ile doku arasında kalan alandır. İmplant malzeme;

- ✓ Toksikse, çevresindeki doku ölür.
- ✓ Biyoinertse, değişik kalınlıkta fibröz doku oluşumu gerçekleşir.
- ✓ Biyoaktifse, doku ile implant ara yüzeyinde bağlanma gerçekleşir.

- ✓ Çözünür yapıda ise, çevresindeki doku implantın yerini alır

Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği, tıp, temel bilimler ve mühendislik bilimlerinin birleşerek yenilenebilir kaynaklardan doku ve dokunun yerine geçebilecek materyallerin tasarımı, üretimi ve kullanımını çalışan bir disiplindir. Genellikle biyobozunur ya da biyoyumluluğu yüksek materyallerden doku ve doku benzeri (doku gibi davranan) materyallerin üretimi yapılmaktadır. Bunun için özellikle scaffoldlar kullanılmaktadır.

1.2.6. Yüzey modifikasyonları

Bir maddenin ortamda tutulmasına “sorpsiyon” denir. Buhar, gaz, sıvı moleküllerinin ve çözünmüş maddelerin bir katı yüzeyine tutunması/toplanması olayına veya derişim (konsantrasyon) denmekteyken, değişimine “adsorpsiyon” denir. Yüzeyde tutunmuş olan maddeye “adsorban/adsorplanan/soğurulan”, maddeyi tutmuş olan yüzeye “adsorbent/adsorplayıcı/soğuran”, tutunan tanecik veya moleküllerin yüzeyden ayrılmasına ise “desorpsiyon” adı verilir. Adsorpsiyon yüzeysel tutunmayı temsil ederken, “absorpsiyon” ise hacimsel tutunmayı temsil etmektedir. Ara yüzeylerdeki derişimin artışına pozitif adsorpsiyon, azalışına negatif adsorpsiyon denir. Sıvı-katı, sıvı-sıvı ve katı- gaz olmak üzere adsorpsiyon gerçekleştirilir. Sıvıların yüzeylerdeki mikro gözenek ya a mikro çatlaklarda yoğunlaşmasına kılcal adsorpsiyon denir. (Yalçın ve Demir; 2014).

Adsorpsiyon, bir ara kesit veya yüzey üzerinde derişiminin artması ve maddenin birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Tanımda kullanılan ara yüzey bir sıvı ile bir gaz, bir sıvı ile bir katı veya bir sıvı ile başka sıvı arasındaki temas yüzeyi olabilir.

Adsorpsiyon ilk olarak 1773 yılında gazlarda C.W.Scheele tarafından, 1785 yılında da sıvılarda J.T.Lowitz tarafından gözlenmiştir.

1.2.6.1. Fiziksel adsorpsiyon

Dengelenmemiş Van Der Waals kuvvetleri yardımıyla bir yüzeyde fiziksel adsorpsiyon gerçekleşir. Adsorbe olan molekül katı yüzeyinde belirli bir yere

bağlanmamıştır, yüzey üzerinde hareketli bir durumdadır. Düşük sıcaklıklarda gerçekleşir. Adsorbat adsorbanın yüzeyinde birikir ve gevşek bir tabaka oluşturur. Bu şekilde katı haldeki adsorbentlerin yüzey alanlarının ölçülmesi mümkün olmaktadır. Ayrıca, adsorpsiyon çok tabakalı olabildiği için adsorplanan moleküller birden çok tabaka oluşturabilir. Fiziksel adsorpsiyon genellikle tersinirdir ve düşük adsorpsiyon ısısı ile karakterize edilir. Adsorpsiyon ile dah yüksek ısılar açığa çıkmaktadır. Bunun nedeni yoğunlaşma enerjisinden ileri gelmektedir. Çünkü adsorpsiyon enerjisi 10 kcal/mol'den daha düşüktür.

1.2.6.2. Kimyasal adsorpsiyon

Adsorplanan madde ile katı yüzey arasındaki fonksiyonel grupların kimyasal etkileşimi ile oluşan adsorpsiyondur (kimyasal bileşiklerin oluşumu). Kimyasal adsorpsiyon, adsorban kararlı bir bağ oluşturmak için etkileşir ve adsorplanan maddenin fonksiyonel gruplarından dolayı oluşur. Yüzey moleküllerinin değerlik kuvvetleri nedeniyle yüzey üzerinde adsorplanan maddenin monomoleküler tabakası ile bir kimyasal bağın oluşmasından kaynaklanır. Genellikle adsorplanan yüzey üzerinde bir molekül kalınlığında bir tabaka oluşturur, moleküller yüzey üzerinde hareket etmezler. Adsorbent yüzeyinin tamamı bu mono moleküler tabaka ile kaplandığında, adsorbentin adsorplama kapasitesi bitmiş olur. Bu tür adsorpsiyon çok nadir olarak tersinmezdir. Adsorplanan maddenin uzaklaştırılması için (rejenerasyon) adsorbentin yüksek sıcaklıklara kadar ısıtılması gibi işlemler uygulanır. Adsorpsiyon ile açığa çıkmakta olan ısı, normal bir tepkime ısısından daha büyüktür. Eğer adsorpsiyon ısısı 40 kcal/mol değerinden daha yüksek ise aktivasyon enerjisine ihtiyaç duymaktadır. Ve bu durum sıcaklık arttıkça artmaktadır.

1.2.6.3. Biyolojik adsorpsiyon

Bir taşıyıcı üzerindeki mikroorganizmalar tarafından çözeltideki anyon ve katyonların alıkonulması ve biyolojik bozunmanın gerçekleşmesi biyolojik adsorpsiyon olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik adsorpsiyonda, bir inert madde üzerinde mikroorganizmaların taşınmasına bağlı olarak biyolojik bozunma ve fiziksel adsorpsiyon birlikte gerçekleşmektedir. Adsorpsiyon ısısı ve sıcaklık sınırı biyolojik adsorpsiyonu etkilemektedir. Mikroorganizma türüne göre bu yöntem de

değişmektedir.

1.2.6.4. Elektrostatik adsorpsiyon

Elektrostatik çekim kuvvetleri nedeniyle yüklü olan iyonlar yüklü bölgelere doğru hareket etme eğilimindedir. Adsorplayan ve adsorplanan tarafların iyonik güçleri önemli hale gelmektedir. İyonların yükleri eşit ise küçük olan bir yüzeye adsorpsiyon gerçekleştirirler. Adsorpsiyon işleminde, adsorplayıcının yüzey alanı, tanecik büyüklüğü, nem, kalsinasyon (absorbentin sıcaklığı), pH, iyon etkisi, modifikasyon, çalkalama hızı ve temas süresi gibi pek çok fizikokimyasal etkiler parametreler arasında yer almaktadır. Adsorpsiyon izotermi bu parametrelere göre çizilmektedir ve davranış ölçümleri yapılmaktadır. Sabit sıcaklıkta adsorban tarafından adsorplanan madde miktarı ile denge basıncı veya derişimi arasındaki bağıntıya “adsorpsiyon izotermi” adı verilir. Değişim adsorpsiyonu, adsorplanan ile yüzey arasındaki elektriksel çekim nedeniyle olmaktadır. İyon değişimi bu sınıfa dâhil edilir. Burada, zıt elektrik yüklerine sahip olan adsorplanan ile adsorbent yüzeyinin birbirlerini çekmesi önem kazanmaktadır. Elektrik yükü fazla olan iyonlar ve küçük çaplı iyonlar daha iyi adsorbe olurlar. Tüm bu adsorpsiyon çeşitlerine rağmen, bir adsorpsiyon işlemini tek bir adsorpsiyon çeşidi ile açıklamak zordur.

1.2.6.5. PEG'ilasyon

Pegilasyon işleminde, PEG molekülündeki hidroksil kaybı ile beraber elektrofilik fonksiyonel bir grup eklenir ve bu yapı amid-uraten bağları ile protein molekülü içindeki lizin, histidin yapılarına veya N terminal bölgesine bağlanır. Dallı zincirli PEG molekülünün termal ve pH stabilitesi daha yüksek olup, lineer PEG yapılarına göre dallı zincirli PEG molekülü proteolitik degradasyona daha dirençlidir. PEGilasyonla, fizikokimyasal, farmokinetik ve farmodinamik özellikleri farklı olan ama biyolojik aktivitesini kaybetmemiş yeni bir molekül oluşturmak mümkündür (Harris,1992).

Pegilasyon özellikle peptid-protein yapısında olan moleküllere bir veya daha fazla polietilen glikol (PEG) zincirinin bağlanması olarak tanımlanmaktadır. PEG antijenik olmayan, toksik, immunojenik ve suda yüksek çözünürlüğe sahip, Amerikan Gıda ve

İlaç Dairesi (Food and Drug Administration-FDA) tarafından onaylı bir polimerdir. PEG-etkin madde konjugatının vücutta kalış süresinin uzaması, metabolik enzimlerle parçalanmasının önlenmesi ve protein immünojenitesinin azalması veya eliminasyonu gibi avantajları bulunmaktadır. Peptit ve proteinlerin terapötik kullanım potansiyelleri günümüzde ilaç taşınmasında önemli bir yeri bulunan pegilasyon ile artmıştır.

1.2.6.6. İmmobilizasyon

Suda çözünen ve çözeltide serbest hareket edebilen moleküllerin suda çözünmeyen reaktif polimer taşıyıcıya kovalent bağlanarak, yine suda çözünmeyen yüzey aktif taşıyıcılarda adsorblanarak, bifonksiyonel reaktifler ile çapraz bağlanarak ve polimer matrikste, yarı geçirgen membran veya mikrokapsüllerde tutuklanarak hareketin sınırlandırılması olayına denir.

Enzimlere bakılacak olunursa, biyokatalizörlerin teknik kimya ve biyoteknolojide çeşitli amaçlarla kullanılmaya başlanması, bilim adamlarını bu katalizörlerin daha kullanışlı ve ekonomik hale getirilme olanaklarının araştırılmasına yöneltmiştir. Enzim üretiminde hammadde sorunu mikrobiyal kaynaklar sayesinde büyük ölçüde çözülmüş gibi görünse de, enzimlerin mikrobiyal kaynaklardan saflaştırılması ve izolasyon oldukça masraflı bir çok prosesi gerektirmektedir. Endüstriyel uygulamalarda katalizör olarak kullanılan serbest enzimin aktivitesini yitirmeden geri kazanılması olanaksızdır. Serbest enzim reaksiyon ortamından istenilen anda uzaklaştırılamadığı için reaksiyonun kontrolü çok zor gerçekleşmektedir. Spesifik inhibitör katılması işlemi uygulansa bile yeni safsızlıklar eklenmiş olacaktır. Bu safsızlıklardan arıtma işlemleri ise maliyeti çok daha fazla arttıracaktır.

Enzim, protein, ilaç v.b gibi biyolojik moleküllerin immobilizasyon yöntemlerini üç ana grupta toplamak mümkündür; *Suda Çözünmeyen Taşıyıcıya Bağlama Yöntemleri*; *Çapraz Bağlama Yöntemleri*; *Tutuklama Yöntemleri*.

Kovalent bağlama: Biyolojik moleküllerin kimyasal olarak kovalent bağlarla sefadeks, selüloz, agaroz, porlu seramik poliakrilamid gibi suda çözünmeyen taşıyıcılara bağlanma olayıdır.

Çapraz bağlama: Biyolojik moleküllerin, suda çözünmeyen çapraz bağlı polimer matrislerde tutuklanarak da immobilize edilirler. Yöntem yüksek derecede çapraşık bağlı bir polimerin enzim çözeltisi içinde oluşturulması temeline dayanır. Polimerleşme sonucu enzim molekülleri çapraz bağ ağları arasında tutuklanmakta ve böylece ana çözeltiye geçmeleri engellenmektedir.

Biyolojik moleküller alifatik diaminler, glutaraldehit gibi bifonksiyonel reaktiflerle çapraz bağlanırlar. Biyolojik moleküller bu reaktifler arasında bağ oluştururlar. Örneğin diaminler karboksil gruplarından, glutaraldehit ise enzim moleküllerinin amino gruplarından çapraz bağlarlar.

Taşıyıcı ile Biyolojik moleküller arasında bir kovalent bağ oluşmadan gerçekleştirilen tüm yöntemler fiziksel immobilizasyon yöntemleridir. Fiziksel immobilizasyon yöntemleri tersinir olaylardır. Tersinir olmayanlar ile de karşılaşılmaktadır.

Bu yöntemler ile Biyolojik moleküllerin immobilizasyonu; *İyonik bağ oluşumu, Elektrostatik etkileşme, Protein-protein etkileşmesi, Van der Waals kuvvetleri* gibi çeşitli fiziksel kuvvetler, Mikrokompartımanlarda tutuklama ve yarı geçirgen membranlarda tutuklama yardımıyla gerçekleştirilir.

Adsorbsiyon: Biyolojik moleküllerin immobilizasyonunda kullanılan bu yöntem, en basit ve en eski yöntemlerden biridir. Yöntem; yüzey aktif suda çözünmeyen bir adsorbanın enzim çözeltisi ile karıştırılması ve enzimin aşırısının iyice yıkanarak uzaklaştırılması temeline dayanır. Yüzey aktif, suda çözünmeyen taşıyıcı üzerindeki aktif gruplar ile enzim üzerindeki polar gruplar arasında hidrojen bağları olduğu varsayılmaktadır.

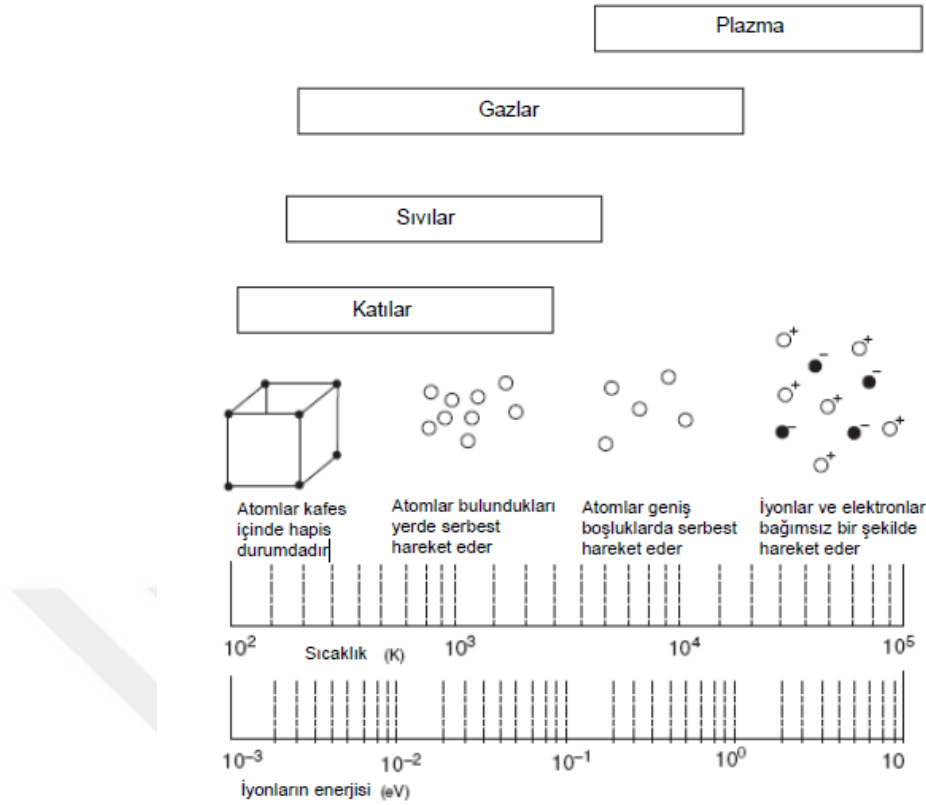
Tutuklama: Biyolojik moleküller doğal ya da yapay polimer kafesleri içinde tutuklanırlar. Polimer kafesler içine substrat girer ve ürün dışarı çıkar. Çapraz bağlı Ca alginat, poliakrilamid jeller, kappa karragenan bu polimerlerin örneklerindendir.

Mikrokapsülleme: Biyolojik moleküller çeşitli tipteki membranlar içine alınırlar. Bu membranlar yarı geçirgendir. Düşük molekül ağırlıklı substratı ve molekülleri geçirirler. Hegza metilen diamin mikrokapsüllemeye kullanılmaktadır.

1.2.7. Plazma teknolojisi

Bir maddeye sürekli olarak enerji verildiğinde, maddenin sıcaklığı artmakta ve katı halden sıvı hale ve daha sonra gaz haline dönüşmektedir. Sisteme enerji verilmeye devam edildiğinde, gazın nötr atomları ve molekülleri, negatif veya pozitif yüklü iyonlara, negatif yüklü elektronlara ve diğer radikallere parçalanmaktadır. Ortamın elektrik yükü nötrdür. Bu "0" yüklü parçacıkların karışımı plazma olarak adlandırılmaktadır. Teknolojik olarak plazma, kısmen iyonize edilmiş gaz anlamına gelmektedir. Birçok uygulamada maddenin 4. hali olarak adlandırılmakta ve kullanılmaktadır. Laboratuvar koşullarında plazma, elektriksel boşalım, kontrollü nükleer reaksiyonlar, şok, yanma, alev ve benzeri etkilerle oluşturulabilmektedir.

Plazma işleminin yüzey özelliklerinin modifikasyonu ve biyomalzemelerin kaplanması açısından önemi gittikçe artmaktadır. Bu işlem, zararlı kimyasallar gibi atıklardan kaçınma avantajları ile çevre dostu, düşük maliyetli ve kısa işlem süreli bir yöntemdir. Ayrıca, biyomalzemelerin mekanik özelliklerine zarar vermeksizin değişimi söz konusudur. Plazmanın etkileri, yüzeyden içeriye doğru 100A'dan daha fazla değildir, böylece biyomalzemelerin esas özellikleri etkilenmemektedir.



Şekil 1.4. Maddenin halleri

1.2.7.1. Atmosferik plazma

Biyomalzemelerin plazma işlemleri genellikle düşük basınç (yüksek vakum) altında gerçekleşmektedir. Düşük basınçta yapılan işlemler kesintili olduğu zaman süre, enerji ve yer gereksinimi açısından ekonomik olmamaktadır. Diğer yandan aktifleşmiş haldeki parçacıkların yoğunluğu da yüksek vakuma nedeniyle oldukça düşük olmaktadır. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak amacıyla atmosferik plazma işlemi geliştirilmiştir. Biyomalzemelerin kesikli ve/veya sürekli sistemde daha yüksek yoğunlukta aktive edilmiş partiküller ile işleme tabi tutulabilmekte ve 40°C 'ın altında gerçekleştirilebilmektedir.

Atmosferik plazma endüstride başlıca yüzeylerin aktivasyonu, ozon oluşumu ve partiküllerin elektriksel olarak yüklenmesi gibi amaçlar için kullanılmaktadır. Ayrıca çeşitli yüzeylerin temizlenmesi, kaplanması ve fonksiyonelleştirilmesi amacıyla da kullanılmaktadır. Atmosferik plazmada, direkt akımdan radyo frekansa kadar çok çeşitli güç kaynakları kullanılmaktadır. Son yıllarda çeşitli atmosferik plazma uygulamaları geliştirilmiştir.

1.2.7.2. Plazma Tipleri

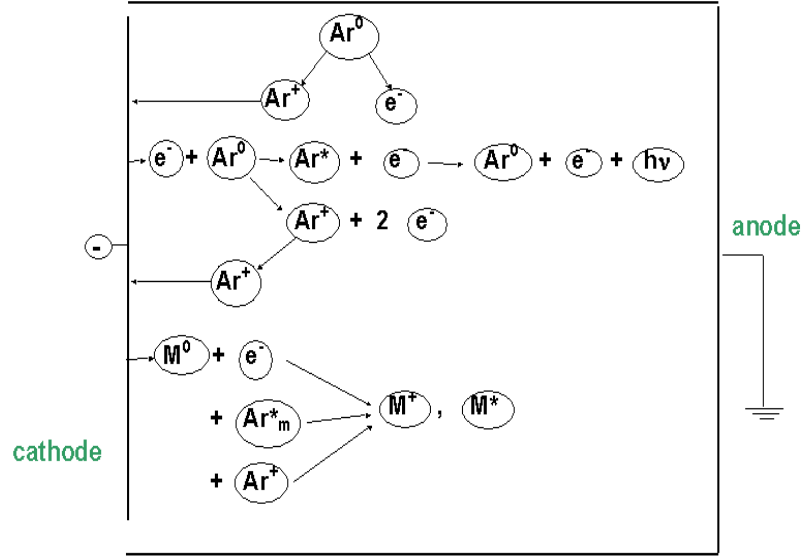
- RF plazma: Düşük basınç ile atmosferik basınç arasında plazma oluşturmak için kullanılmaktadır. Kimyasal nötralizasyon ve yüzey sterilizasyonunda kullanılmaktadır.
- Plazma jet: Dekontaminasyon, temizleme ve antitoksikleme yöntemlerinde kullanılmaktadır. Etkili, hızlı degradasyon ve anti korozyon etkisi nedeniyle tercih edilmektedir.
- RF girişli ve DC plazma: Metal endüstrisinde kullanılmaktadır.
- DC arcjet: Yüzey uygulamalarında kullanılmaktadır.
- DC plazma: Materyallerde yüzey uygulamaları için kullanılmaktadır.
- Mikrodalga plazma: Lif uygulamaları için kullanılabilir.

1.2.7.3. Çalışma Prensipleri

Sürekli plazma ortamı sağlamak için en yaygın olarak kullanılan yöntem, “**elektriksel boşalım**” (glow discharge)’dır. Elektriksel yük boşalımıyla oluşturulan plazma genelde “**low-temperature plazma**” olarak adlandırılmaktadır.

Manyetik alandan plazma alanına doğru elektronlar hareket eder. Bu hareket enerjisi elektromanyetik alandan ve vakum altında gerçekleşmiş olan plazma işlemi sonuca açığa çıkan enerjidir. Plazma ortamındaki enerji, iyonlar, serbest radikaller, UV radyasyon ve yeni aktif kimyasallarla enerji yüklenmiş elektronlar ile gaz moleküllerinin çarpışmaları sonucunda oluşmaktadır.

Yüksek hızlarda hareket eden partiküller diğer gaz moleküllerine bombardıman yaparak, onları ayırmakta ve tekrar bir araya gelmektedir. Bu işlem sırasında ultraviyole ışığı ile birlikte görünür ışık da üretilmektedir. Bazı partiküller tekrar dengeli bir gaz haline geri dönmektedir. Serbest radikaller, dengesiz iyonlar, ve dağılan plazmanın yoğun UV radyasyonu plazmayı reaktif hale getirmektedir. Yüksek frekans ortamdan uzaklaştırıldığında plazma da durmaktadır. Bu şekilde, aktivite kolaylıkla kontrol edilebilmektedir.



Şekil 1.5. Plazma işlemi

Tekstil materyallerinin yüzeyi ile etkileşim içine giren plazma kamarasındaki farklı reaktif türler, bazı değişikliklerin olmasına yol açmaktadır. Organik ve organometalik bileşikler için plazma polimerizasyonunun mekanizması çok karmaşıktır ve “**serbest radikal mekanizması**” şeklinde yürümektedir. Henüz tam olarak açıklanamayan organik molekülden serbest radikalının oluşum basamağı ileri sürülen görüşe göre, elektriksel yük boşalımı sonucunda, serbest elektronlar oluşturulan elektriksel alandan enerji alırlar ve nötr gaz molekülleriyle çarpışarak enerjilerini kaybederler. Enerjilerin moleküllere transferi, serbest radikaller, atomlar ve iyonları içeren yeni oluşumlara götürür. Serbest radikal oluşumunu takip eden polimerizasyon, radyasyon polimerizasyonuna benzer şekilde gerçekleşmektedir. Oluşan yeni molekülün materyal yüzeyine ulaşır, küçük parçacıkların birleşerek yeni bileşikler oluşturması veya tam tersi yüzeyde birikene kadar parçalanması mümkündür. Tüm bu uyarılmış molekül, iyonlar, radikaller, yüzeye ulaşınca yüzeye ve birbiriyle etkileşerek, materyal yüzeyinde çapraz bağlı üç boyutlu polimerik bir yapı oluşturmaktadır. Ancak sadece monomerdeki farklı atomların sayıları arasındaki oran korunmaktadır. Bu yapının orjinal monomerin kimyasal yapısıyla ilgisi yoktur. Plazma işlemi farklı şekillerde gerçekleştirilebilmektedir.

- Materyal direkt olarak plazma alanında işlem görebilir,
- Materyal plazmada aktive edildikten sonra bir aşılama takip edebilir,

- Materyal daha sonraki plazma işlemiyle polimerize veya fikse olabilecek gaz veya bir polimer çözeltisi ile işlem görebilir.

1.2.7.4. Plazma Teknolojisi Uygulamaları

Biyomalzeme

Yapılan istatistik çalışmalarına göre 2000 yılında dünyada tüketilen medikal tekstil ürünleri toplam teknik tekstil tüketiminin %9'unu oluşturmaktadır. Medikal tekstiller teknik tekstiller pazarında en dinamik sektörlerden biridir. Bu ürünler başlıca 4 grupta incelenebilir:

- 1) Vücut içerisine implante edilen materyaller; yapay kornea, yapay cilt, kontak lens, yapay damar, ortopedik implantlar, ameliyat ipliği, yumuşak doku implantları, vb.
- 2) Vücut içerisine implante edilemeyen yara bakımı amacı ile kullanılan materyaller; gazlı bez, yara örtüleri, plaster, tampon, bandajlar vb.
- 3) Ekstrakorporeal cihazlar; yapay akciğer, yapay böbrek, yapay karaciğer vb.
- 4) Bakım ve hijyen ürünleri; battaniyeler, ameliyat giysileri ve örtüleri, eldivenler, vb.

Gıda Teknolojisi

Plazma sterilizasyon işlemlerinde UV ışınları ile radikallerden faydalanılmaktadır. Mikroorganizmalardaki kimyasal bağlar, UV fotonlarının absorpsiyonuna bağlı olarak kırılmakta ve hücre içinde uçucu bileşenler oluşmaktadır. Oluşan reaktif moleküller oksidasyona neden olmaktadır. Son ürün olarak da CO₂ ve H₂O gibi küçük moleküller ortaya çıkmaktadır. Sporlar üzerinde de vejetatif hücreler gibi etkili bir uygulamadır.

Isıl olmayan işlemler

Isıl olmayan plazma süreçleri gıda ile temas eden yüzeylerin özelliklerini çok geniş bir yelazede geliştirmek için kullanılan alternatif bir teknolojidir. Plazma ile yüzey özellikleri değiştirilen materyal hedeflenen doğrultuda yığın ve yüzey özelliklerine sahip olmaktadır. Plazmanın karmaşık doğal yapısı gereği, plazma frekansı, reaktör

geometrisi, kullanılan monomerin kimyasal yapısı, basınç, monomer akış hızı, plazma gücü ve uygulama süresi gibi plazma koşullarının kontrol edilmesiyle bir materyal yüzeyinde hedeflenen amaca yönelik homojen bir modifikasyonun gerçekleştirilebilmesi mümkün olmaktadır.

Gıda kaynaklı patojenlerin neden olduğu hastalıkların ölümlerle sonuçlanması sonucunda yaşanan kayıplar ve ayrıca tüketicilerin güvenli gıdaya erişme isteği plazma teknolojisinin yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır. Bu teknolojinin mikroorganizmaları kısa sürede ve etkili bir şekilde inaktif ettiği saptanmış; (Kim ve ark., 2011) bu yöntemin gıda ürünlerinin daha kolay ve daha ucuz muhafaza edileceğini ve gelecekte geleneksel gıda koruma yöntemlerinin yerine geçebilecek bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. (Fernández ve ark., 2013) Soğuk plazma yönteminde hücre yapısının, hücre fizyolojisinin, bakteriyel stres direncinin çok önemli olduğunu belirtmişlerdir. Soğuk atmosferik plazma sistemleri birçok vejetatif Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler, mayalar, küfler ve endosporların dekontaminasyonunda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Rod ve ark., 2012). Plazma yönteminin suda *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, ve yeşil alg de dahil olmak üzere birçok mikroorganizmanın etkin dekontaminasyonu için uygun olduğu tespit edilmiştir. Mango, kavun gibi sert kabuklu meyvelerin ve taze kesilmiş meyvelerin yüzeyinden, bademden, dolmalık biberden, mikroorganizmaların dekontaminasyon çalışmalarında; ayrıca yumurta, meyve suyu, kümes hayvanı eti, kurutulmuş et, tavuk eti, domuz pastırması, baklagiller, kahverengi pirinç, mısır salatası, fındık, kırmızı biber sosu, peynir ve et ürünlerine soğuk plazma sistemlerinin uygun olduğu belirtilmiştir (Bahrami ve ark., 2016; Basaran ve ark., 2008; Deng ve ark., 2007; Kim ve ark., 2011; Misra ve ark., 2014). Yöntem bakteri türü ve kullanılan plazma sistemine göre değişiklik göstermekle birlikte, genellikle vejetatif hücreler sporlara göre daha duyarlıdır. Ayrıca Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerle yapılan çalışmalarda, Gram negatif bakterilerin murein tabakasının Gram pozitif bakterilere göre daha ince olması nedeniyle, plazmanın reaktif oksijen türlerine karşı daha duyarlı olduğu saptanmıştır (Baysal ve İçier, 2012). Soğuk plazmalar 3 mekanizma yoluyla bakteri ölümüne sebep olmaktadır (Moisan ve ark., 2001):

1. Enerji kaynağı olarak UV kullanıldığında DNA'nın yıkımı,
2. Gaza haline geçebilen atomik bileşiklerin uçurulması,
3. Oksijen atomlarından yararlanılarak, yavaş yanma sonucu oluşan gaza dönüşebilen bileşenlerden yüzeyden kopma etkisi (etching) sonucu mikroorganizmanın atomik düzeyde aşınması.

Ayrıca soğuk atmosferik plazma uygulamasında ve antimikrobiyal etkinin saptanmasında; gaz cinsi ve kompozisyonu, uygulama süresi, bağıl nem, akış hızı, gıda matrisinin yüzey özellikleri, plazmanın uygulama yöntemi, giriş gücü, boşaltım tipi gibi proses parametrelerine ilaveten bakteriyal yük, , sıcaklık, pH bakterinin bulunduğu substrat, büyüme ortamının kompozisyonu gibi bir çok faktör önemlidir (Fernández ve ark., 2013; Fernández ve Thompson, 2012).

Tekstil Teknolojisi

Plazma işlemleri tekstilde 1960'lı yıllarda kullanılmaya başlanmıştır. Plazma işlemi ile tekstil malzemelerinin yüzeylerine uygulanan işlemler gelişmeleri hızlandırmıştır. Yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi noktasında endüstriyel uygulamalara da geçiş sağlanmıştır. Çalışmalar 10-15 yıl içerisinde hızla artmıştır.

Plazma işlemleri Atmosferik basınçlarda veya vakum ortamlarında oluşabilir. Plazma işlemlerinde klasik yöntemler ile uygulanan terbiye işlemlerinin daha kolay, ucuz ve etkin olarak yapılabilmesi amaçlanmaktadır. Vakum ortamında plazma işlemi ile tekstilde elde edilen özellikler aşağıda özetlenmiştir.

Pamuklu materyallerin çok çeşitli ön terbiye ve bitim işlemleri bulunduğu için, plazma kullanımı oldukça fazla olmaktadır. Uygulanan terbiye işlemlerin çoğu kimyasal işlemler olduğu için, life ve çevreye oldukça fazla zarar vermektedir. Ön terbiye işlemlerinde plazma kullanımı ile su tüketimi, sabit maliyetler (verim artırılarak), kimyasal ve yardımcı madde kullanımı, atık su miktarı ve amortisman maliyetleri azaltılmaktadır.

Pamuklu materyaller için plazma uygulamaları sonucu haşıl sökme, boyama ve su iticilik konusunda gelişmeler sağlanmıştır. Plazma uygulaması sırasında gaz kullanımı gerektiği için hava ortamında haşıl sökme uygun olmaktadır. Ancak plazma işlemi sırasında hem kütle hem de mukavemet kaybı olduğu için liflere zarar

vermektedir. Oksijen ile aşındırma yapılmasının boyama üzerine olumlu etkisi olmamaktadır. Plazma kristalin olmayan bölgelerde aşınmaya sebep olduğu için plazma işlemi görmüş selülozik lifler işlem görmemiş liflerden daha az boya afinitesine sahip olmaktadır. Doymamış CH_3 ve CF_3 kullanılması ile kimyasal olarak su iticilik özelliği kazandırılabilir. Etilen plazma ile pamuklu materyale hidrofobluk kazandırılabilir. Etilen, materyal üzerinde bir film tabakası oluşturmakta, materyal üzerindeki alifatik karbon miktarı artarken, hidrofilik karbon bileşenleri azalmaktadır. Argon plazma ise selülozik liflerin su emiciliğini artırmaktadır.

1.2.8. Antimikrobiyal aktivite kavramı

Antimikrobiyal maddeler, bakteri, mantar ve hem bakteri hem mantar gelişimini engellemekte ve/veya sınırlandırmaktadırlar. Bakterilere öldürücü etki sağlayan maddelere bakterisidal (bakterisidyosid), sadece üremelerini engelleyen maddelere ise bakteriyostatik adı verilmektedir. Antimikrobiyal maddelerin birçoğu hem bakteri, hem de mantarlara karşı güçlü aktivite göstermelerine rağmen, bütün mikroorganizmalara karşı aynı derecede etkin maddelerin sayısı oldukça azdır. Bakterilerin üremesini ve gelişmesini engelleyen maddelere antibakteriyel maddeler denilmekteyken mantar üremesini ve gelişmesini önleyen antimikrobiyal maddelere fungisid, mantar üremesini sınırlandıran maddelere ise fungistatik maddeler adı verilmektedir. Bu maddeler arasında arsenik bileşikler, çeşitli izotiyoozolin bileşikler ve imidazol türevleri ve kalay esaslı ürünler sayılabilir. Bu maddeler gereksinime ve uygulanacağı ortam koşullarına göre tek tek veya kombine edilerek uygulanabilir.

1.2.8.1. Antimikrobiyal aktivite için uygun tekniğin belirlenmesi

Mikroorganizmaların duyarlılığın saptanmasında, yaygın olarak kullanılan başlıca iki yöntem vardır.

1) Tüp dilüsyon tekniği: Bu teknik antimikrobiyal aktivitenin MİK (minimal inhibitör konsantrasyonunu) ve MLK (minimal letal konsantrasyonlu) değerlerini belirlemede yardımcı olur.

2) Disk diffusyon tekniği: Kirby-Bauer yöntemi olarak da bilinen bu teknikte, farklı dilüsyonlardaki diskler, agarın yüzeyine çeşitli konsantrasyonda yerleştirilir. İnkübasyon süresi tamamlanınca diskler etrafındaki inhibisyon zonları kumpas veya cetvelle ölçölür. Standart zon tablosu ile karşılaştırılarak duyarlı (S), indermediate (İ) ve duyarsız (R) olarak değerdendirmeleri yapılır.

Kirby-Bauer yönteminde, aynı zamanda, bir dilüsyonun sıvı besiyerinde saptanan (MİK) değeri (g/ml) ile agar üzerindeki zon çapı/mm karşılaştırılarak da duyarlı intermedier ve dirençli bölgeler grafikte belirlenebilir. Böylece, konsantrasyon değerdleri net olarak saptanabilmektedir. Ayrıca, MİK değerdlerini, zon çapına göre de bulmak mümkündür.

Disk diffusyon yöntemi düşük maliyetli, az zahmetli ve kolay uygulanırılığı ile birlikte, bir petri kutusunda 5-6 örneğe karşı duyarlılığı belirlemek için çok ideal bir uygulamadır. Ayrıca en etkili dilüsyon derişimi saptamak bu yöntem ile mümkündür. Bu nedenle çok fazla tercih edilmektedir. Bu yöntemde, ilk 24 saat içinde inhibisyon zonu içinde hiçbir koloni görölmezken, inkubasyon 48 saat'e çıkarıldığında zon içinde koloniler oluşmaya başlar. Bu durumda, MİK ile MLK değerdlerini kesin belirlemede acele edilmemesi gerekeceğini ifade eder. Yöntemin en belirleyici ve dikkat edilmesi gereken kısmı bu noktasıdır.

3) Diğer tekniklerden agar içinde dilüsyon ve mikrotitrasyon yöntemlerine daha az kullanılmaktadır.

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Malzemeler

Yapılan bu tez çalışmasında gümüş nanopartikül sentezi için AgNO_3 (Sigma Aldrich Co.) kullanılmıştır. Nanopartiküller sentezlendikten sonra PEG 2000 (Sigma Aldrich Co.) çözeltisi hazırlanmıştır. Fiksasyon işlemleri için metanol (Merck) ve etanol (Merck) kullanılmıştır. Tampon çözeltilerin hazırlanması için disodyum hidrojen fosfat-2-hidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sigma Aldrich Co.), sodyum dihidrojen fosfat-2-hidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sigma Aldrich Co.) kullanılmıştır. Plazma işlemi gerçekleştirilirken ortam havasını inert hale getirmek için Argon gazı (BOSS), steril koşullar altında muhafaza işlemi sağlamak amacıyla da Azot (BOSS) gazı kullanılmıştır. Çalışmanın her aşamasında safsızlıkların minimuma indirilmesi amacıyla ultra pür saf su (revers osmos) ile çalışılmıştır.

2.1.2. Kullanılan cihazlar

Azaltılmış Toplam Yansıma-Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (ATR-FT-IR): Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Kimya Bölümünün bünyesinde bulunan Thermo-Scientific IS10-ATR-FT-IR cihazı ile de yüzey yapıları karakterize edilmiştir. İmmobilize edilmiş yüzeylerin Medical Grade PVC yapılarının belirlenmesi amacıyla spektrumları alınmıştır.

Geçirimli Elektron Mikroskobu, (TEM): Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin yapısal karakterizasyonun gerçekleştirilmesi amacıyla Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Araştırma Laboratuvarları Merkezi, Malzeme Araştırma Laboratuvarı bünyesinde bulunan JEOL marka JEM 2100F HRTEM model TEM cihazında görüntüleme gerçekleştirilmiştir.

Plazma Polimerizasyon Cihazı- Medical Grade PVC yüzeylerinin immobilizasyonda etkinliğinin artırılması ve antimikrobiyal aktiviteni yükseltilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Bu temel cihazların yanında aşağıda belirtilen ve yine laboratuvarımızda bulunan

cihazlar da çalışmada kullanılmıştır. Soğutmalı Santrifüj (MPV- 65R) Gümüş nanopartikül sentezi için -Isıticılı manyetik karıştırıcı (IKA-WERKE RT10) çözeltilerinin hazırlanması amacı ile, -Hassas terazi (RADWAG AS 220/C/2) çalışmanın tüm aşamalarında gerçekleştirilen tartım işlemlerinde, -Manyetik karıştırıcı (Magnem -pH metre (CyberScan pH500) tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır. - Laminar Flow Akış Kabini (ESCO) ve UV Lamba ile ortam sterilitesini arttırmak amacıyla kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1 Çevreci yaklaşımla AgNP sentezi

Eylül ayında toplanmış, yıkanmış, kurutulmuş sıgla yapraklarından 0.15 g tartılarak kaynama noktasına erişmiş 150 ml bidistile saf suyun içine atıldıktan sonra manyetik ısıtıcıda 100°C’de 20 dakika kaynatılmıştır.



Şekil 2.1. Çevreci yaklaşımla gümüş nanopartikül sentez aşamaları.

Çözelti oda sıcaklığında soğutulduktan sonra kaba filtre yardımıyla süzölmüştür. İkinci aşamada 10 ml özüte 1 ml gümüş nitrat ve 89 ml ultra saf su konularak 100 ml’lik çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti 1,5 µl’lik eppendorf tüplerde soğutmalı santrifüjde 14000 rpm /20000 g’de 1 saat santrifüj edilmiştir. Eppendorf tüplerden süpernatantları alınmış çökeleklere 500 µl ultra saf su ilave edilerek ve 5 saat süreyle sonikasyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen 500ml’lik gümüş nanopartikül çözeltisine gravimetrik analiz uygulanarak miktar tayini yapılmış,

AgNP çözeltisinin derişimi 1 mg/ml olarak belirlenmiştir. Karakterizasyon amacıyla AgNP'lerin TEM görüntüsü ve boyut analizi elde edilmiştir.

2.2.2. Fiziksel adsorbsiyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu

Yüzey modifikasyonunun birincisi konvansiyonel olarak bilinen adsorbsiyon yöntemidir. Bu yöntemde yüzeylere PEG adsorpsiyon işlemi PEG çözeltisi ile yapılacaktır. İkinci yüzey modifikasyonu işlemi için sadece AgNP adsorbe edilecektir. Üçüncü ve son yöntemde ise PEG ve ardından AgNP adsorbsiyonu ardışık olarak gerçekleştirilecektir. Böylelikle üç farklı modifikasyon işlemi ile üç farklı yüzey elde edilecektir.



Şekil 2.2. PEG Çözeltisi ile muamele edilen PVC biyomalzeme.

2.2.2.1. Biyomalzeme yüzeylerine PEG adsorpsiyonu

Kan ile temas halinde olan biyomalzemenin yüzey özellikleri PEG immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Bunun için öncelikle 0,01 M, pH 7,0 sodyum fosfat tamponu hazırlanmıştır. 2 g PEG 2000 tartılmış 100 ml tampon içerisinde manyetik karıştırıcıda 0°C'de 650 cpm'de 15 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra steril koşullar altında kesilmiş 1cm çaplı 15 polimerik biyomalzeme örneği bir behere alınmıştır ve hazırlanmış PEG çözeltisi ile içinde 110 cpm'de 24 saat süreyle kuru çalkalamalı sistemde karıştırılmıştır. 24 saat sonunda örnekler alınıp 70 ml Metanol ve 30 ml

Etanol karışım çözeltisinde 100 cpm’de 2 saat fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Fiksasyon sonrasında örnekler steril poşetlere azot atmosferinde alınarak mikrobiyolojik analiz için +4°C’de muhafaza edilmiştir.

2.2.2.2. *Biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu*

Çapı 1 cm, yüzey alanı 3.14 cm² olan Medical Grade PVC yüzeylerden 15 adet steril petriye alınır. Biyomalzeme yüzeyine (Medical Grade PVC) derişimi 1 mg/ml olarak ölçülen AgNP çözeltisinden 5 ml damlatılır. Kuru çalkalamalı banyoda 30 rpm’de 3 saat boyunca çalkalanır. 3 saat sonunda steril poşetlere alınan örnekler azot ortamında +4 C’de mikrobiyolojik analiz için saklanır.

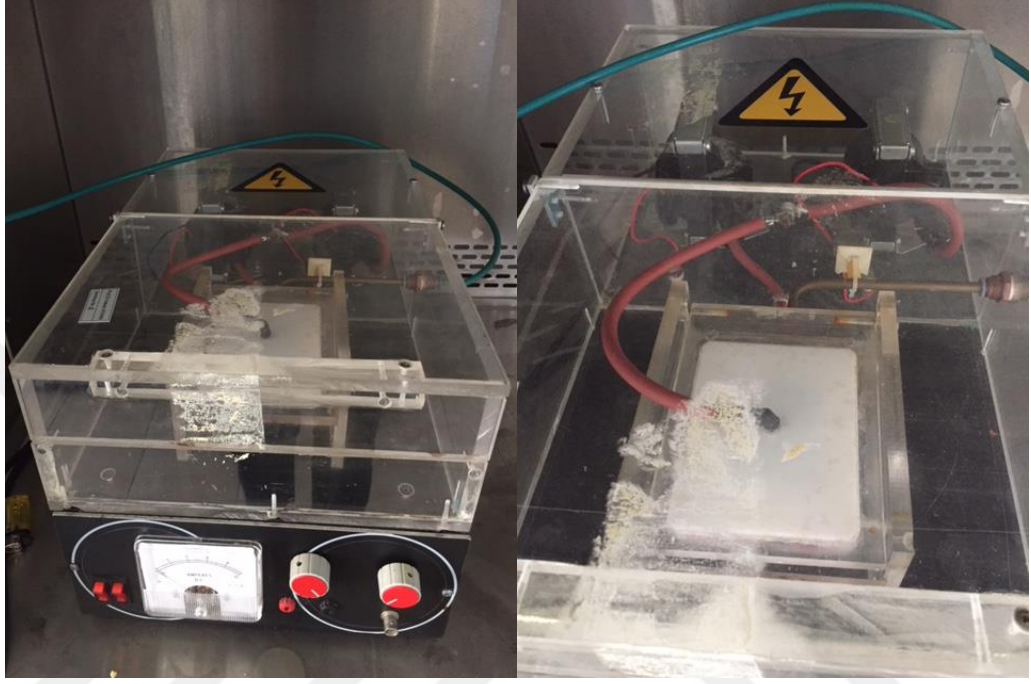
2.2.2.3. *PEG kaplı biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu*

Kan ile temas halinde olan biyomalzemenin yüzey özellikleri PEG+AgNP immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Yüzeyine PEG immobilizasyonu yapılmış 15 adet 1 cm çaplı polimerik biyomalzeme örneği bir petriye yerleştirilmiştir. Petriye 5 ml gümüş nanopartikül çözeltisi eklenmiş ve oda sıcaklığında, 30 cpm’de 3 saat süreyle kuru çalkalamalı sistemde karıştırılmıştır. Karıştırma sonrasında örnekler steril poşetlere azot atmosferinde alınarak mikrobiyolojik analiz için +4°C’de muhafaza edilmiştir. Elde edilen PEG ve PEG-AgNP immobilize yüzeylerin ATR-FT-IR spektrumları alınmıştır.

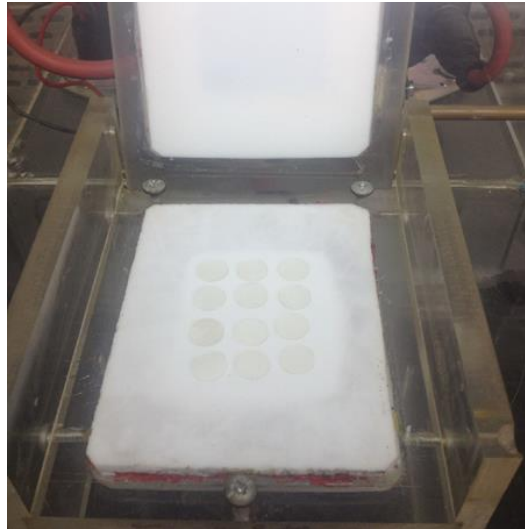
2.2.3. **Atmosferik plazma yöntemiyle yüzey modifikasyonu**

Önerilen bu çalışma kapsamında, yüzey modifikasyonu yöntemi, yüzey özelliklerinin değiştirilmesinde sıklıkla kullanılan **elektiriksel boşalım** (glow discharge) yöntemidir. Bu işlemin amacı yüzey adsorbsiyon kapasitesinin artırılmasıdır. Çalışmada PEG, AgNP ve PEG+ AgNP olmak üzere 3 farklı yüzey elde edilmiştir. Atmosferik plazma sistemi kullanılarak farklı sürelerde (1-3-5 dak.) ve farklı güçlerde (0,5-1-3 A) yüzeyler elektiriksel boşalım yöntemi ile pürüzlendirilmiştir. Ortamın inert kalmasını sağlamak amacıyla da Argon gazı kullanılmıştır. Kimyasal adsorbsiyon ile gelen safsızlıkların ve toksisite faktörlerinin azaltılması amacıyla,

işlemlerde, yüzey adsorbsiyon kapasitesinin artırılması amacıyla atmosferik plazma uygulanmıştır. Fiziksel adsorbsiyonun kullanılması hedeflendiği için, atmosferik plazmanın iyon değıştirici özllüğünden faylanılmıştır.



Şekil 2.3. Plazma polimerizasyon cihazı



Şekil 2.4. Plazma polimerizasyon cihazının plakaları arasına yerleştirilmiş
10 mm çaplı PVC biyomalzeme

2.2.3.1. Atmosferik plazma yöntemiyle biyomalzeme yüzeylerine PEG immobilizasyonu

Yüzey pürüzlendirme işlemi sonrasında kan ile temas halinde olan biyomalzemenin yüzey özellikleri PEG immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Bunun için öncelikle 0,01 M, pH 7,0 sodyum fosfat tamponu hazırlanmıştır. Daha sonra 2 g PEG 2000 tartılarak 100 ml tampon içerisinde manyetik karıştırıcıda 0°C’de 650 cpm’de 15 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra steril koşullar altında kesilmiş 1cm çaplı 15 polimerik biyomalzeme örneği bir behere alınmıştır ve hazırlanan PEG çözeltisi ile içinde 110 cpm’de 24 saat süreyle kuru çalkalamalı sistemde karıştırılmıştır. 24 saat sonunda örnekler alınıp 70 ml Metanol ve 30 ml Etanol karışım çözeltisinde 100 cpm’de 2 saat fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Fiksasyon sonrasında örnekler steril poşetlere azot atmosferinde alınarak mikrobiyolojik analiz için +4°C’de muhafaza edilmiştir. Karakterizasyon amacıyla elde edilen PEG immobilize yüzeylerin ATR-FTIR spektrumları alınmıştır.

2.2.3.2. Atmosferik plazma yöntemiyle biyomalzeme yüzeylerine AgNP immobilizasyonu

Yüzey pürüzlendirme işlemi sonrasında kan ile temas halinde olan biyomalzemenin yüzey özellikleri AgNP immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Bunun için 1cm çaplı 15 polimerik biyomalzeme örneği bir petriye yerleştirilmiştir. Petriye 5 ml gümüş nanopartikül çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 30 cpm’de 3 saat süreyle kuru çalkalamalı sistemde karıştırılmıştır.

2.2.3.3. Atmosferik plazma yöntemiyle peg kaplı biyomalzeme yüzeylerine agnp immobilizasyonu

Yüzey pürüzlendirme işlemi sonrasında kan ile temas halinde olan biyomalzemenin yüzey özellikleri PEG + AgNP immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Yüzeyine PEG immobilizasyonu yapılmış 15 adet 1 cm çaplı polimerik biyomalzeme örneği bir petriye yerleştirilmiştir. Petriye 5 ml gümüş nanopartikül çözeltisi eklenmiş ve oda sıcaklığında, 30 cpm’de 3 saat süreyle kuru çalkalamalı sistemde karıştırılmıştır. Karıştırma sonrasında örnekler steril poşetlere azot atmosferinde

alınarak mikrobiyolojik analiz için +4°C’de muhafaza edilmiştir. Karakterizasyon amacıyla elde edilen PEG-AgNP immobilize yüzeylerin ATR-FT-IR spektrumları alınmıştır.



Şekil 2.5. Atmosferik plazma işlemi sonrası yüzey modifikasyonlarına hazırlanmış örnekler

2.2.4. Biyomalzemenin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

Nazokomial mikroorganizmalar olarak da bilinen *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* , *Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* türleri ile çalışılmıştır. Bu mikroorganizmalar en sık karşılaşılan patojen mikroorganizmalardır.

Çizelge 2.1. Nazokomial mikroorganizmalar ve özellikleri.

<i>Klebsiella pneumoniae</i> ,	Bakteri, Gram (-), kapsüllü, fakültatif anaerob, hareketsiz
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,	Bakteri, Gram (-), basil şeklinde, anaerob, hareketli, sitrat-katalaz, oksidaz pozitif
<i>Candida albicans</i>	Fungus, sporlu eşeyli çoğalan, diploit
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri, Gram (+), katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz
Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri, Gram (+), katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz, metisilin dirençli
<i>Escherichia coli</i>	Bakteri, Gram (-), fakültatif anaerob, hareketli, çubuk şekilli koliform

Yukarıda sözü edilen yöntemler ile yüzey özellikleri değiştirildikten sonra steril koşullarda poşetlere azot atmosferinde alınmış ve +4°C’de muhafaza edilmiş biyomalzeme örneklerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacı ile disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite ölçümleri iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk olarak fiziksel adsorpsiyon yöntemleri ile elde edilmiş yüzeylerde, ikincisi ise yüzey özelliklerinin değiştirilmesinde sıklıkla kullanılan **elektriksel boşalım** (glow discharge) sonrası immobilizasyon yöntemi ile elde edilen yüzeylerde ekimler yapılmıştır.

Mikrobiyolojik ekim yöntemleriyle toplam 6 mikroorganizma ve uygun besi yeri kullanılarak 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriler nutrient besi ortamında, maya sabouraud dekstroza besi ortamında sırasıyla 37°C ve 25°C’te 24 saat aktifleştirildikten sonra muller hinton agar bulunan petri kutularına ekilmiştir. Yüzey özellikleri değiştirilen 1 cm çaplı polimerik biyomalzeme örnekleri 2 cm aralıklarla besiyerine yerleştirilerek inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, metisilin dirençli *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayasının oluşturduğu inhibisyon bölge çapları ölçülmüştür.

Yapılan ekimler sonucunda *Staphylococcus aureus* mikroorganizması dışında tüm mikroorganizmalarda zon çapı oluşmuştur. Çapın büyüklüğü antimikrobiyal aktivitenin ne kadar etkin olduğunu gösterir. Kullanılan örnekler 10 mm çapındadır. Tablodaki değerler çaptan ortalama uzaklığa göre hesaplanmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞILMASI

3.1. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Bu çalışmada kan ile temas halinde polimerik bir biyomalzeme olan Medical Grade PVC kan torbalarının, hastane enfeksiyonu olarak da bilinen seçilmiş altı tip nazokomial mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliğinin yüzey adsorpsiyonu ve plazma polimerizasyonu aracılığıyla yüzey immobilizasyonu sağlanmıştır. Yapılan çalışmalar sırasında ve sonrasında laboratuvar, bölüm ve üniversitenin bünyesinde bulunan cihazlardan yararlanılmıştır. Yapılan çalışmalar sırasında ve sonrasında çoğunlukla laboratuvarında bulunan cihazlar kullanılmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu FT-IR ve TEM cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

FT-IR cihazı bölümümüzde yer almakta olup, gerekli kalibrasyonu düzenli aralıklarla yapılmaktadır. TEM cihazı Araştırma Laboratuvarları Merkezinde yer almakta, gerekli bakımı ve kalibrasyonu yapılmaktadır. Kullanılan cihazların bakımlarının ve kalibrasyonlarının düzenli olarak yapılması elde edilen sonuçların güvenilirliğini sağlamaktadır.

3.2. Yöntem

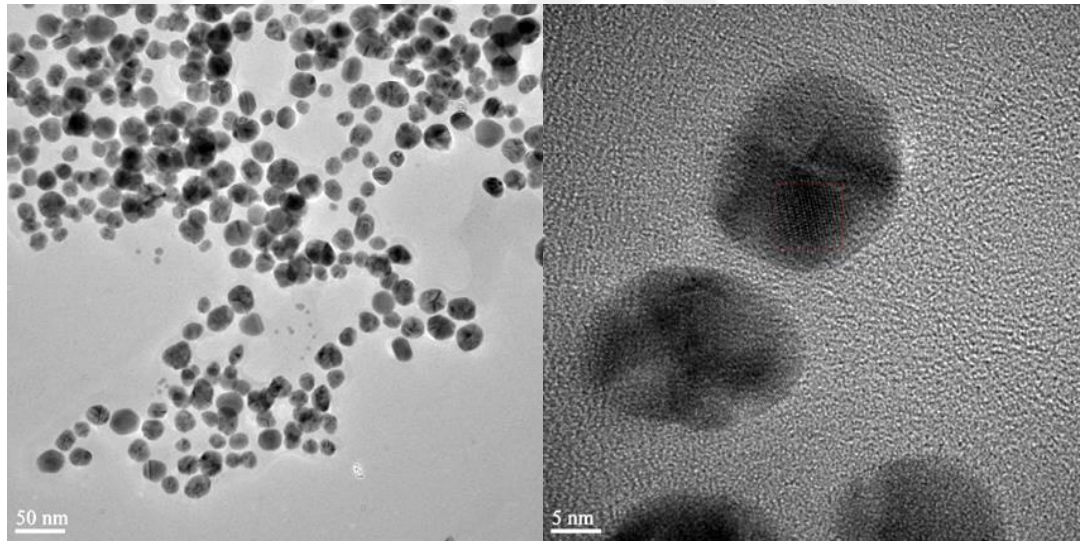
Yapılan bu çalışmada kan ile temas halinde polimerik bir biyomalzeme olan Medical Grade PVC kan torbalarının, hastane enfeksiyonu olarak da bilinen seçilmiş altı tip nazokomial mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliğinin yüzey adsorpsiyonu ve plazma polimerizasyonu aracılığıyla yüzey immobilizasyonu sağlanmıştır. Yüzey adsorpsiyon ve immobilizasyonları için biyobozunur bir malzeme olan PEG 2000 ve antimikrobiyal etkinliği bilinen gümüş nanopartiküllerden yararlanılmıştır. Gümüş nanopartikül Yeşil Sentez yöntemi ile yöresel bir bitki olan sığla yapraklarından tarafımızca sentezlenmiştir.

Yöntemde esas olarak iki tip yüzey modifikasyon yöntemi denenmiştir. Doğrudan

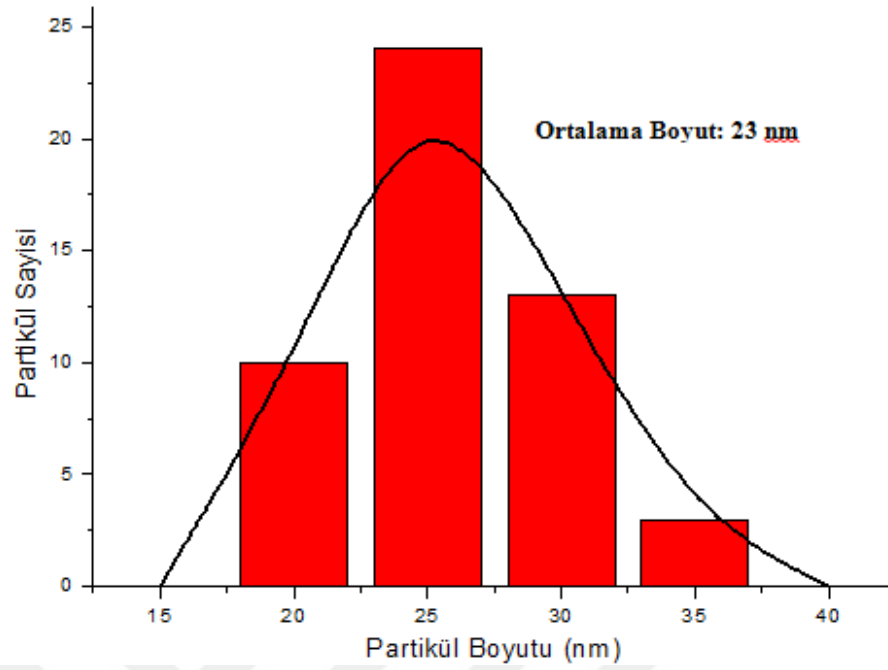
adsorpsiyon ve plazma polimerizasyonu ile yüzeyi pürüzlendirilmiş yapıya immobilizasyon olmak üzere iki temel deney planı üzerinde çalışılmış ve her iki yüzey işlemi sonrasında antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Toplamda çalışılan altı tip mikroorganizma suşunun (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, Metisilin Dirençli *S.aureus*, *C. albicans*) her bir yüzey modifikasyonuna ve plazma polimerizasyonu parametrelerine duyarlılığı farklı sonuçlar vermiştir. Sentez sırası ve sonrasında elde edilen bulgular ve sonuçlar aşağıda irdelenmiştir.

3.2.1. Çevreci yaklaşımla AgNP sentezi

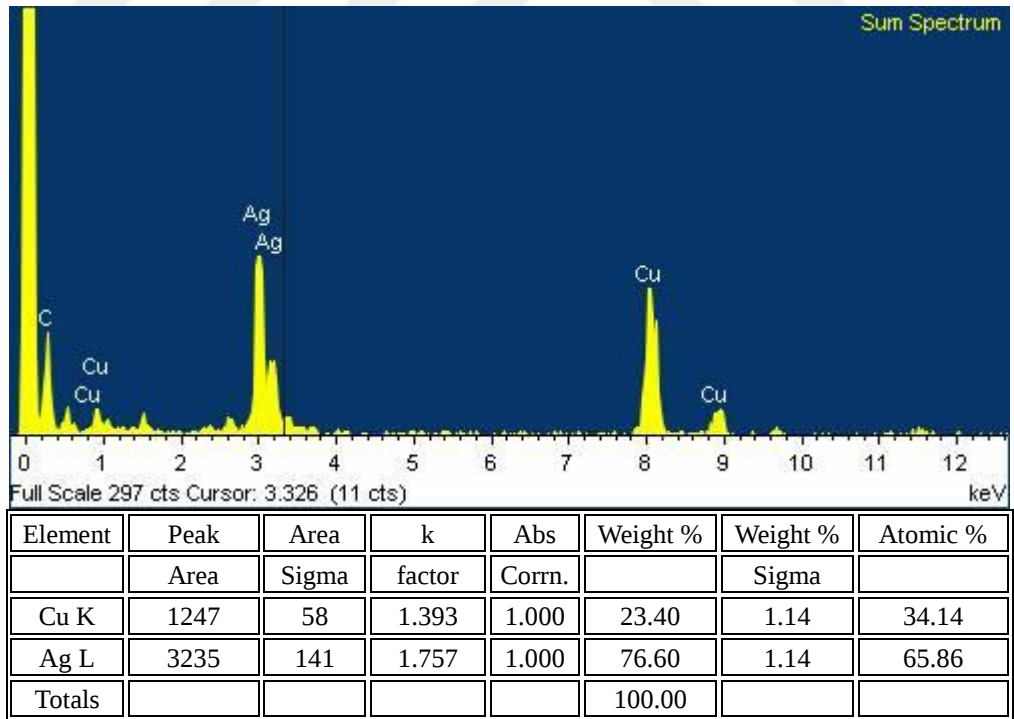
Araştırmada elde edilen bulgular aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir. Çevreci sentez yaklaşımı doğrultusunda yöresel bitki yaprak özütü ile sentezlenen AgNP ait TEM görüntüsü ve parçacık boy dağılımı Şekil 3.1’de yer almaktadır. Verilen sentez koşullarında AgNP 20-35 nm boy dağılımında ve 23 nm ortalama çapa sahip oldukları belirlenmiştir.



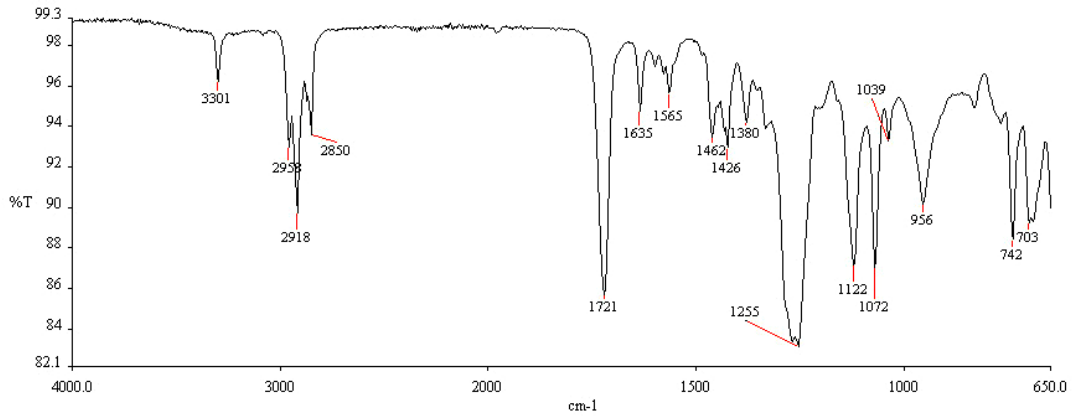
Şekil 3.1. Yöresel *L. orientalis* mill. bitkisinin yaprak özütü ile sentezlenen AgNP’lerin TEM fotoğrafları.



Şekil 3.2. Sentezlenen AgNP'lerin boyut analizi.



Şekil 3.3. Sentezlenen AgNP (EDS Analizi).



Şekil 3.4. AgNP FT-IR spekturumu

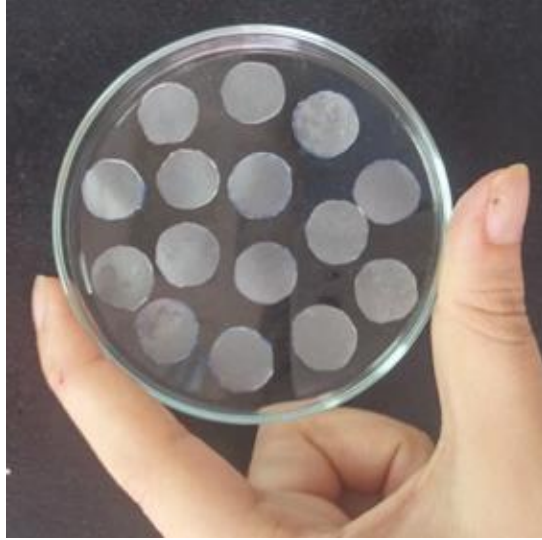
3.2.2. Fiziksel adsorbsiyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu

Bu bölümde yüzeylere Adsorpsiyon yöntemi kullanılarak yüzey özelliklerinin değiştirilmesi sağlanmıştır. Bunun için ilk olarak PEG adsorpsiyon işlemi PEG çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. İkinci yüzey modifikasyonu işlemi için sadece AgNP adsorbe edilmiştir. Üçüncü ve son yöntemde ise PEG ve ardından AgNP adsorbsiyonu ardışık olarak gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada kullanılan biyomalzeme (kan torbası) ticari olarak satılan bir malzemedir. Satın alma yoluyla temin edilen polimerik biyomalzemenin görüntüsü Şekil 3.5'tedir.



Şekil 3.5. Araştırmada kullanılan kan torbası biyomalzeme.



Şekil 3.6. Deneylerde kullanılmak üzere hazırlanmış biyomalzeme.

3.2.2.1. Biyomalzeme yüzeylerine PEG adsorpsiyonu

PVC biyomalzeme yüzey özellikleri ilk olarak PEG adsorpsiyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Bu çalışmada PEG 2000 kullanılmıştır. Polivinil klorür yüzeylerine polietilen glikol adsorplandırılmıştır.

Polietilen glikol molekülünde bulunan -OH grupları, polivinil klorür yüzeyinde bulunan -Cl'lerden bağlanmıştır. Şekil 3.7(c)'de kırmızı renk ile gösterilmiş spektrum polietilen glikol adsorbe edilmiş biyomalzemeye aittir.

Gerilme titreşimlerindeki değişimler açıkça görülmektedir. Spektrum incelendiğinde, 3200-3600 cm^{-1} bölgesindeki O-H gerilmesi, 1255 cm^{-1} 'de C-O gerilmesi, 1720 ve 1300-1462 cm^{-1} dalga boyu arasındaki gerilme pikleri PEG'in yüzeye yerleştiğini göstermektedir.

3.2.2.2. Biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu

PVC biyomalzemenin yüzey özellikleri ikinci aşamada AgNP adsorpsiyonu yapılarak modifiye edilmiştir.

Çalışmada Yeşil Sentez yolu ile tarafımızca sentezlenmiş AgNP'lerin, polivinil klorür yüzeyine adsorpsiyonu sağlanmıştır.

Gümüş nanopartikül çözeltisinde bulunan Ag yüksüz iyonları, polivinil klorür yüzeyine bağlanmıştır. Şekil 3.7(a)'da siyah renk ile gösterilmiş spektrum gümüş nanopartikül ile adsorbe edilmiş biyomalzemeye aittir.

Spektrumdan görüleceği üzere AgNP kaplı yüzeylerin spektrumlarında, PEG yapısında bulunan -OH gerilme titreşiminin iyice azaldığını göstermektedir. Buradan PEG yapısında olan -OH gruplarındaki oksijen ile AgNP arasında bağ oluşumu olabileceğini göstermektedir [18].

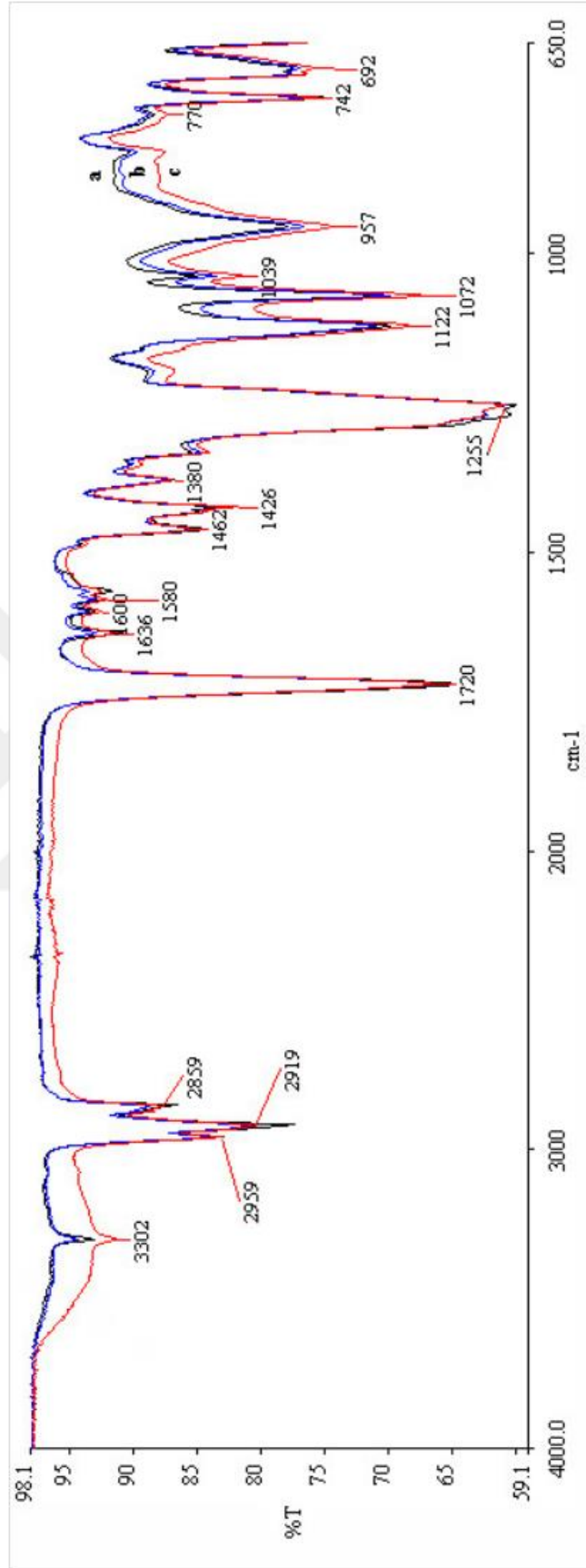
3.2.2.3. PEG kaplı biyomalzeme yüzeylerine AgNP adsorpsiyonu

Çalışma kapsamında adsorpsiyonun üçüncü uygulaması PVC biyomalzeme yüzeylere PEG + AgNP adsorpsiyonu yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.7(b)'de mavi renk ile gösterilmiş spektrum Polietilen glikol + Gümüş nanopartikül ile ardışık adsorbe edilmiş biyomalzemeye aittir. Polietilen glikol ile etkinleştirilmiş örnekler daha sonra gümüş nanopartiküllerle etkinleştirilmiştir.

Polietilen glikol kaplanmış yüzeyler üzerinde -OH gruplarına bağlı oksijen ile gümüş nanopartikül çözeltisi içerisinde bulunan Ag iyonları adsorbe edilmiştir. Spektrumda da görüldüğü gibi transmittans değerleri, sadece AgNP adsorpsiyonuna göre düşük, sadece PEG adsorpsiyonuna göre ise yüksektir. $3600-2800\text{ cm}^{-1}$ 'de -OH gerilme aralığında AgNP ve PEG-AgNP adsorpsiyonlarında çok küçük bir fark görülürken, özellikle $700-800\text{ cm}^{-1}$ 'de -Cl spektrumunda transmittans farkları ortaya çıkmaktadır. $1100-900\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde bulunan C-O bağlarının farklılığı da görülmektedir.

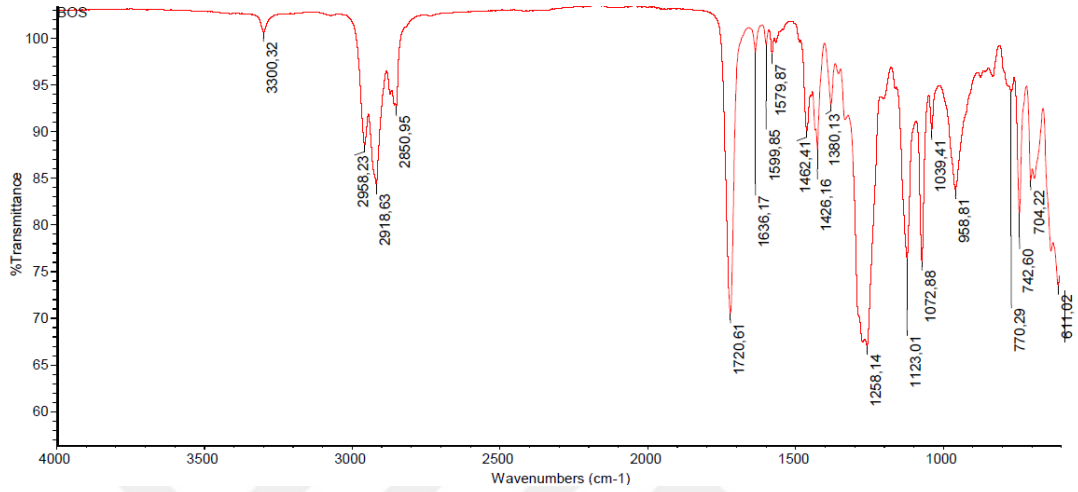
Yine spektrumdan görüleceği üzere PEG+AgNP kaplı yüzeylerin spektrumlarından, PEG yapısında bulunan -OH gerilme titreşiminin iyice azaldığını göstermektedir. [18]. ATR-FT-IR spektrumlarının analizi bize yüzeyde son katman olarak AgNP adsorpsiyonunun başarı ile gerçekleştirildiği konusunda bilgi vermiştir.



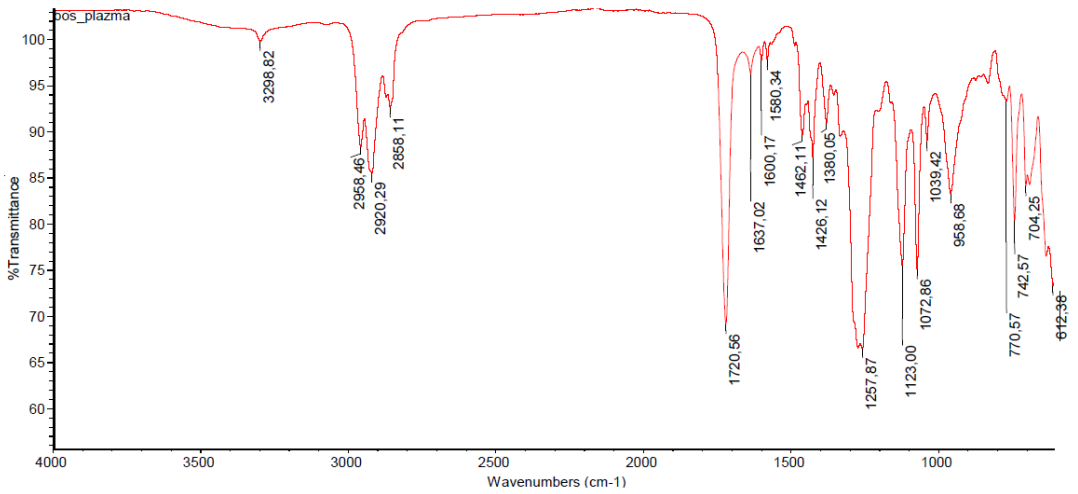
Şekil 3.7. Medikal PVC biyomalzeme yüzeyinin a) AgNP, b) PEG-AgNP ve c) PEG ile değiştirildikten sonra alınan ATR-FT-IR spektrumları.

3.2.3. Atmosferik plazma yöntemiyle yüzey modifikasyonu

Sunulan bu çalışma kapsamında ikinci yüzey modifikasyonu yöntemi olarak yüzey özelliklerinin değiştirilmesinde sıklıkla kullanılan **elektriksel boşalım** (glow discharge) yöntemi kullanılmıştır. Bu işlemin temel amacı yüzey adsorbsiyon kapasitesinin artırılmasıdır.



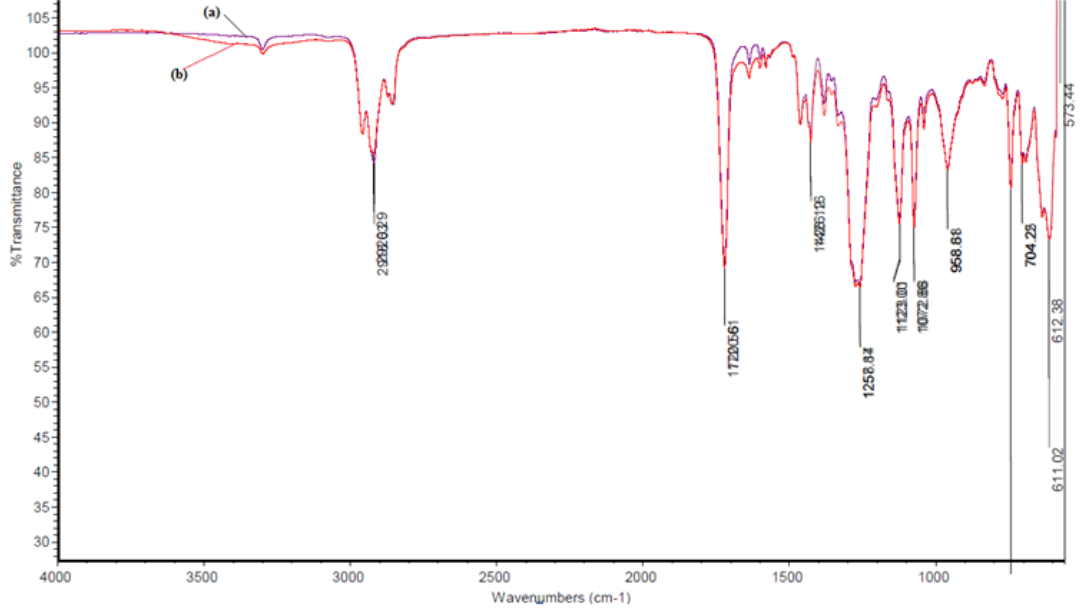
Şekil 3.8. İşlem görmemiş PVC yüzey ATR-FT-IR spekturumu.



Şekil 3.9. Plazma sonrası boş PVC yüzey ATR-FT-IR spekturumu.

Elektriksel boşaltım yöntemi ile birlikte şekil 3.9’da görülen spektrumda 3200-3600 cm^{-1} bölgesindeki su piki olan -OH gerilmesi, 1255 cm^{-1} ’de C-O gerilmesi, 1720 ve 1300-1462 cm^{-1} dalga boyu arasındaki gerilme bantları plazma işleminin yüzeyde bir değişime neden olduğunu göstermektedir. Şekil 3.10’da işlem görmemiş PVC yüzey ile plazma işlemi sonrası PVC yüzeyin spektrumlarının karşılaştırılması sunulmaktadır.

Karşılaştırmada plazma işlemi ile birlikte yüzeyde hafif şiddette su piki oluşmuştur. Belirgin değişim plazma işleminden kaynaklı parmak izi bölgesinde -C-O gerilmelerindeki bariz değişimlerdir. Bu değişimler yapı yüzeyinde -C-O; -C=C-; -C-C- gerilmelerindeki değişimleri içermektedir.



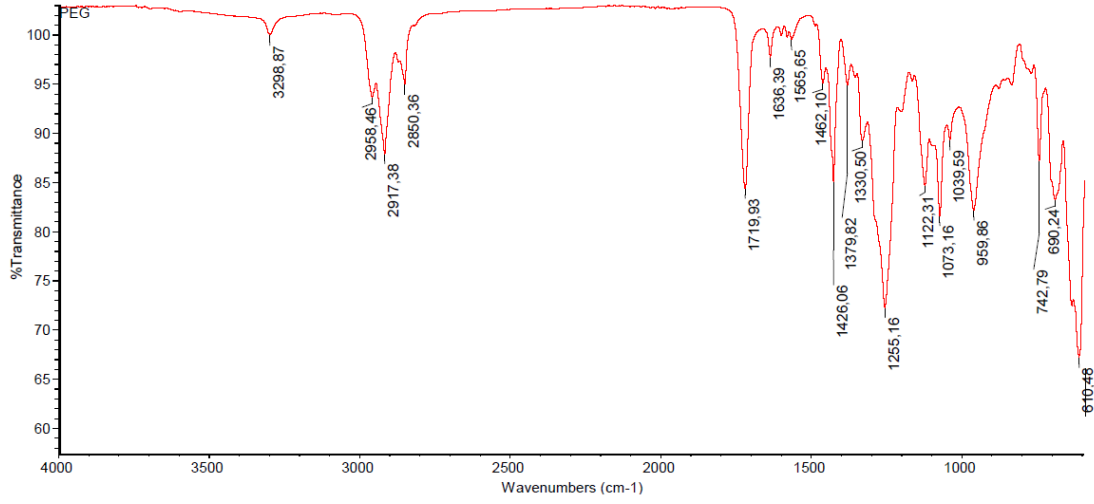
Şekil 3.10. ATR-FT-IR spektrumları; (a) işlem görmemiş PVC yüzey; (b) Plazma sonrası PVC yüzey.

3.2.3.1. Atmosferik plazma yöntemiyle biyomalzeme yüzeylerine PEG immobilizasyonu

Yüzey pürüzlendirme işlemi sonrasında PVC biyomalzemelerin yüzey özellikleri PEG immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir.

Plazma polimerizasyonu ile yüzeyin iyonik özellikleri değiştirilerek, polietilen glikol molekülünde bulunan -OH gruplarının yüzey üzerinde aşılması (graft olması) sağlanmıştır.

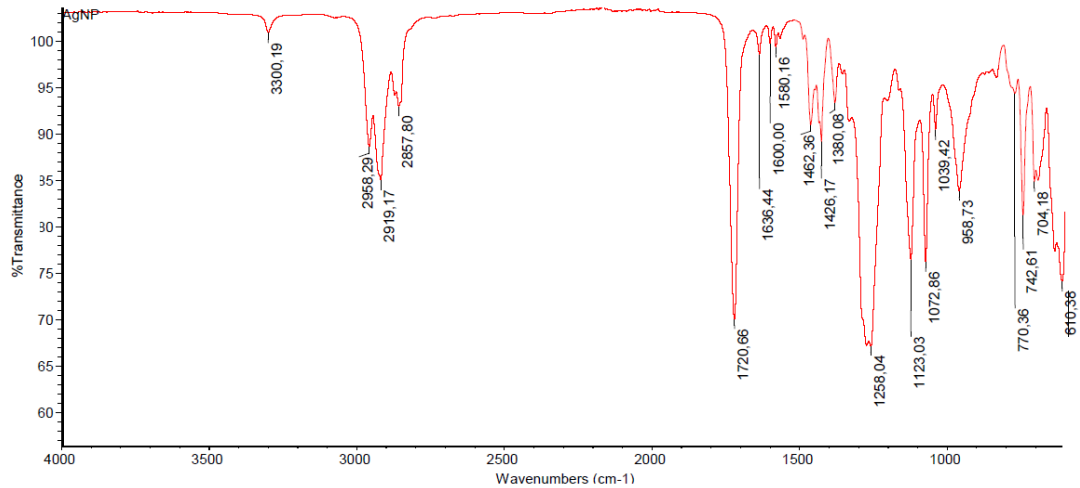
Hem aşılama (grafting) ile hem de elektrostatik olarak yüzeyde immobilizasyon işlemi başarı ile sonuçlanmıştır. Şekil 3.11’de PVC üzerinde aşılama işlemi ile -OH gruplarının varlığı spektrumdan görülmektedir.



Şekil 3.11. PEG immobilize PVC yüzey ATR-FTIR spektrumu.

3.2.3.2. Atmosferik Plazma Yöntemiyle Biyomalzeme Yüzeylerine AgNP İmmobilizasyonu

Yüzey pürüzlendirme işlemi sonrasında PVC biyomalzemenin yüzey özellikleri AgNP immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Plazma polimerizasyonu ile yüzeyin iyonik özellikleri değiştirilerek Şekil 3.12’de adsorpsiyon kapasitesi artırılmış PVC yüzeyler üzerine immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yüksüz Ag nanopartiküllerin yüzeye aşılınması sonrası elde edilen ATR-FT-IR spektrumu görülmektedir.



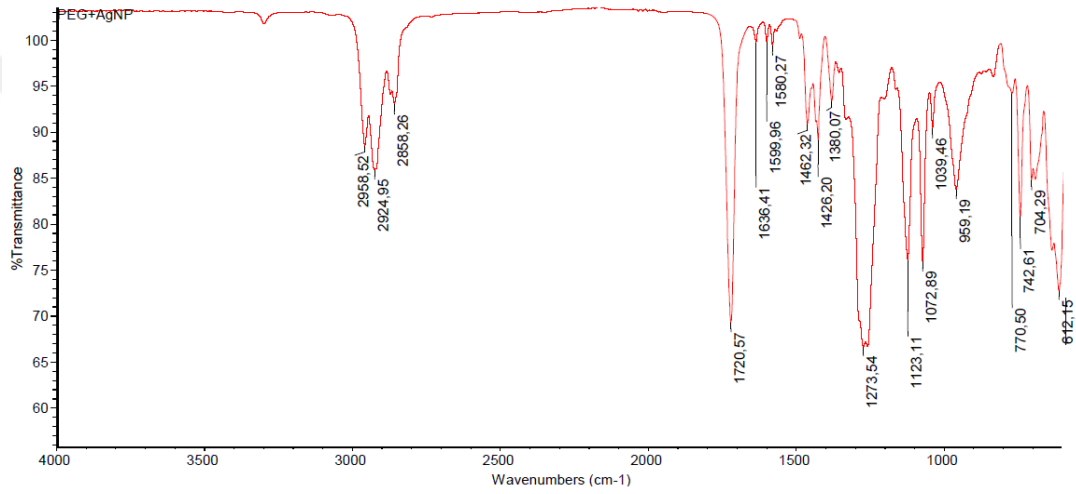
Şekil 3.12. AgNP immobilize PVC yüzey ATR-FT-IR.

PVC Biyomalzeme yüzeylerinden adsorpsiyon ile elde edilen ATR-FT-IR spektrumunda 3302 cm^{-1} ’de -OH titreşim pikinin transmittans değeri %93 civarında

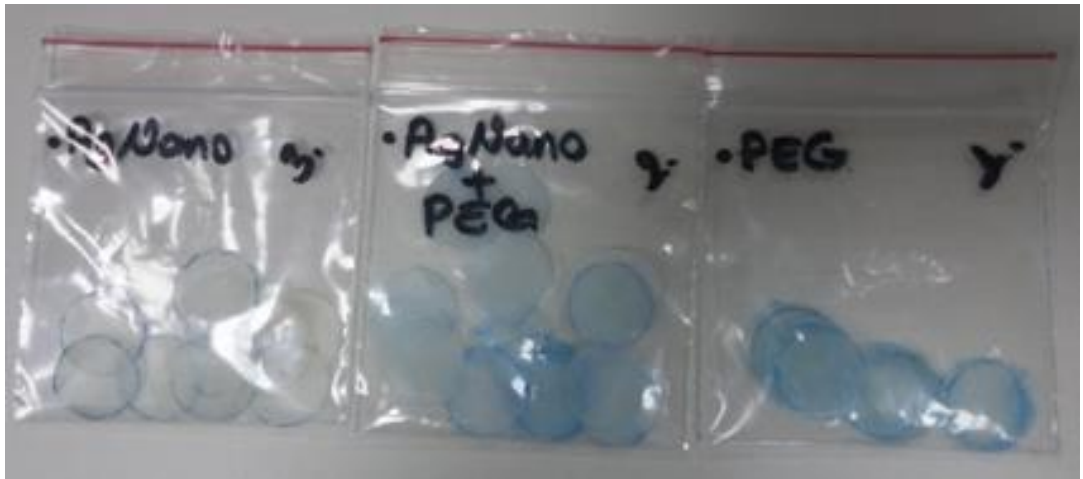
iken, plazma polimerizasyonu uygulandıktan sonra transmittans değerinin %100 civarında olduğu görülmektedir. Transmittans değerinin yüksek olması immobilize edilen molekülerin kararlılığının yüksek olduğu, dolayısıyla immobilizasyonun başarılı olduğu yorumu yapılmıştır.

3.2.3.3. Atmosferik plazma yöntemiyle PEG kaplı biyomalzeme yüzeylerine AgNP immobilizasyonu

Yüzey pürüzlendirme işlemi sonrasında kan ile temas halinde olan biyomalzemenin yüzey özellikleri PEG + AgNP immobilizasyonu yapılarak modifiye edilmiştir.



Şekil 3.13. PEG+AgNP immobilize PVC yüzey ATR-FT-IR



Şekil 3.14. Antimikrobiyal aktivite denemeleri öncesi modifiye biyomalzemeler.

3.2.4. PVC biyomalzemelerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

3.2.4.1. PVC biyomalzemelerin adsorpsiyon işlemi sonrası antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

AgNP, PEG ve PEG+AgNP adsorpsiyon işlemleri sonrası polimer esaslı PVC biyomalzemelerin hastane enfeksiyonu yapan bakteri ve fungus üzerindeki dirençlerinin belirlenmesi amacıyla disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite tayinleri yapılmıştır. Biyomalzeme örnekleri 10 mm çapında olacak şekilde kesilerek işleme alınmıştır.

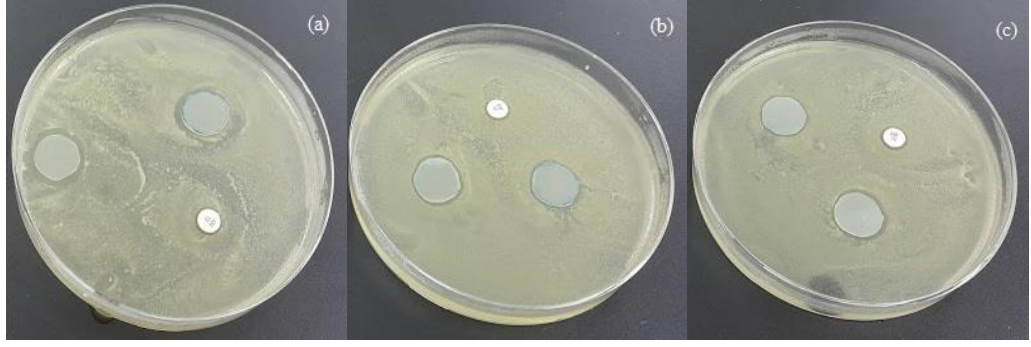
Çizelge 3.1. Adsorpsiyon yöntemi ile üç farklı yüzey özelliği kazandırılan PVC biyomalzeme yüzeylerinin antimikrobiyal aktiviteleri.

Mikroorganizmalar	İnhibisyon Zon çapları (mm)			
	İşlem görmemiş PVC Yüzeyler	PEG	AgNP	PEG+AgNP
<i>E. coli</i>	8	13.5	18.5	14.0
<i>K. pneumoniae</i>	10	12.0	12.0	13.0
<i>P. aeruginosa</i>	10	17.0	14.5	15.0
Met Dirençli <i>S.aureus</i>	8	10.0	10.0	10.0
<i>S.aureus</i>	8	10.0	13.5	14.0
<i>C. albicans</i>	10	8.0	6.5	14.5

10 mm olarak ölçülen değerler örneklerin altında kalan alandır ve bu alanda MO üremesi yoktur. Bu değerın altında olan ölçümler için “yetersiz” yaklaşımı yapılarak genel anlamda Adsorpsiyon yöntemi ile üç farklı yüzey özelliği kazandırılan PVC yüzeylerde antimikrobiyal etkinlik % 89 oranında şeklinde yorumlanmıştır. Bu oran nazokomial hastane mikroorganizmaları ele alındığında yetersiz kalmaktadır.

$$2 \text{ yetersiz} / 18 \text{ toplam deney} = 0,11; 100-11 = \% 89$$

E. coli ile yapılan antimikroyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 3.15’de verilmiştir. *E. coli* hızlı bir şekilde üreme performansı gösteren Gram-negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şekilli koliform bir bakteridir, AgNP varlığında 18.5 mm ile tüm çalışmadaki en büyük inhibisyon zonunun elde edilmiş olması ile en anlamlı antimikrobiyal aktiviteye ulaşılmıştır.



Şekil 3.15. *E. coli* ile antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.

PEG adsorbe ortamda 13.5 mm ve PEG+AgNP adsorbe ortamdaki 14.0 mm inhibisyon zonları, *E.coli*'nin PEG'e duyarlılığının AgNP'ye oranla daha az olduğunu göstermektedir.

Fakültatif anaerob bakteri olan *E.coli*, bakteristatik etmenlere yani PEG varlığına direnç göstererek üremeye devam edecektir. Bu nedenle bakteriosidal bir etki gösteren AgNP adsorbe yüzeyde oluşturduğu inhibisyon çapı en fazladır. Belli bir yüzey üzerinde örneğin çalışmakta olduğumuz medikal özellikli PVC yüzeyde sidal etki gösteremeyen her kimyasal üremesini sağlayacaktır. İnhibisyon zonları arasındaki fark *E.coli*'nin sidal etkiye, AgNP varlığına daha duyarlı olduğunu kanıtlamıştır.

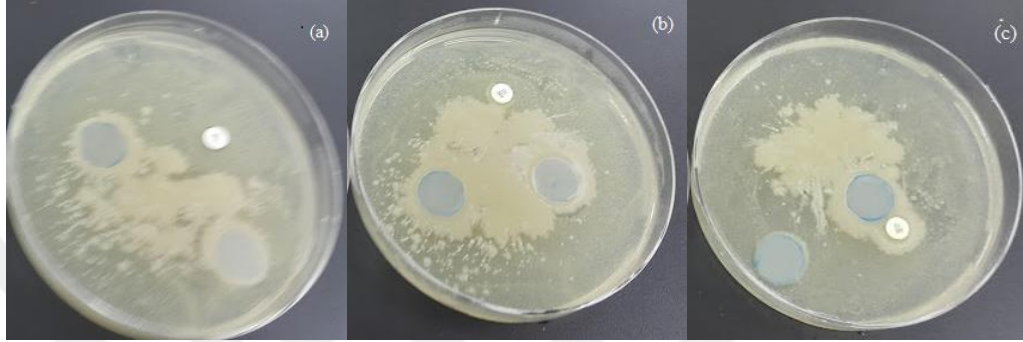
Klebsiella pneumoniae Gram negatif, hareketsiz, kapsüllü, fermentasyon yapabilen bir bakteri türüdür.

PEG adsorbe ortamda 12.0 mm, AgNP adsorbe ortamda 12.0 mm ve PEG+AgNP ardışık adsorbe ortamda 13.0 mm inhibisyon zon değerleri, bu bakteri için şaşırtıcı değildir. ***Klebsiella pneumoniae*** ile yapılan antimikrobiyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 3.16'da verilmiştir.

Standart koşullar altında PEG+AgNP ile işlem görmüş yüzeylerde etkinliğin PEG ve AgNP ile işlem görmüş yüzeylere göre daha yüksek olmasını beklemek normaldir. Burada hem bakteristatik hem de bakteriosidal etki bir arada bulunmaktadır. Kendiliğinden hareket edemeyen bir mikroorganizmanın gümüş iyonlarından kaçamayacağı açıktır.

Ayrıca yüzeyde PEG varlığı da üremeyi engelleyici bir bariyer oluşturduğu için, gümüş iyonları ile de birleşerek kapsül içerisindeki fermantasyonu engellemektedir.

Bu sayede inhibisyon çaplarında kapsüllü yapıdan kaynaklandığı tahmin edilen 2 ila 3 mm'lik yaklaşımlar görülmektedir. *E.coli*'deki gibi 18 mm ya da *P. aeruginosa*'da görülen 17 mm inhibisyon zon değerlerini kapsül içerisinde ve hareketsiz yapıya sahip oluşu nedeniyle görülemediği şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 3.16. *K. pneumoniae* ile antimikrobiyal analiz sonuçları.

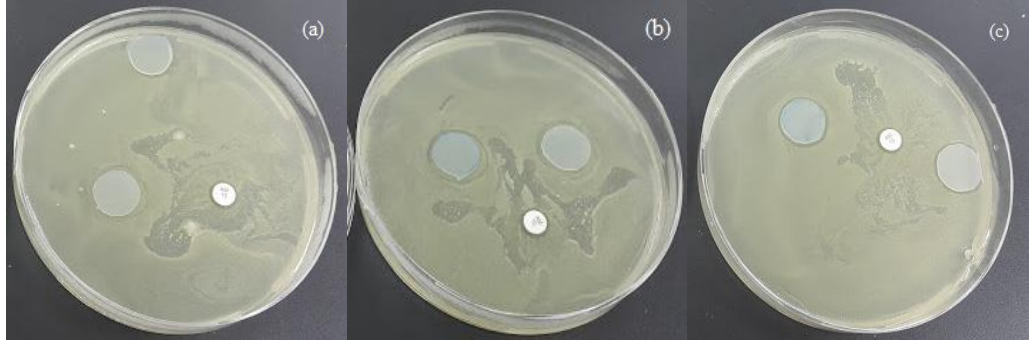
(a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.

P. aeruginosa +4°C'de gelişebilen, Gram negatif, çubuk sitrat-katalaz ve oksidaz pozitif bir bakteri olup, PEG adsorbe ortamında 17.0 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur.

P. aeruginosa PEG üzerine AgNP adsorplandırılmış ortamda 15 mm inhibisyon zonu ile 5 mm'ye kadar yaklaşabilmiş ve AgNP varlığında 14.5 mm inhibisyon zonu ile 4.5 mm yaklaşabilmiştir. Bu değerler *P. aeruginosa*'nın *E. coli*'nin aksine AgNP'ye duyarlılığının PEG'e göre daha az olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

P. aeruginosa ile yapılan antimikrobiyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 3.17'de verilmiştir.

P. aeruginosa biyofilm oluşturmak isteyen bir üreme stiline sahip olduğu için bakteristatik yöntemin daha etkin olduğu düşünülmektedir. Bu bakteri sitrat, katalaz ve oksidaz pozitif olması itibarıyla toprak, hava ve su bulunan ortamlarda yaşama kabiliyetini arttırmıştır. Bu nedenle statik etkiye daha hassas bir hale gelmiştir. İnhibisyon zonları da bu yorumu doğrular niteliktedir.



Şekil 3.17. *P. aeruginosa* ile antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.

S.aureus Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz bakterilerdir. PEG adsorbe ortamda 10.0 mm, AgNP adsorbe ortamda 13,5 mm ve PEG+AgNP adsorbe ortamda 14.0 mm inhibisyon zon değerleri toksin üretme kabiliyeti olan bu suşun bakteriostatik etmenler karşısında duyarsızlığını kanıtlar niteliktedir.

Yüzeyde PEG varlığı stabilizatör etki sağladığı için bakterinin sidal etkiye ihtiyacı olduğu tablodan da saptanmıştır. Bakterinin hareketsiz oluşu inhibisyon çapı değerlerini 17.0 mm'lere ulaşmasını engellemiştir. Gümüşün solunum mekanizmasına verdiği hasar sayesinde AgNP varlığında 13,5 mm ve PEG+AgNP varlığında 14.0 mm inhibisyon zon değerleri rahatlıkla ölçülebilmektedir.

S.aureus ile yapılan antimikroyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 3.18'de verilmiştir.



Şekil 3.18. *S. aureus* ile antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.

Gram pozitif hücre duvarı bakterinin savunma gücünü arttırmaktadır. Gram pozitif bakterilerde mevcut olan oldukça kalın hücre duvarları sayesinde birçok bakteriostatik ajana karşı direnç gösterebilmelerini sağlamaktadır. Hücre duvarında bulunan

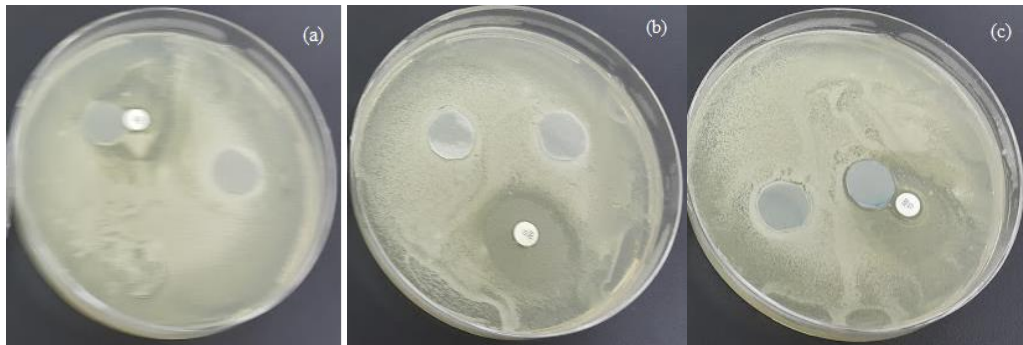
polisakkaritler molekül ağırlığı gümüş iyonlarına göre oldukça yüksek olan polietilen glikolün, çeperlerden içeri nüfuz etmesini engellemektedir. Bu nedenle kalın hücre duvarının tahribatı 23 nm seviyelerine kadar indirgenmiş nanopartiküller sayesinde sağlanmıştır.

Tüm bu açıklamalar yeşil sentez ile elde ettiğimiz gümüş nanopartiküllerin neden tek başına yüzeye adsorplandırıldığını ve niçin polietilen glikol üzerine adsorplandırıldığını kanıtlar niteliktedir. *S.aureus* türleri için adsorpsiyon yönteminde PEG varlığı yeterli olmamaktadır.

Metisilin Dirençli *S. aureus* oksasiline dirençli olup olmadığına göre sınıflandırılır. Oksalisine dirençli ise Metisilin dirençli *S. aureus* adını alır. Yatay gen transferi ve doğal seleksiyon ile beta-laktam antibiyotiklere çoklu ilaç direnci yoluyla gelişen *S. aureus* suşudur. B-laktam antibiyotikler, penisilin ve oksasilin gibi penisilin türevleri ve sefalosporinler gibi keferleri içeren geniş bir spektrum grubuna karşı dirençlidir.

Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz olan bu bakterinin PEG adsorbe ortamda 10.0 mm, AgNP adsorbe ortamda 10.0 mm ve PEG+AgNP adsorbe ortamda 10.0 mm inhibisyon zon değerleri işlemler arasında bir farkın olmadığını göstermektedir.

Metisilin Dirençli *S. aureus* ile yapılan antimikroyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 3.19’da verilmiştir.



Şekil 3.19. Metisilin Dirençli *S. aureus* ile antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.

Bu mikroorganizma gerek gram pozitif hücre duvarının vermiş olduğu PEG’e karşı duyarsızlığı, gerekse antibiyotiklere karşı bile mücadelede oldukça başarılı oluşundan kaynaklı AgNP’ye olan duyarsızlığını açıklamaktadır.

Mikroorganizma işlem görmüş yüzeyin hemen yakınına kadar üreme kabiliyeti göstermiş olup, inhibisyon zonu oluşturmayarak yapılan çalışmanın aslında antimikrobiyal yetkinliğinin olduğunu ancak bu özelliğin, örneğin kapladığı alan ile sınırlı kaldığını göstermektedir.

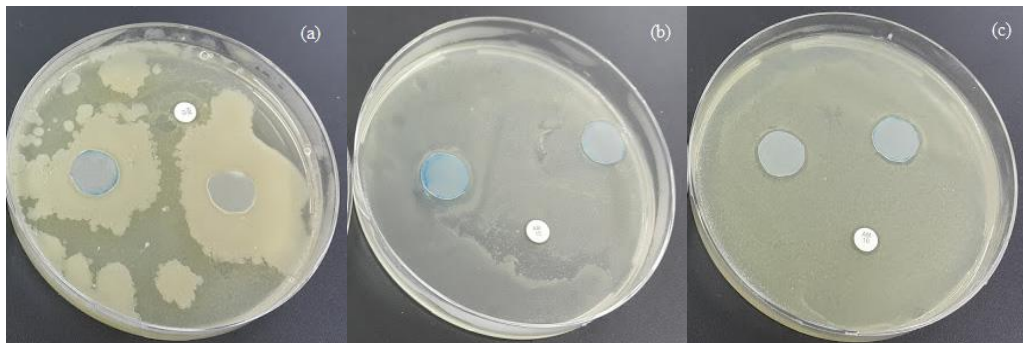
Candida albicans, eşeyli çoğalan, diploit bir fungus olup PEG adsorbe ve AgNP adsorbe yüzeylerin aksine, PEG üzerine AgNP adsorplandırılmış yüzeylerde 14.5 mm değerine ulaşmıştır.

Yapılan bu çalışmada mikroorganizmaların her biri ayrı direnç seviyelerine sahip oldukları için birini etkileyen bir işlemin diğerini etkilemediği sonucuna varılmıştır.

Candida albicans eşeyli üreme kabiliyetine sahip olduğu için inhibisyon için daha zorlu şartlara tabi tutulmalıdır. Adsorpsiyon sonrası antimikrobiyal-antifungal aktivite incelendiğinde, PEG'in durdurucu ve AgNP'nin öldürücü etkisinin bir arada olması ile antifungal bir sonuç elde edilebilmiştir.

Bunun sebebinin mikroorganizmanın üreme alışkanlıkları ile ilgili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Diploit yapının haploit yapıya göre bağışıklığı daha yüksektir. Gümüş iyonları bakteri, virüs ve funguslarda solunum sistemine zarar vererek sidal bir etki sağlamaktadır.

Hazırlanan AgNP çözeltisi içerisinde bulunan gümüşün öncelikle besiyeri ortamına ekilmiş ve yakın çevresinde bulunan *Candida albicans* funguslarını öldürdüğünü daha sonra PEG'in durdurucu etkiyi sağlayarak zon çapı oluşturduğu yorumu yapılabilmektedir.



Şekil 3.20. *C. albicans* ile antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler.

Buradaki durum antimikrobiyal aktivite açısından oldukça önem arz etmektedir. Çünkü sadece AgNP ile işlem gördükten sonra elde edilen 6,5 mm değeri fungusun solunum sistemi problemini çözebildiğini ya da tek başına gümüşün, yüzeyde ilerlemesini, konakçı olarak yaşamasını engellemediğini göstermektedir. Bu sonuç da PEG adsorbe yüzey üzerine neden gümüş iyonlarının adsorbe edildiğini açıklamaktadır. *Candida albicans* ile yapılan antimikroyal aktivite testlerinin görsel sonuçları şekil 3.20’de verilmiştir.

3.2.4.2. PVC biyomalzemelerin plazma işlemi öncesi antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

Çalışmada öncelikle kontrol amaçlı olmak üzere plazmada hiç işlem görmemiş yüzey ile antimikrobiyal aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonunda elde edilen bulgular Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Ticari olarak temin edilen Medical Grade PVC kan torbaları antimikrobiyal etkinliğe sahiptir. Tablodaki değerler antimikrobiyal etkinliğin az da olsa varlığını göstermektedir. 10 mm olarak ölçülen değerler örneklerin altında kalan alandır ve bu alanda mikroorganizma üremesi yoktur.

Çizelge 3.2. İşlem görmemiş pvc biyomalzemelerin antimikrobiyal aktivite değerleri.

Mikroorganizma Tipi	İşlem görmemiş Yüzeylerin İnhibisyon Zon çapları (mm)
<i>K. pneumoniae</i>	8
<i>P. aeruginosa</i>	10
Metisilin dirençli <i>S. aureus</i>	10
<i>S. aureus</i>	8
<i>E. coli</i>	8
<i>C. albicans</i>	10

Bu değerin altında olan ölçümler için “yetersiz” yaklaşımı yapılarak genel anlamda İşlem görmemiş PVC yüzeylerde antimikrobiyal etkinlik % 50 oranında şeklinde yorumlanmıştır. Bu oran nazokomial hastane mikroorganizmaları ele alındığında yetersiz kalmaktadır.

$$3 \text{ yetersiz} / 6 \text{ toplam deney} = 0,5; 100-50 = \% 50$$

Candida albicans eşeyli çoğalan, diploit bir fungustur. İnhibisyon çapı 10 mm ölçülmüştür. Antimikrobiyal aktivite ispatlanmıştır. Ancak inhibisyon zonu oluşturmadığı için antimikrobiyal aktivite yetersizdir.

Escherichia coli Gram-negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şekilli koliform bir bakteridir. İnhibisyon çapı değeri 8 mm ölçülmüştür. Bakteri zon çapı oluşturmamıştır. Antimikrobiyal aktivitesi yetersizdir.

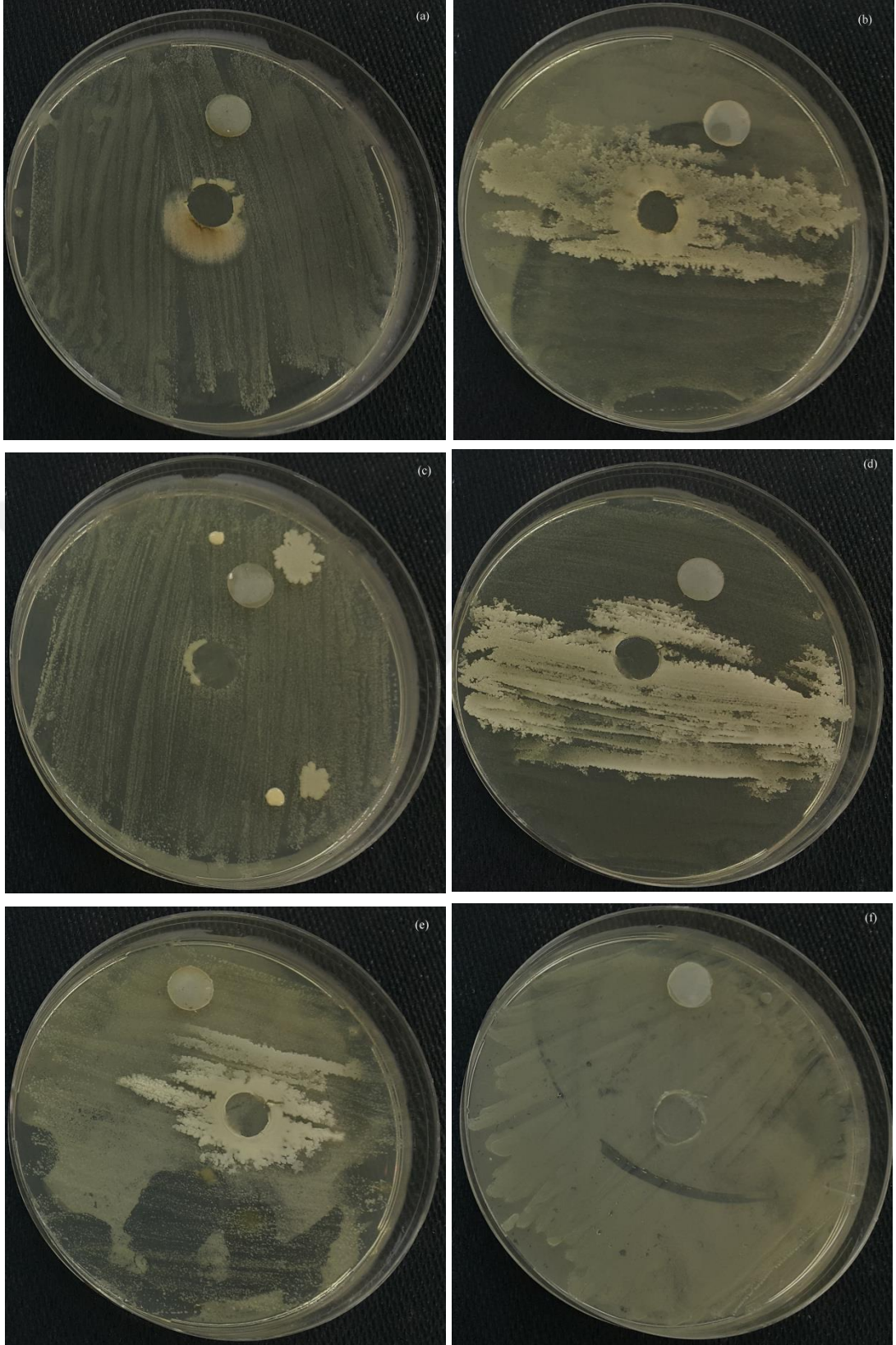
Klebsiella pneumoniae Gram negatif, hareketsiz, kapsül içerisinde, fermantasyon yapabilen bir bakteri türüdür. Hiç işlem görmemiş yüzeylerde yapılan ekim sonucunda inhibisyon çapı 8 mm ölçülmüştür. Antimikrobiyal aktivite mevcuttur ancak inhibisyon zonu oluşturma konusunda yetersizdir.

Pseudomonas aeruginosa, gram negatif, çubuk şeklinde, sitrat, katalaz ve oksidaz pozitif bir bakteridir. İnhibisyon çapı 10 mm ölçülmüştür. Mikrobiyolojik ekim sonucunda malzemenin altında üreme olmadığı ancak inhibisyon zonu oluşturacak kadar kuvvetli bir antimikrobiyal aktivitenin de olmadığı gözlenmiştir.

Çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalar ile yapılan deneylerden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 3.21’de verilmiştir.

Metisilin dirençli Staphylococcus aureus, Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz bir bakteridir. İşlem görmemiş yüzeyde 10 mm inhibisyon çapı ölçülmüştür. Bakterinin antimikrobiyal özelliğe sahip PVC yüzeyde etkinliği ispatlanmıştır. Ancak inhibisyon zonu oluşturmadığı için antimikrobiyal aktivitesi zayıftır.

Staphylococcus aureus Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz bakterilerdir. İnhibisyon çapı 8 mm ölçülmüştür. Zon oluşturmamıştır. Bu nedenle antimikrobiyal aktivitesi yetersizdir.



Şekil 3.21. İşlem görmemiş PVC biyomalzemelerin antimikrobiyal analiz sonuçları.
(a) *C.albicans*; (b) *E. Coli*; (c) *K. pneumoniae*; (d) *P. aeruginosa*; (e) Metisilin dirençli *S. aureus*;
(f) *S. aureus*.

3.2.4.3. PVC biyomalzemelerin sadece plazma işlemi sonrası antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

Çalışmada yine kontrol amaçlı olmak üzere sadece plazmada işlem görmüş yüzeyler ile antimikrobiyal aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonunda elde edilen bulgular Çizelge 3.3’de verilmektedir.

PVC biyomalzemelerin sadece plazma işlemi sonrasında da antimikrobiyal etkinliğe sahiptir. Tablodaki değerler antimikrobiyal etkinliğin varlığını göstermektedir.

10 mm olarak ölçülen değerler örneklerin altında kalan alandır ve bu alanda MO üremesi görülmemiştir. Bu değerın altında olan ölçümler için yine “yetersiz” yaklaşımı yapılarak genel anlamda sadece plazma işlemi görmüş PVC biyomalzeme yüzeylerde antimikrobiyal etkinlik % 70 oranındadır şeklinde yorumlanmıştır.

$$16 \text{ yetersiz} / 54 \text{ toplam deney} = 0,2963; 100-30 = \% 70$$

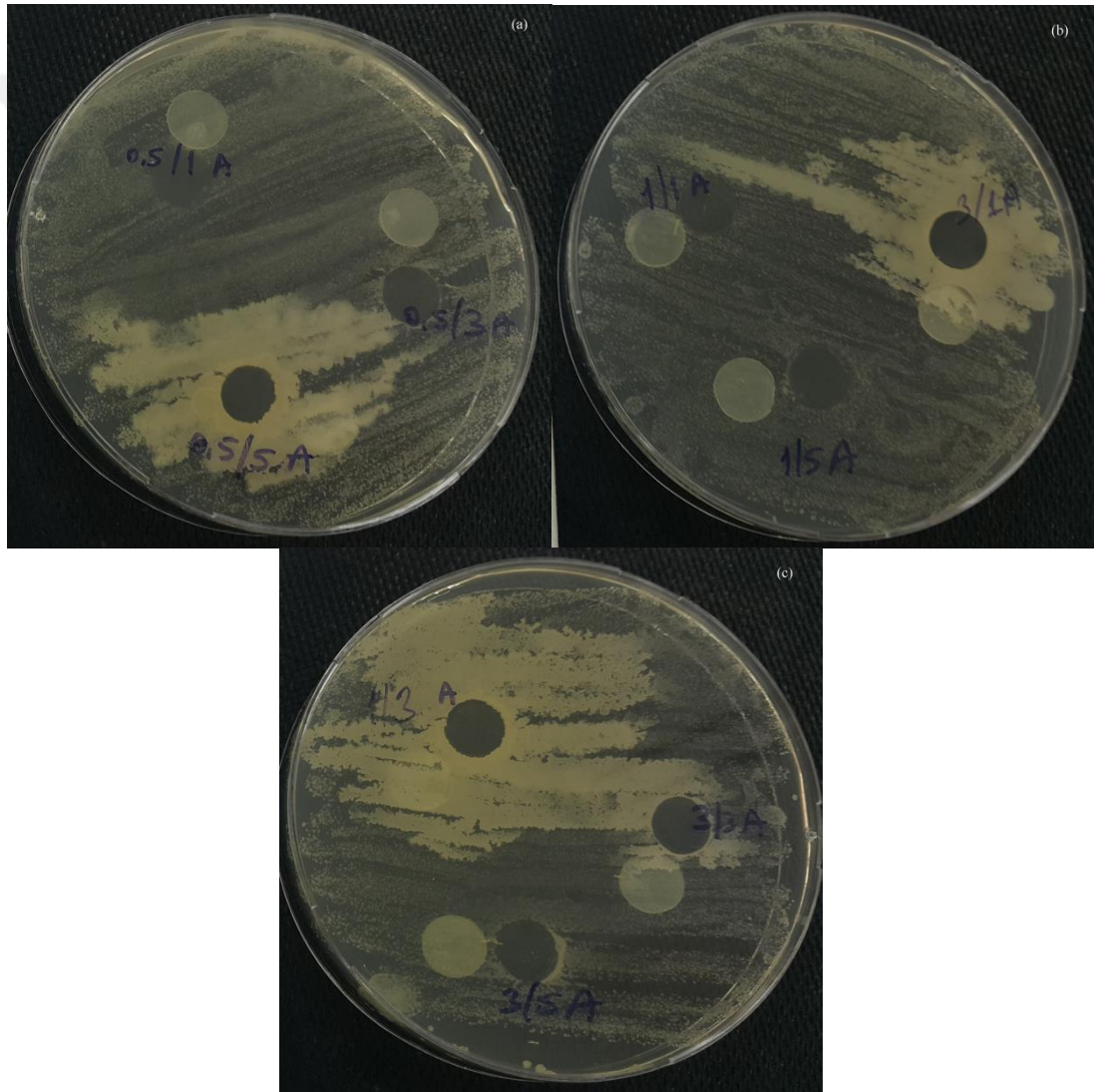
Bu oran nazokomial hastane mikroorganizmaları ele alındığında yeterli bulunmuştur. Bu veriler plazma ile yapılan işlemin antimikrobiyal aktiviteyi bir basamak da olsa ileri taşıdığını göstermektedir. Bu sonuçlar elektriksel boşalım yönteminin antimikrobiyal etkiyi arttırdığı şeklinde yorumlanmıştır.

Çizelge 3.3. PVC Biyomalzemelerin plazma işlemi sonrası antimikrobiyal aktivite değerleri.

Mikroorganizma Tipi	Süre (Dakika)	Plazma işlemi sonrası oluşan inhibisyon zon çapları (mm)			
		Güç (A)	1	3	5
<i>K. pneumoniae</i>	0,5		10	10	10
	1		10	10	10
	3		10	10	10
<i>P. aeruginosa</i>	0,5		10	10	10
	1		7	8	7
	3		4	8	10
Metisilin dirençli <i>S. aureus</i>	0,5		10	7	10
	1		7	5	8
	3		3	7	4
<i>S. aureus</i>	0,5		10	10	10
	1		6	10	5
	3		10	6	10
<i>E.coli</i>	0,5		10	10	10
	1		10	10	10
	3		10	8	10
<i>C.albicans</i>	0,5		9	10	10
	1		10	10	9
	3		10	10	10

C. albicans eşeyli çoğalan, diploit bir fungustur. Hiç işlem görmemiş yüzeylerde 10 mm inhibisyon çapı veren *C. albicans*, 0,5 dakika 1 amper ve 1 dakika 5 amper uygulamsında 9 mm, diğer uygulamalarda 10 mm inhibisyon çapı değeri vermiştir. Antimikrobiyal aktivite oransal olarak artış göstermiştir. Yine bu mikroorganizmada da inhibisyon zonu elde edilemediği için immobilizasyon basamağına geçilmiştir.

Çalışmada kullanılan *C. albicans* mikroorganizmaları ile yapılan deneylerden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 3.22’de verilmektedir.

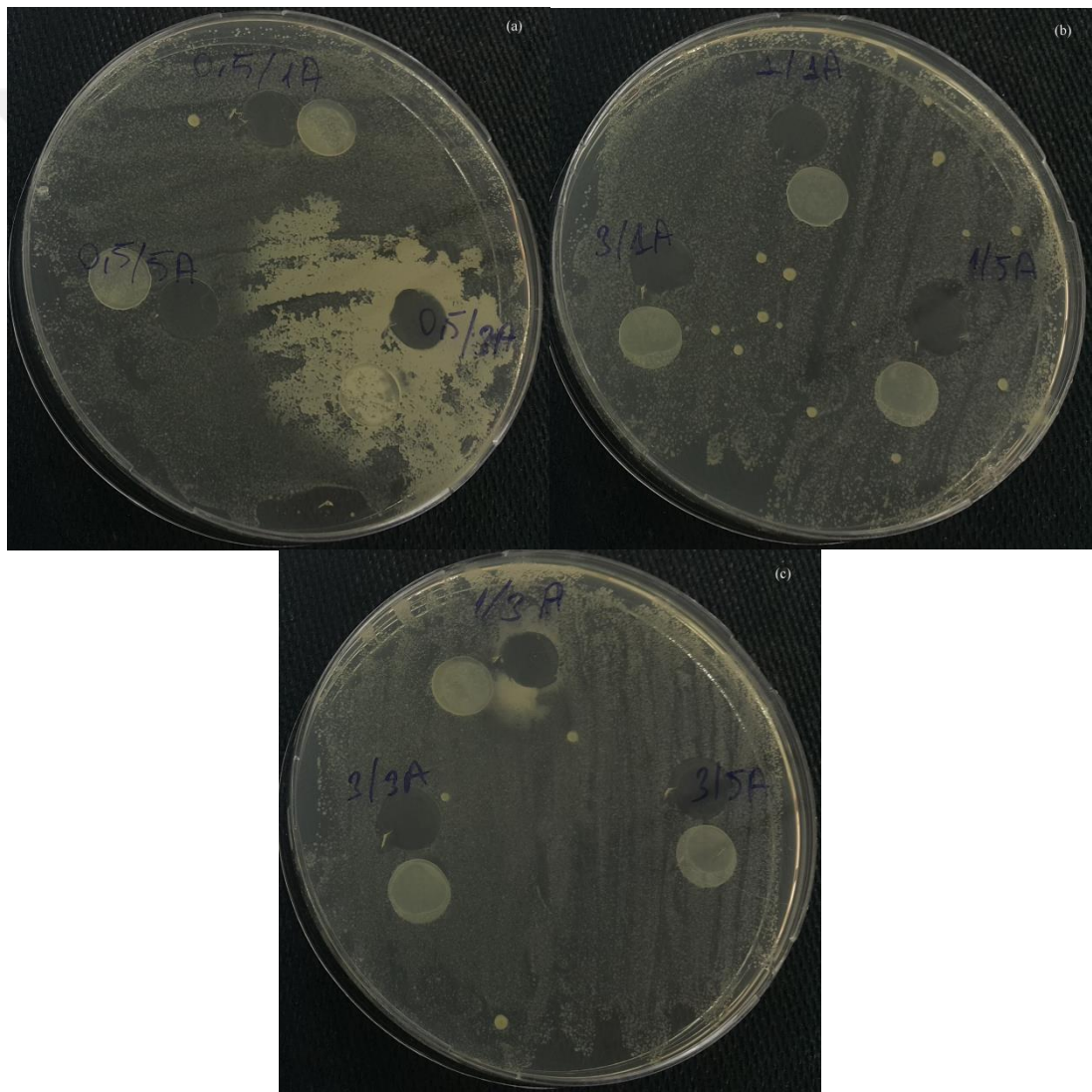


Şekil 3.22. *C. albicans* ile Plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika

E. coli Gram-negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şekilli koliform bir bakteridir. Hiç işlem görmemiş yüzeylerde 8 mm inhibisyon çapı ölçülen *E.coli*, 3 dakika 3 amper uygulamalarında 8 mm, diğer uygulamalarda ise 10 mm inhibisyon çapı değeri vermiştir. Antimikrobiyal etkinlik arttırılmasına rağmen inhibisyon zonu oluşturmadığı için antimikrobiyal aktivitenin daha da arttırılabilmesi için immobilizasyon işlemlerine geçilmiştir.

Çalışmada kullanılan *E. coli* mikroorganizmaları ile yapılan deneylerden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 3.23’de verilmektedir.

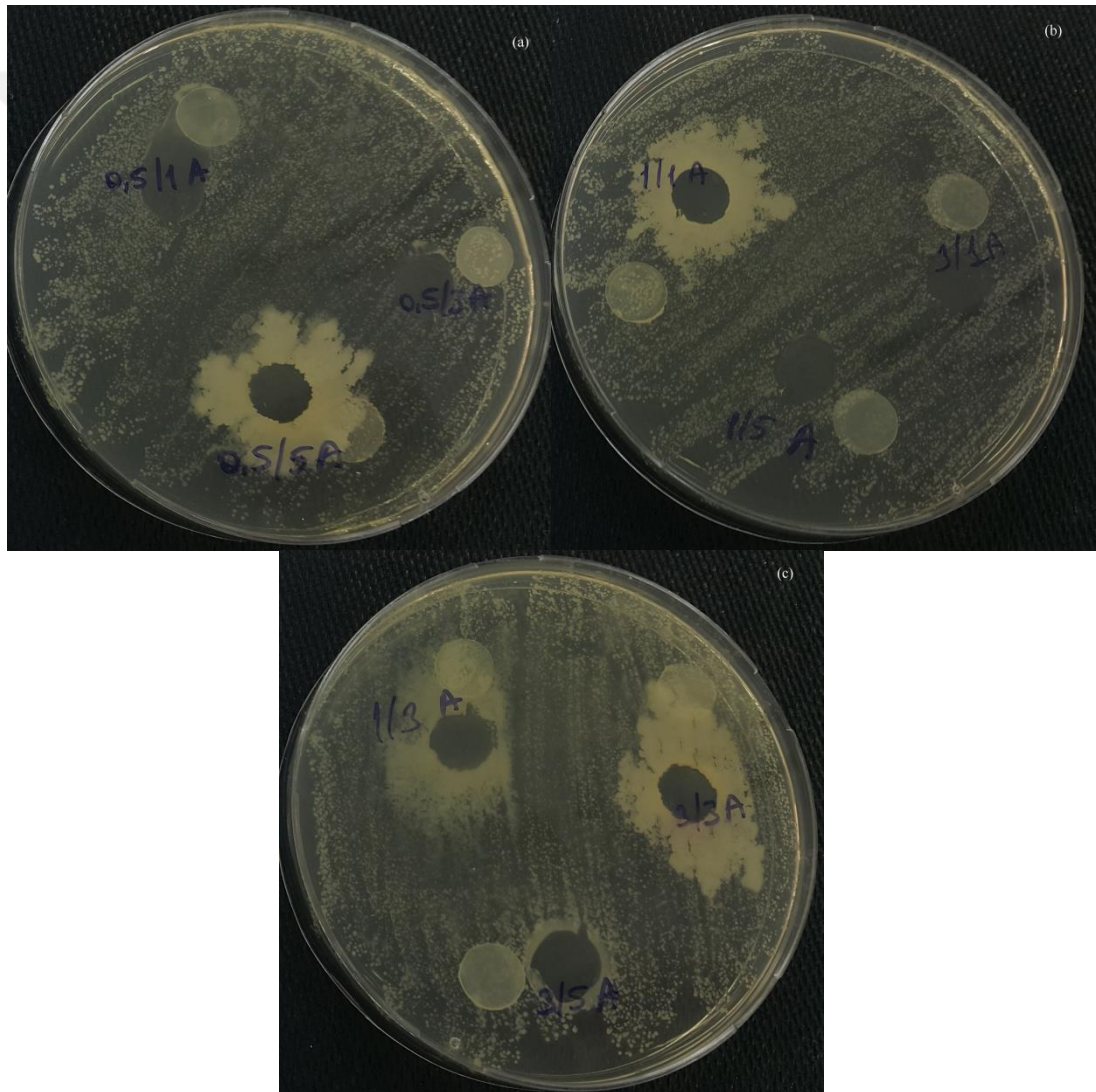


Şekil 3.23. *E. coli* ile plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.

K. pneumoniae Gram negatif, hareketsiz, kapsül içerisinde, fermantasyon yapabilen bir bakteri türüdür. Plazma işlemi sonrası tüm parametrelerde 10 mm inhibisyon çapı elde edilmiştir. Hiç işlem görmemiş PVC yüzeylerde elde edilen 8 mm değeri, bu mikroorganizma için antimikrobiyal etkinliğinin arttırıldığını göstermektedir. Ancak inhibisyon zonu oluşturmadığı için antimikrobiyal aktivitenin yetersiz olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle immobilizasyon işlmelerine tabi tutulmuştur.

Çalışmada kullanılan *K. pneumoniae* mikroorganizmaları ile yapılan deneylerden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 3.24’de verilmektedir.

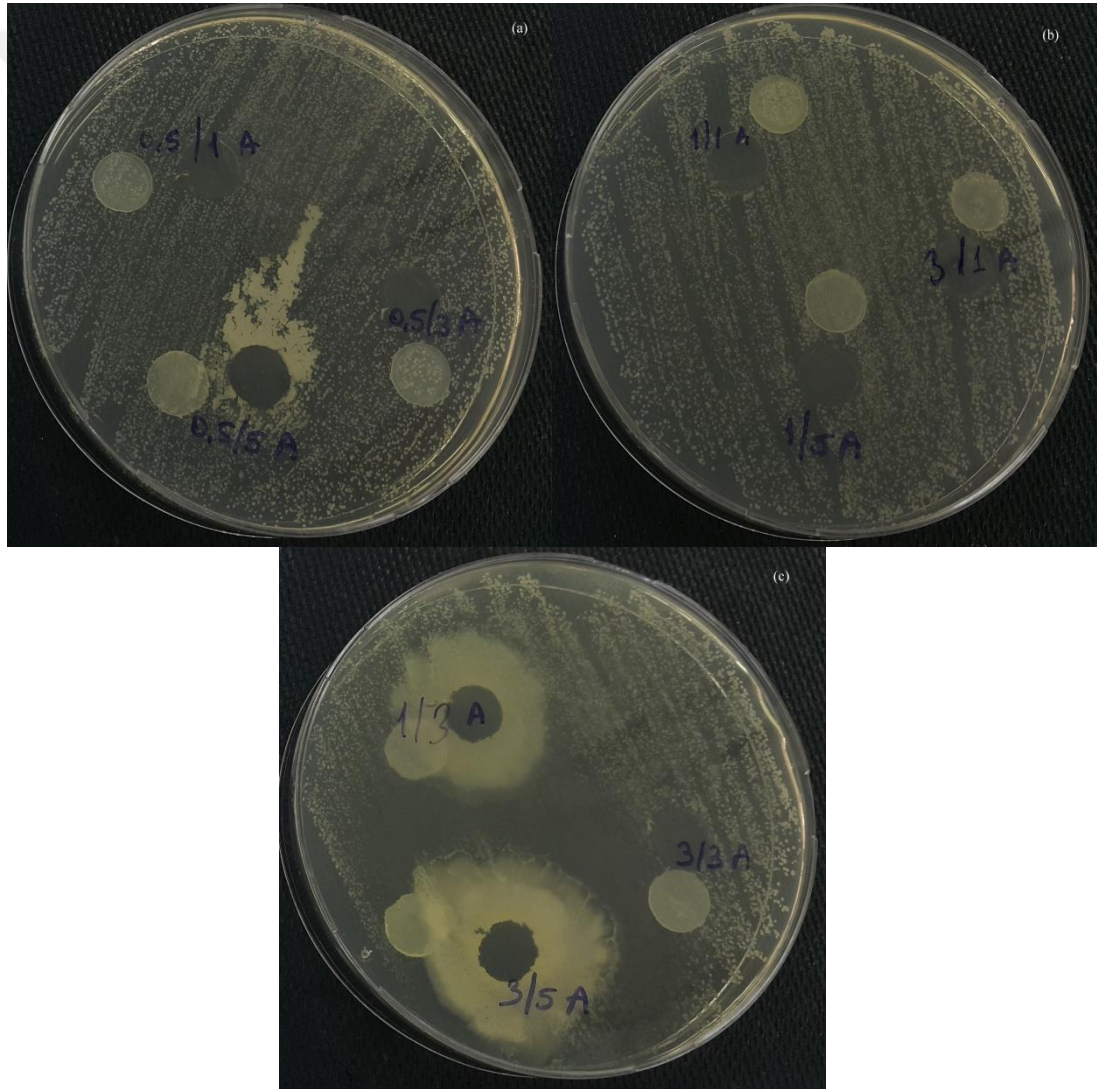


Şekil 3.24. *K. pneumoniae* ile plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.

P. aeruginosa gram negatif, çubuk şeklinde, sitrat, katalaz ve oksidaz pozitif bir bakteridir. 0,5 Dakikalık plazma polimerizasyonu işlemlerinde tüm amper değerlerinde 10 mm inhibisyon çapı ölçülürken, 1 dakikalık plazma polimerizasyonu işlemlerinde 8 ve 7 mm, 3 dakikalık işlemlerde 1 amperde 4 mm, 3 amper uygulamasında 8 mm, 5 amper uygulamasında ise 10 mm inhibisyon çapları ölçülmüştür. Bu sonuçlar ışığında *P. aeruginosa* plazma polimerizasyonu işlemlerinde optimize sonuçlar veremediği ve inhibisyon çaplarındaki düşmeler nedeniyle immobilizasyon işlemlerine ihtiyaç duyulmuştur.

P. aeruginosa mikroorganizmaları ile yapılan deneylerden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 3.25’de verilmektedir.

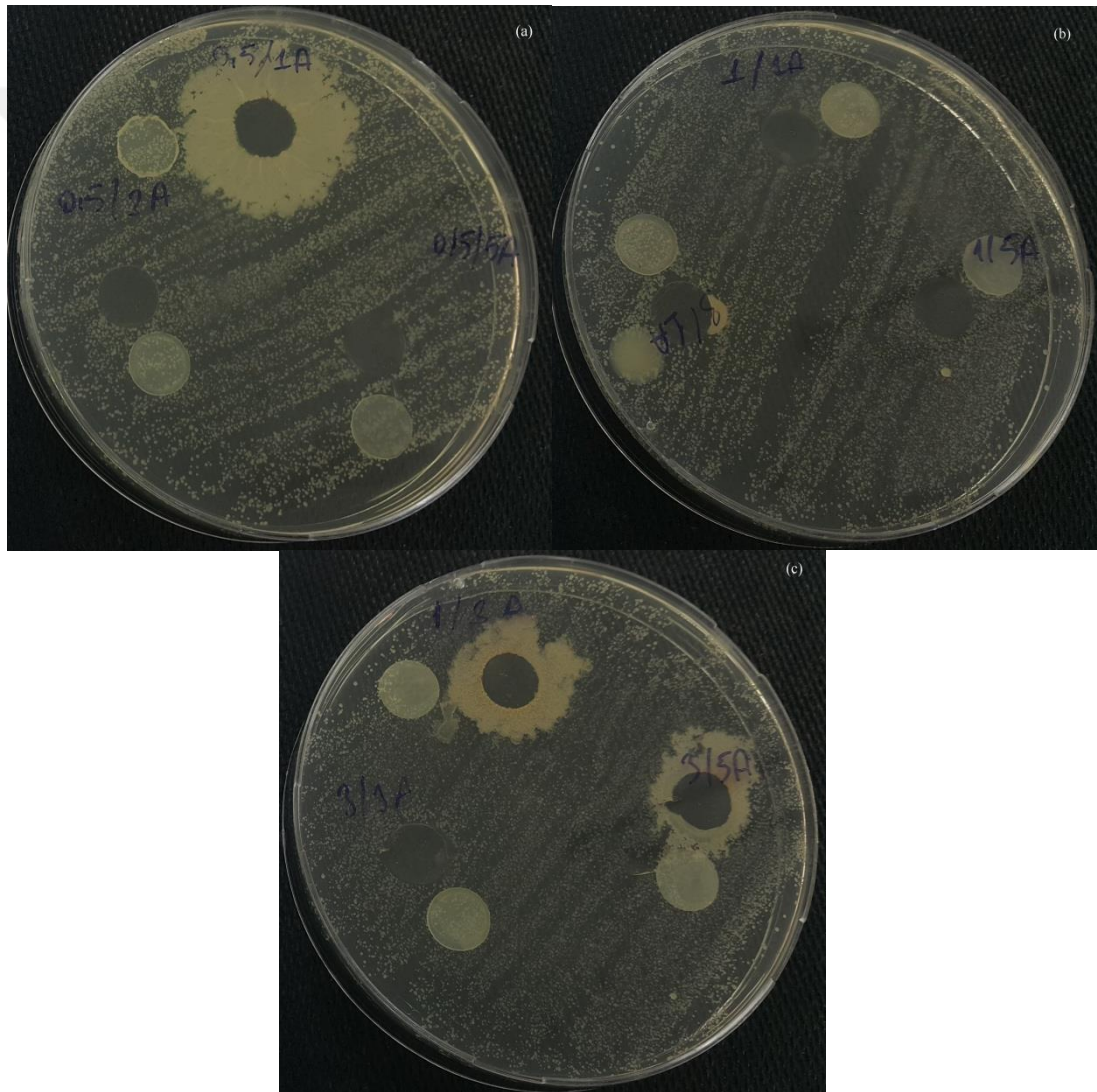


Şekil 3.25. *P. aeruginosa* ile plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.

Metisilin dirençli *S. aureus* Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz bir bakteridir. 0,5 dakika işlem süresince 1 ve 5 amper uygulamasında 10 mm inhibisyon çapı ölçülürken, diğer parametrelerde sonuçlar 7 mm ve daha aşağısındadır. Tek başına plazma polimerizasyonu işlemi belli parametrelerde oldukça yetersiz antimikrobiyal aktivite sonuçları vermiştir. Metisilin dirençli *S. Aureus* bağışıklık sistemi oldukça güçlü bir mikroorganizma olduğu için, işlemler immobilizasyon aşamasına taşınmıştır.

Metisilin dirençli *S. aureus* mikroorganizmaları ile yapılan deneylerden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 3.26’da verilmektedir.

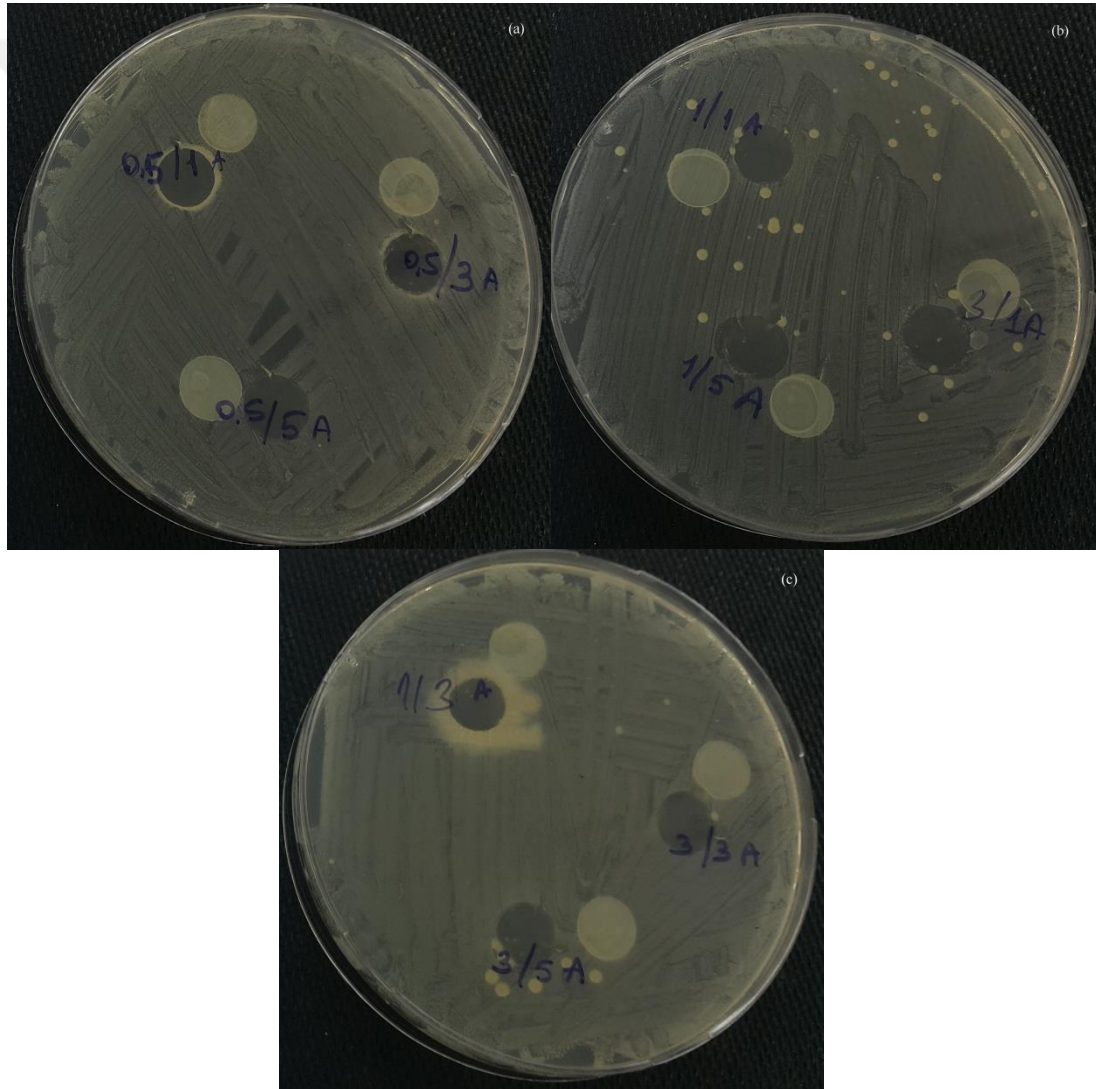


Şekil 3.26. Metisilin dirençli *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.

S. aureus Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz bakterilerdir. Hiç işlem görmemiş yüzeylerde 8 mm inhibisyon çapı ölçülen *S. aureus*, 1 dakika 1 amper ve 3 dakika 3 amper uygulamalarında 6 mm, 1 dakika 5 amper uygulamasında 5 mm, diğer uygulamalarda ise 10 mm inhibisyon çapı vermiştir. Antimikrobiyal etkinlik artırılmasına rağmen inhibisyon zonu oluşturmadığı için antimikrobiyal aktivitenin daha da artırılabilmesi için immobilizasyon işlemlerine geçilmiştir.

S. aureus mikroorganizmaları ile yapılan deneylerden elde edilen antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 3.27’de verilmektedir.



Şekil 3.27. *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası antimikrobiyal analiz sonuçları.

(a) 0,5 dakika; (b) 1 dakika; (c) 3 dakika.

3.2.4.4. PVC biyomalzemelerin plazma işlemi sonrası immobilize yüzeylerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi

Sunulan araştırma kapsamında kullanılan medikal özellikli PVC biyomalzeme yüzey özelliği kimyasal immobilizasyon işlemleri ile değiştirildiği ATR-FTIR spektrumları ile doğrulanmıştır. Yüzeyin PEG immobilizasyonu sonrası AgNP ile kaplanması PEG'in polimerik stabilizör olarak da işlev görmesine yardımcı olduğu düşünülmüştür. Kan ile temas halinde olacak bu tıbbi biyomalzemenin yüzey özellikleri PEG, AgNP ve PEG+AgNP immobilizasyonu şeklinde değiştirilip hastane enfeksiyonlarına karşı etkileri araştırılmıştır.

AgNP, PEG ve PEG+AgNP immobilizasyon işlemleri sonrası polimer esaslı PVC biyomalzemelerin hastane enfeksiyonu yapan bakteri ve maya üzerindeki dirençlerinin ortaya çıkarılması amacıyla disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite tayinleri yapılmıştır.

Çizelge 3.4. Üç farklı kimyasal özelliğe sahip PVC biyomalzemelerin antimikrobiyal aktivite değerleri.

Mikroorganizma Tipi	Süre (Dakika)	Oluşan İnhibisyon zon çapları (mm)									
		Güç (A)	PEG immobilize yüzey			AgNP immobilize yüzey			PEG+AgNP immobilize yüzey		
			1	3	5	1	3	5	1	3	5
<i>K. pneumoniae</i>	0,5		11	10	10	11	12	12	11	12	11
	1		13	11	11	12	12	12	12	12	12
	3		12	11	10	12	13	12	11	13	11
<i>P. aeruginosa</i>	0,5		12	11	6	12	14	9	13	12	11
	1		11	10	11	10	11	10	14	10	13
	3		12	11	11	11	12	12	13	13	13
Metisilin dirençli <i>S. aureus</i>	0,5		11	10	12	10	10	11	11	12	13
	1		11	10	12	11	10	12	11	14	14
	3		10	11	12	11	11	12	11	11	13
<i>S. aureus</i>	0,5		9	12	13	12	12	6	12	11	12
	1		11	12	14	11	12	5	12	10	12
	3		13	12	11	10	10	9	13	11	13
<i>E.coli</i>	0,5		12	21	12	11	12	14	12	11	11
	1		14	12	12	11	14	12	14	10	10
	3		13	11	12	12	13	12	13	11	11
<i>C.albicans</i>	0,5		10	10	7	10	11	9	11	10	10
	1		5	12	12	10	11	8	11	10	11
	3		5	6	12	11	5	11	9	10	11

10 mm olarak ölçülen değerler örneklerin altında kalan alandır ve bu alanda MO üremesi görülmemiştir. Bu değerın altında olan ölçümler için yine “yetersiz” yaklaşımı yapılarak genel anlamda sadece plazma işlemi görmüş PVC biyomalzeme yüzeylerde antimikrobiyal etkinlik % 94,5 oranındadır şeklinde yorumlanmıştır.

$$9 \text{ yetersiz} / 162 \text{ toplam deney} = 0,055; 100-5,5 = \% 94,5$$

Polimerik medikal özellikli PVC biyomalzemelerin yüzey özellikleri değiştirilerek hastane enfeksiyonu yapan maya ve bakterilerin üremelerinin durdurulması hedeflenen bu çalışmada inhibisyon zonlarının 5 ile 21 mm arasında olduğu belirlenmiştir. Biyomalzemelere uygulanan elektriksel boşalım şiddeti ve uygulama süresine göre mikroorganizmalar farklı davranış göstermişlerdir. Hastane enfeksiyonlarının durdurulabilmesi için biyomalzemenin yüzey modifikasyon türü seçimi ve uygulanan elektriksel boşalım süreleri farklılık göstermektedir.

Çizelge 3.4’den de görüldüğü gibi 1 dakika 1 amperlik PEG biyomalzemelere karşı en fazla *K. pneumoniae* 13 mm, AgNP kaplı malzemelere karşı 3 dakika 3 amperlik uygulamada en fazla 13 mm. ve PEG+AgNP birlikte kullanıldığında 3 dakika 3 amperlik uygulamada ise en fazla 13 mm. zon oluşturmuştur. Biyomalzeme yüzeylerinin her üçü de *K. pneumoniae* için antimikrobiyal özellik gösterdiğinden bu bakteri için uygun olarak yorumlanmıştır.

P. aeruginosa bakterisinin gelişimini engelleyen biyomalzeme 0.5 dakika 3 amperlik uygulama ile AgNP olmuştur. Aynı zon 1 dakika 1 amper uygulaması ile PEG+AgNP ortaklığında da görülmektedir.

Metisilin dirençli *S. aureus* PEG+AgNP kaplı malzemelere karşı 3 ve 5 amperlik uygulamalarda 14 mm, *S. aureus* PEG kaplı malzemelere karşı 1 dakika 5 amperlik uygulamalarda 14 mm, *E. coli* PEG kaplı malzemelere karşı 0.5 dakika 3 amperlik uygulamalarda 21 mm, *C. albicans* ise PEG kaplı malzemelere karşı 1 dakika 3 amper de 12 mm. çapında zon oluşturmuşlardır.

PEG+AgNP ortaklığında elde edilen sonuçlar biyomalzemelerin ayrı ayrı kullanımlarından çok farklı bulunmamıştır. Bu durum sadece 14 mm.’lik zon oluşumu ile Metisilin dirençli *S. aureus*’un PEG+AgNP biyomalzemesi ile birlikte kullanıldığında 1 dakika 3 amperlik akım uygulandığında farklılık göstermektedir.

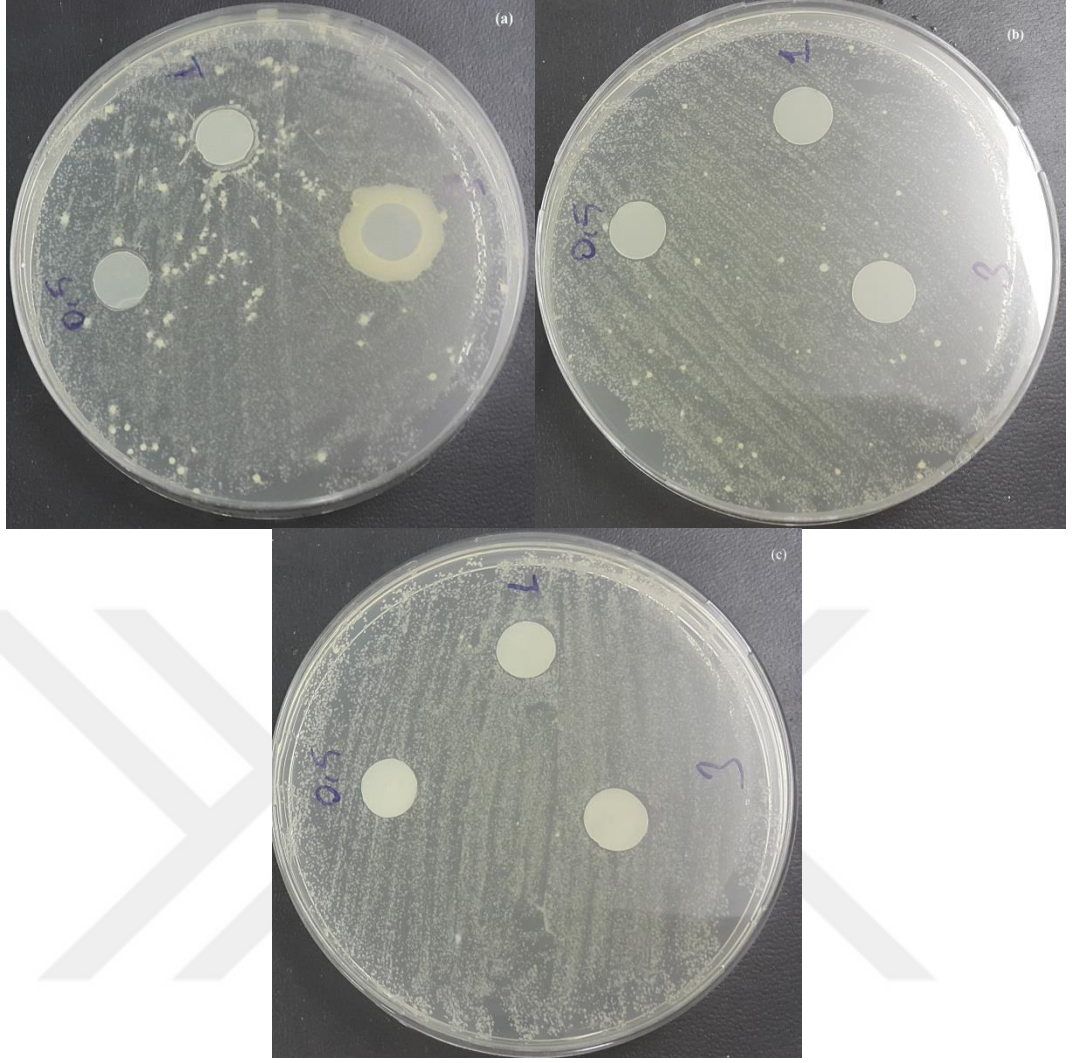
3.2.4.4.1 Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları

PEG immobilizasyon işlemleri sonrası polimer esaslı PVC biyomalzemelerin hastane enfeksiyonu yapan bakteri ve maya üzerindeki dirençlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan antimikrobiyal analiz sonuçları bu başlık altında verilmiştir.

Candida albicans, PEG immobilize yüzeyde genel anlamda başarılı sonuçlar vermiştir. En yüksek sonucunu 1 dakika 3 ve 5 amper, 3 dakika 5 amperde 12 mm zon çapı ile optimize edilmiştir. Mikroorganizma 0,5 dakika 1 ve 3 amper uygulamalarında 10.0 mm ile kararlılığını korumuş ve baskılanmıştır.

Ancak bazı örneklerde biyomalzemenin altında da üreme gözlenmiş bunlar deney hatası sınırları içinde olduğundan kontaminasyon olarak yorumlanmamıştır.

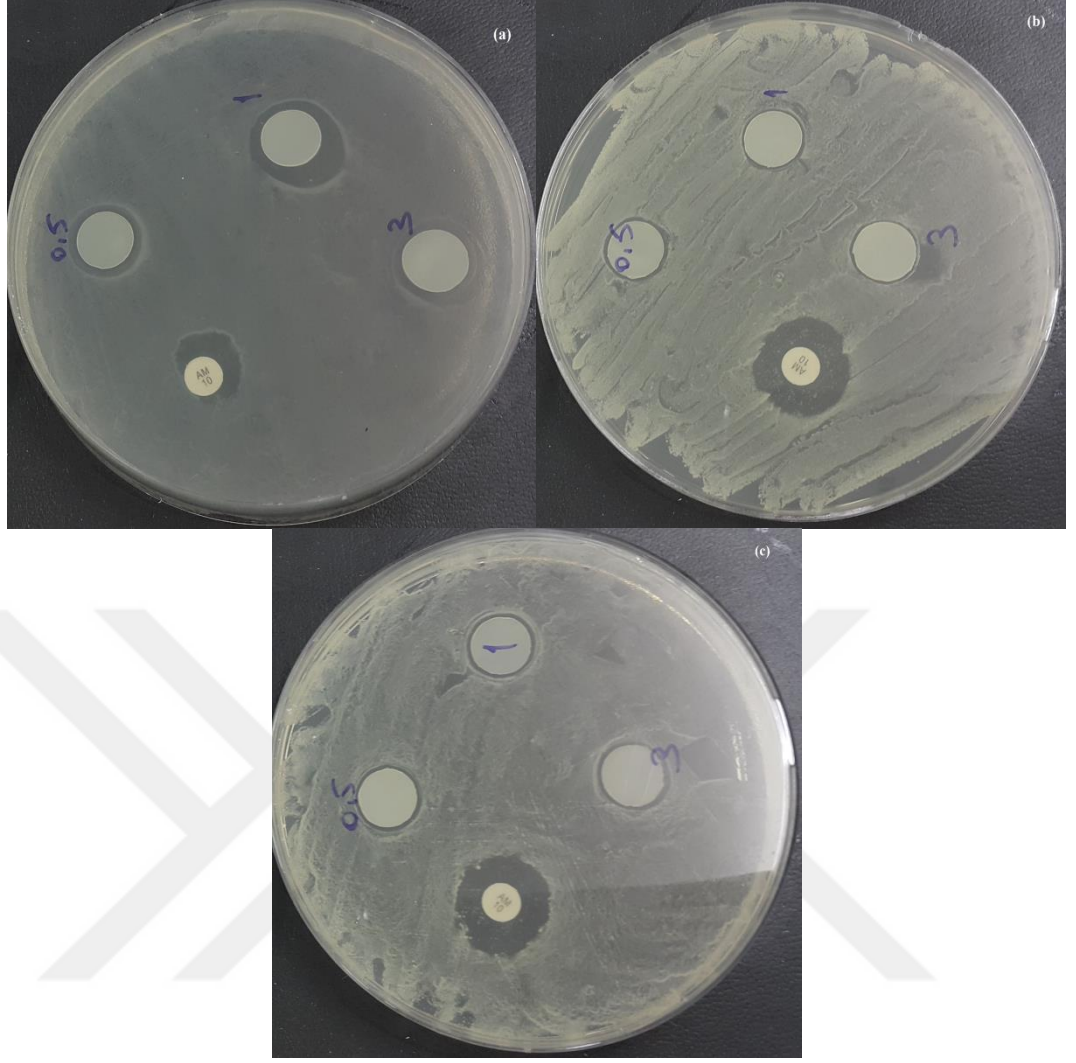
Şekil 3.28'de *C. albicans* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.28. *C. albicans* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Çalışmada PEG immobilize yüzeyde en stabil antimikrobiyal etkinliğe *E. coli* ile ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. 0,5 dakika 1 amper değerinde elde edilen 21.0 mm'lik zon çapı, ulaşılmış en yüksek çaptır. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. En düşük çap 3 dakika 3 amper ile 11.0 mm'dir.

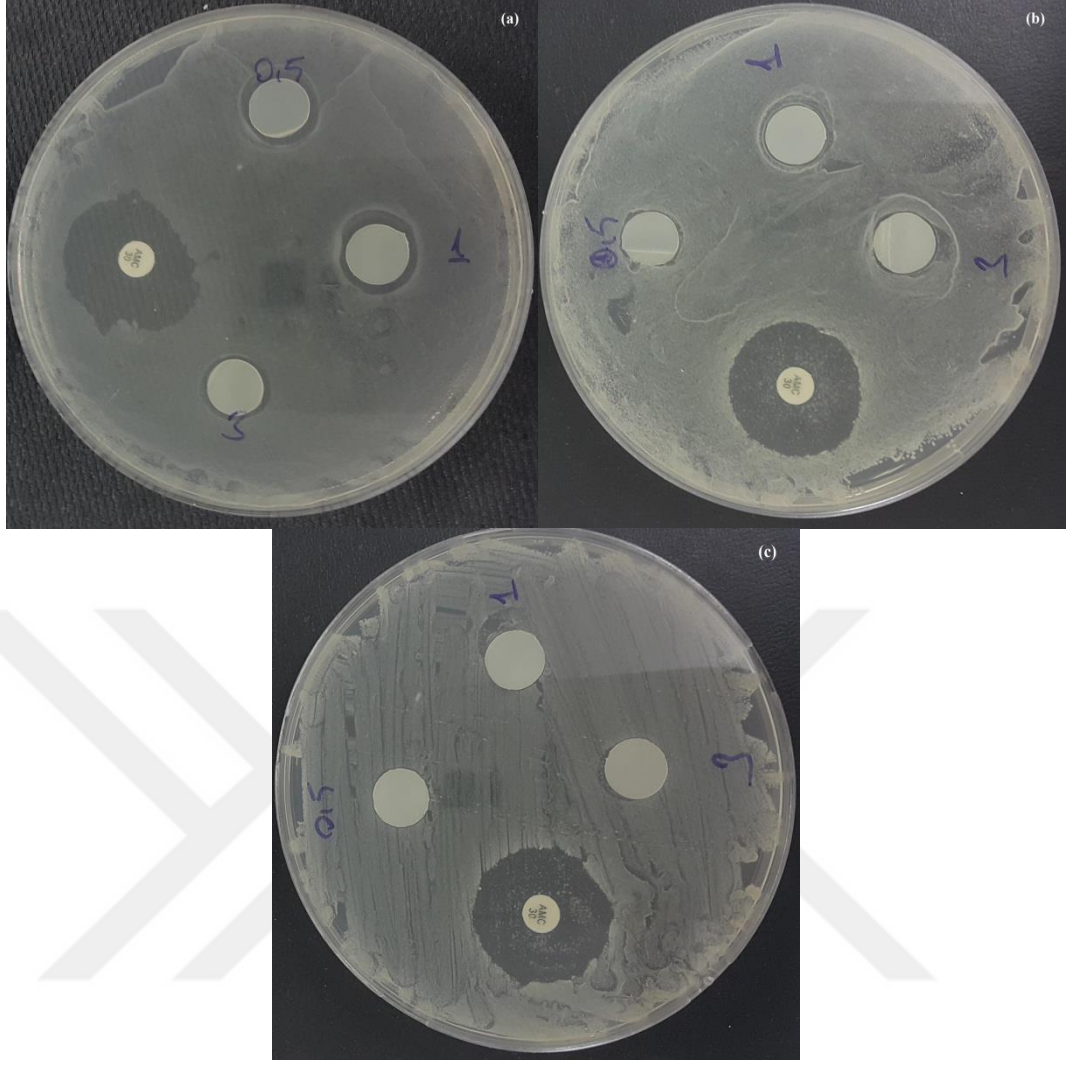
Şekil 3.29'da *E. coli* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.29. *E. coli* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırmada PEG immobilize yüzeyde *K. pneumoniae* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 13 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. En düşük çap 3 dakika 3 amper ile 11.0 mm'dir.

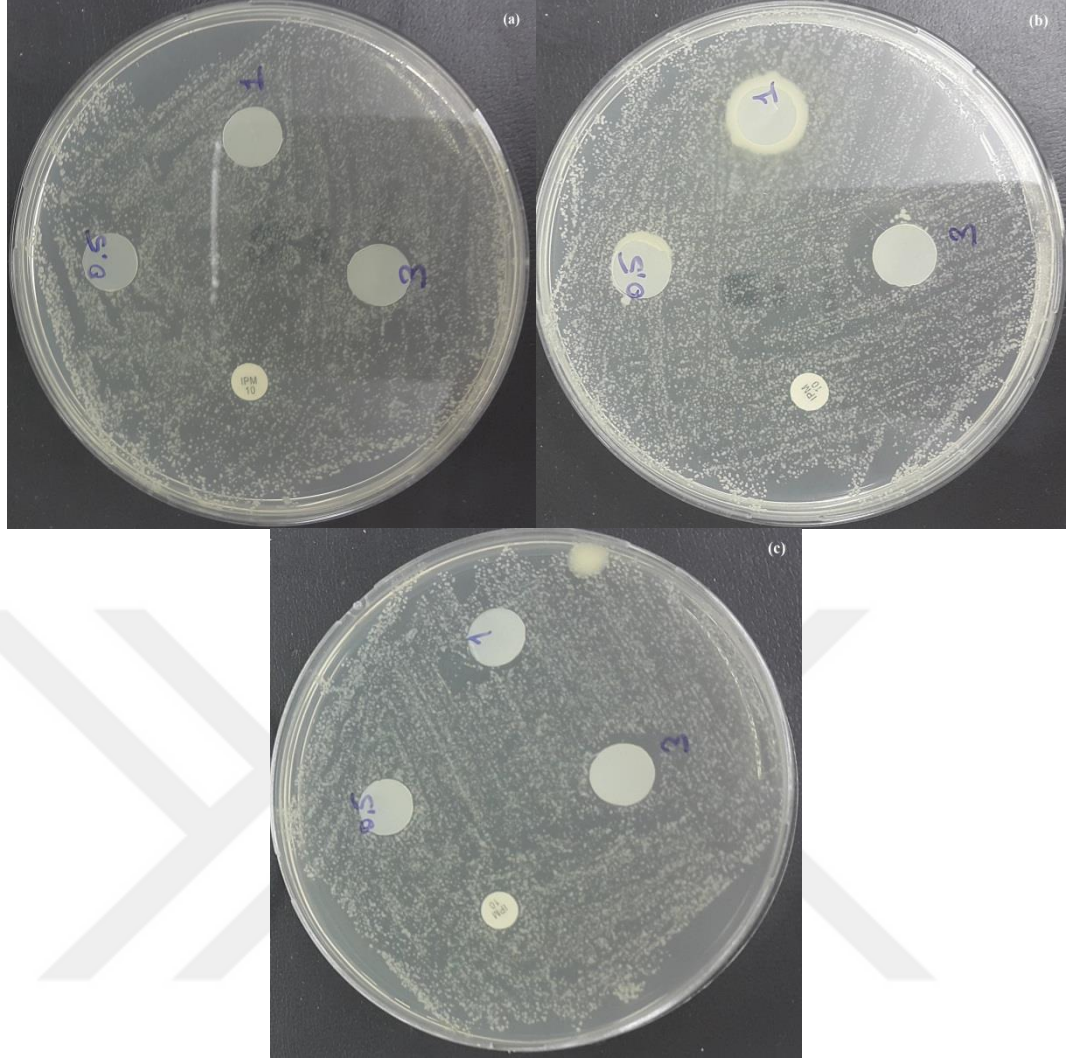
Şekil 3.30'da *K. pneumoniae* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.30. *K. pneumoniae* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Çalışma kapsamında PEG immobilize yüzeyde *P. aeruginosa* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir.

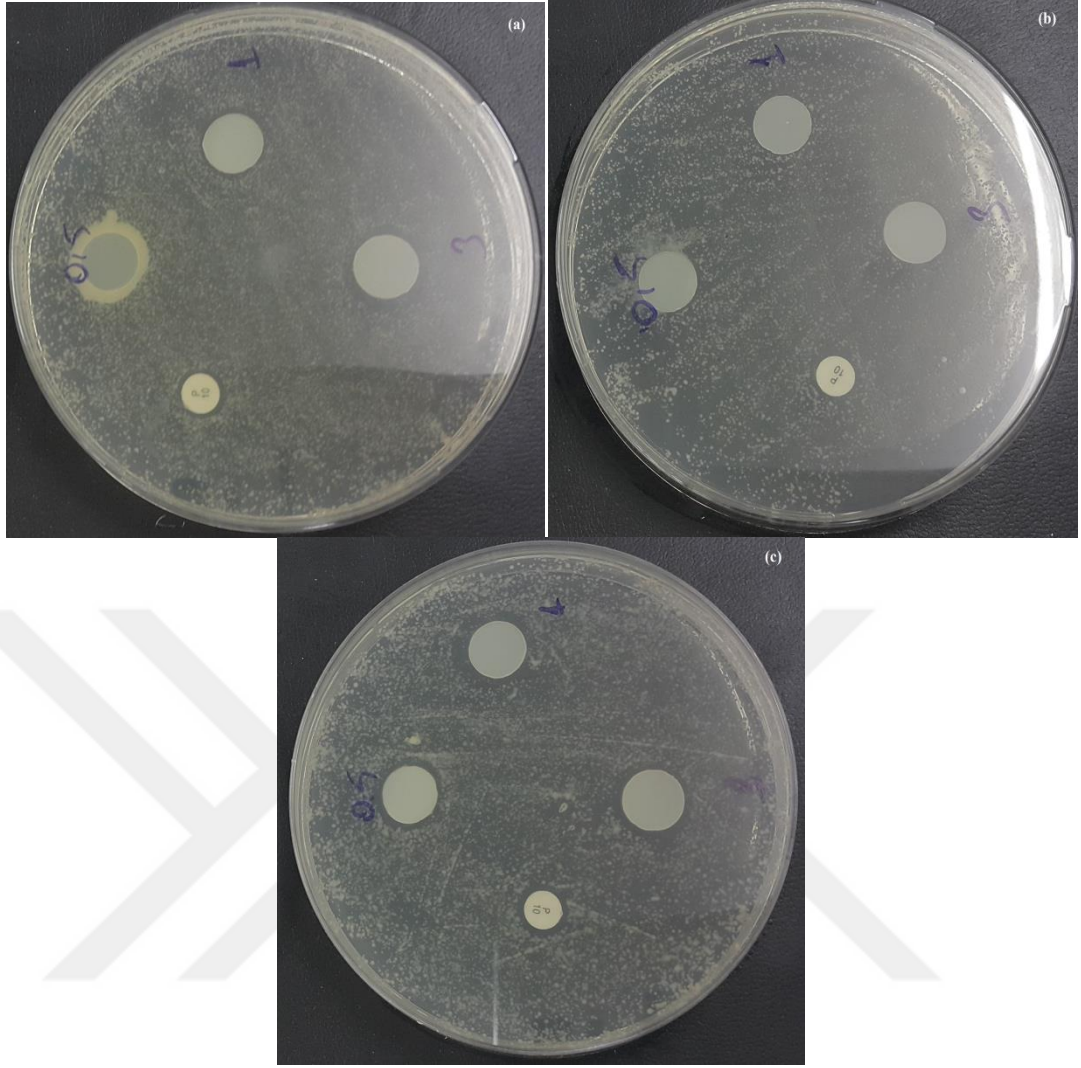
Şekil 3.31’de *P. aeruginosa* ile Plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.31. *P. aeruginosa* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırma kapsamında PEG immobilize yüzeyde *Metisilin dirençli S. aureus* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. 1 amper 3 dakika, 3 amper 0,5 ve 1 dakika değerlerinde en düşük 10.0 mm inhibisyon zonu oluşurken, 5 amperin 0,5. 1. ve 3. Dakikalarında 12.0 mm zon çapı ile stabilitesi sağlanmıştır.

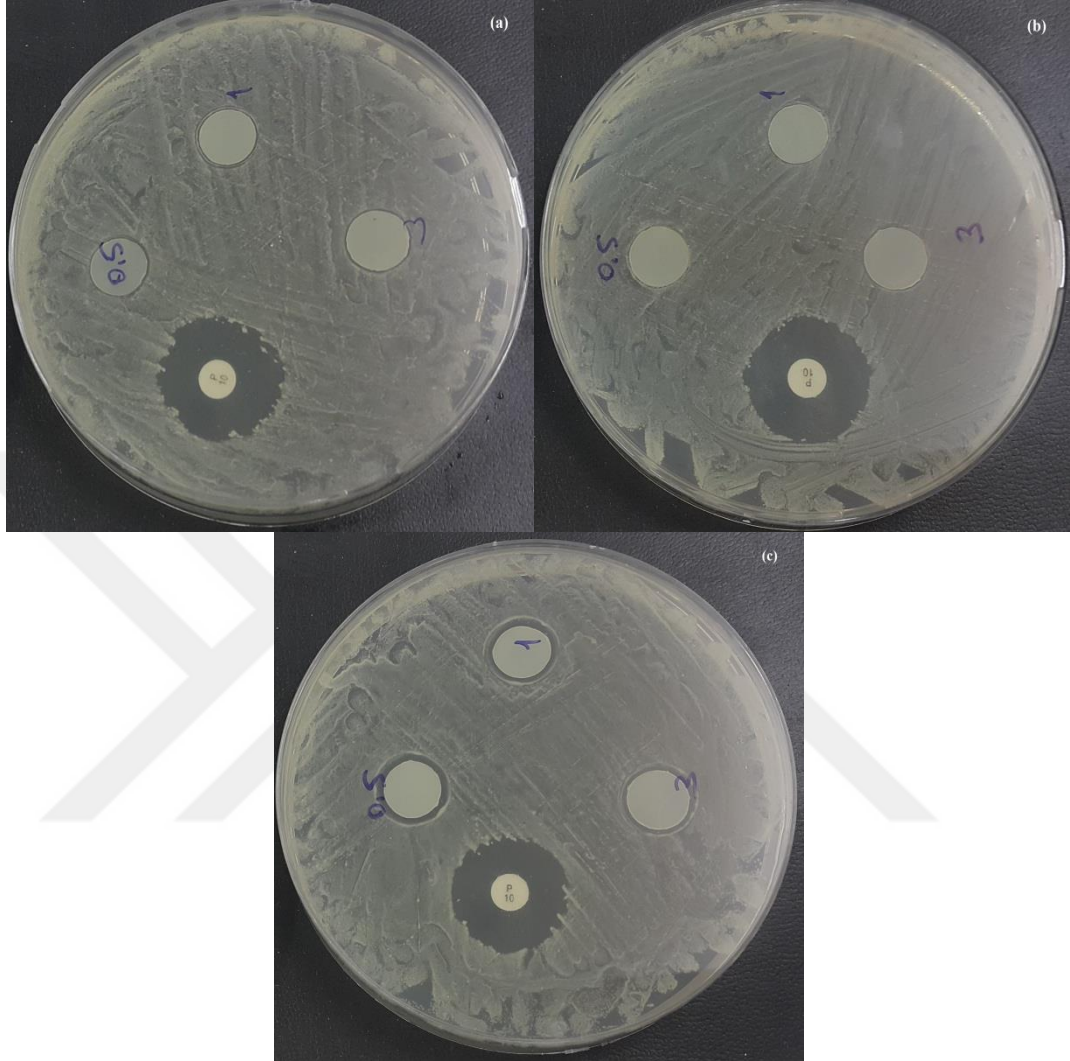
Şekil 3.32’de Metisilin dirençli *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.32. Metisilin dirençli *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Çalışmada PEG immobilize yüzeyde *S. aureus* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. 0,5 dakika 1 amper 9.0 mm ile en düşük sonuç alınmasına rağmen, *S. aureus* 3 dakikalık uygulamalarda 1 amperde 13.0 mm, 3 amperde 12.0 mm, 5 amperde 11.0 mm ve 1 dakikalık uygulamalarda 1 amperde 11.0 mm, 3 amperde 12.0 mm ve 5 amperde 14 mm zon çapı vererek tüm deneyi özetlemiştir. Yapılan çalışmada süre-amper optimizasyonunun *S. aureus* baz alınarak yapılabileceği ispatlanmıştır.

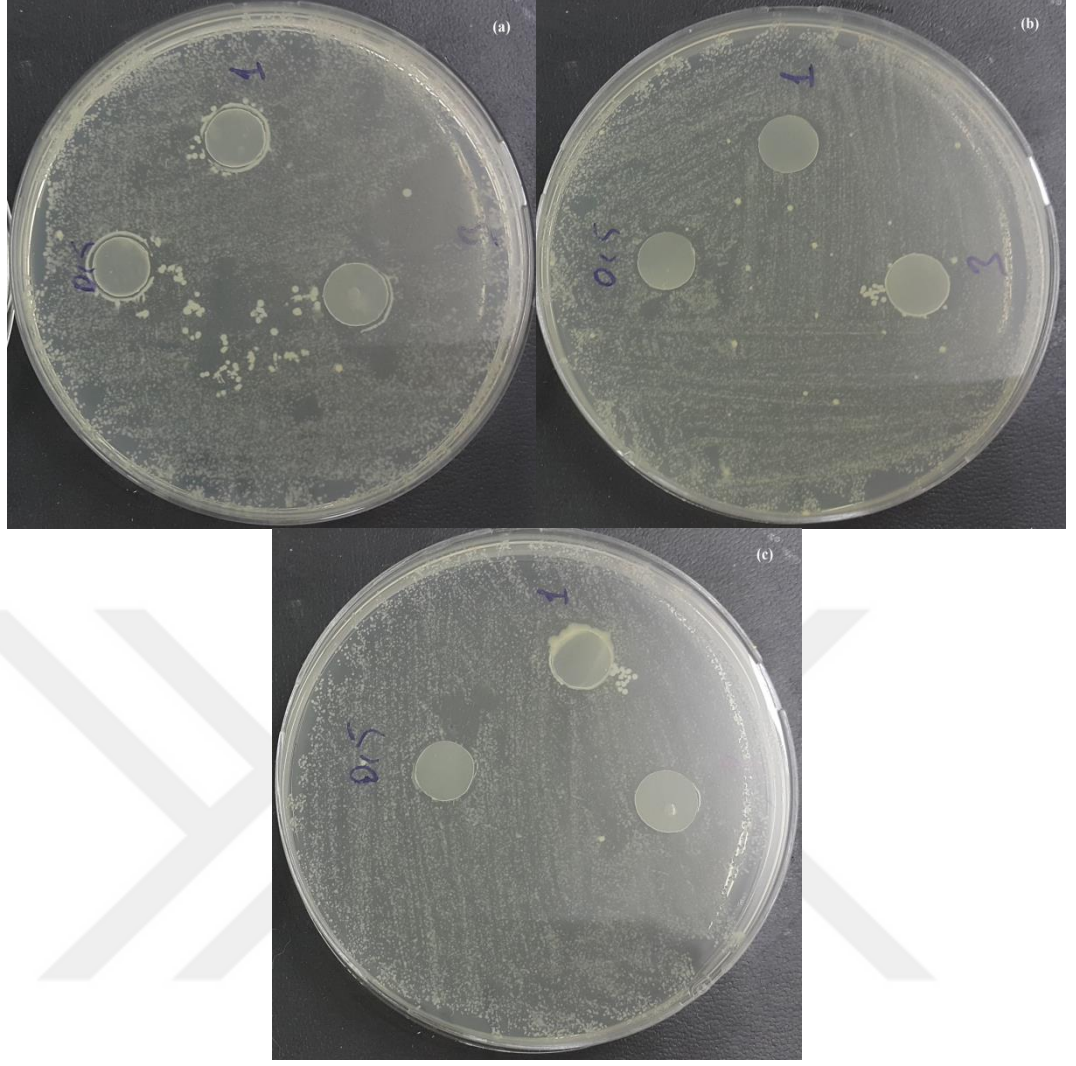
Şekil 3.33’de *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.33. *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

3.2.4.4.2. Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları

AgNP immobilizasyon işlemleri sonrası polimer esaslı PVC biyomalzemelerin hastane enfeksiyonu yapan bakteri ve maya üzerindeki dirençlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan antimikrobiyal analiz sonuçları bu başlık altında verilmiştir. Şekil 3.34’de *C. albicans* ile Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.

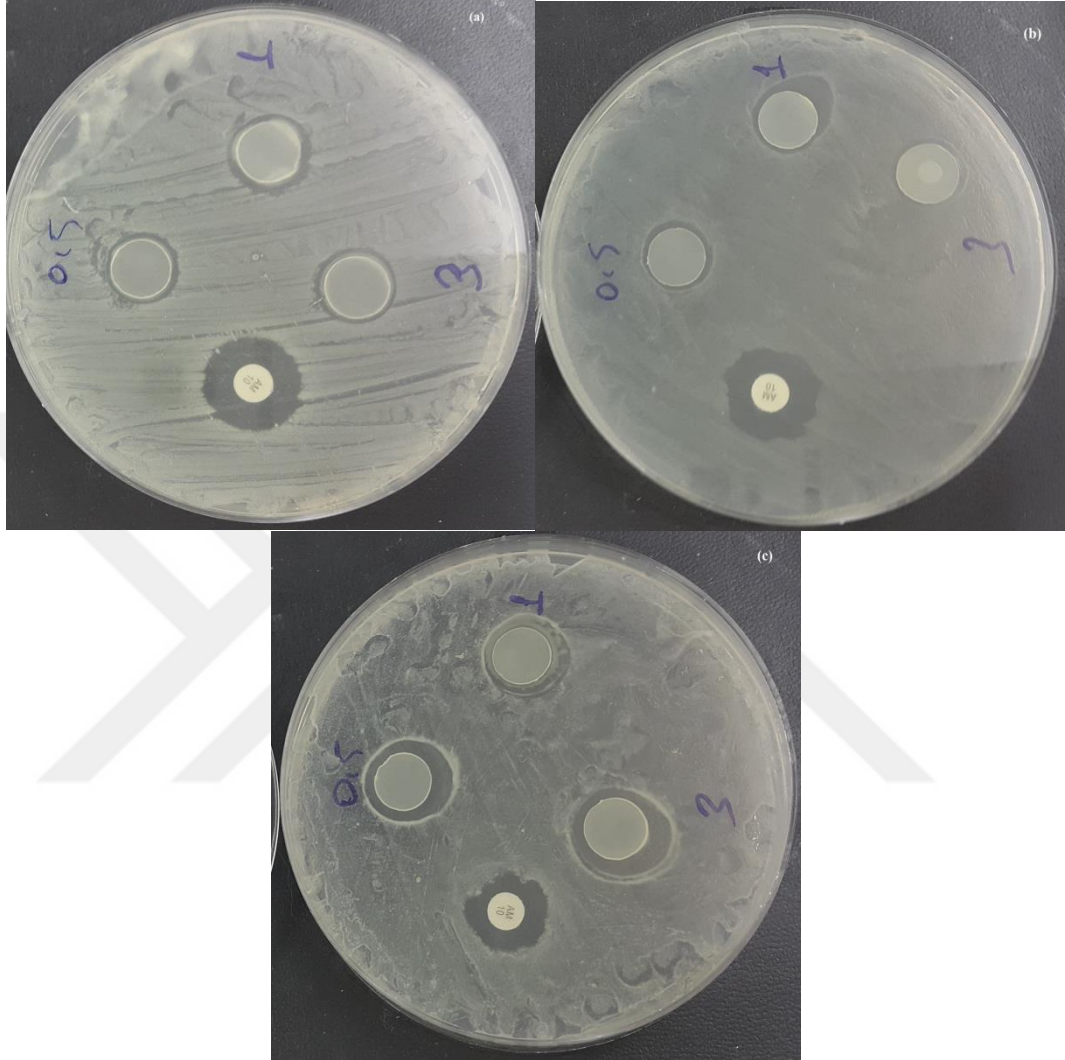


Şekil 3.34. *C. albicans* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırma kapsamında AgNP immobilize yüzeyde *C. albicans* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 11 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. Çalışmanın en yüksek sonuçları 3 dakika 1 ve 5 amperlerde, 3 amper 1 ve 0,5 dakikalarda elde edilen 11.0 mm zon çapıdır.

Çalışmada AgNP immobilize yüzeyde *E. coli* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 11 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir.

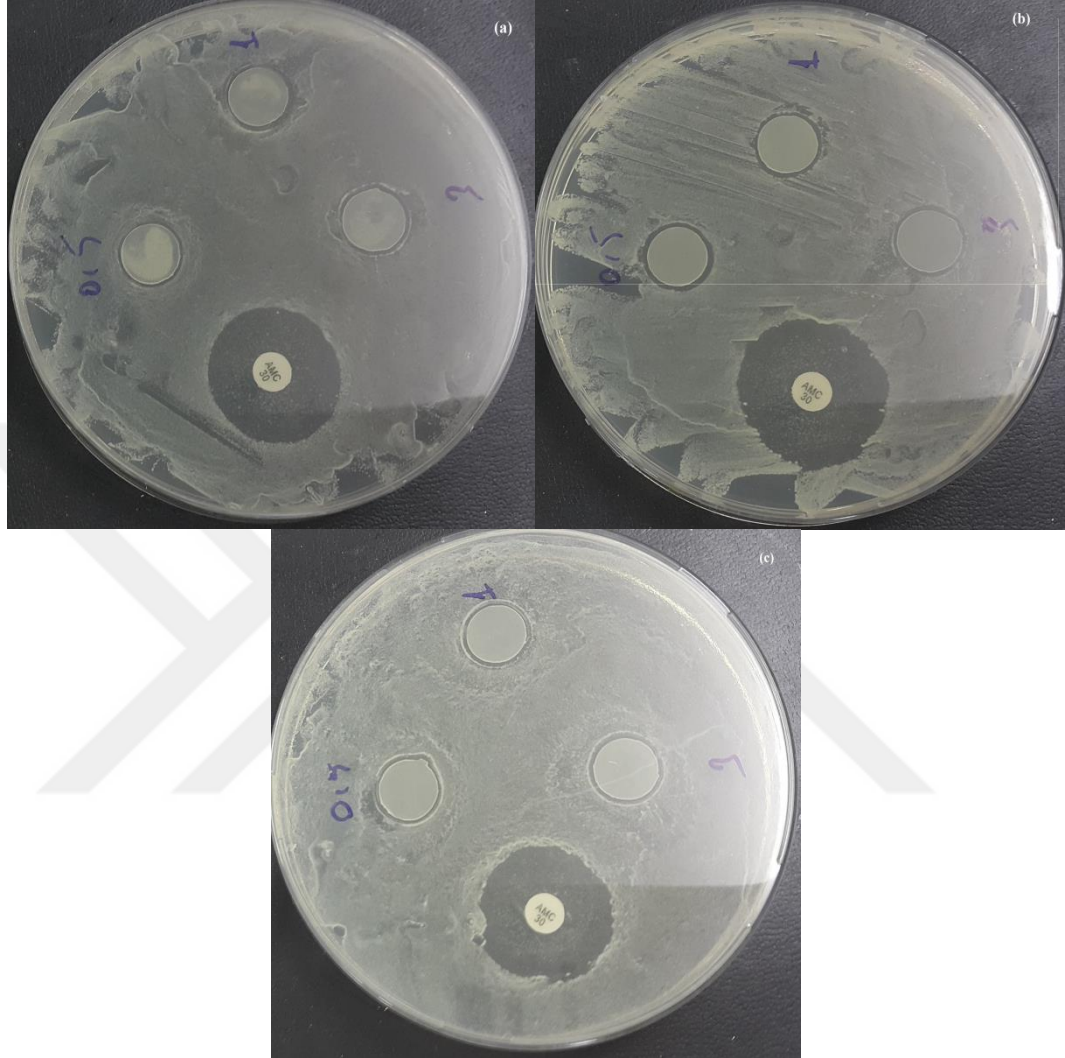
Şekil 3.35’de *E. coli* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.35. *E. coli* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırmada AgNP immobilize yüzeyde *K. pneumoniae* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 13 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. Çalışmanın en başarılı sonucu 3 amper 3 dakika parametresi ile elde edilen 13.0 mm değeridir. En düşük antimikrobiyal aktivite sonucu ise 0,5 dakika 1 amper parametresinde elde edilen 11.0 mm’dir. Diğer tüm parametreler 12.0 mm inhibisyon zonu vermiştir.

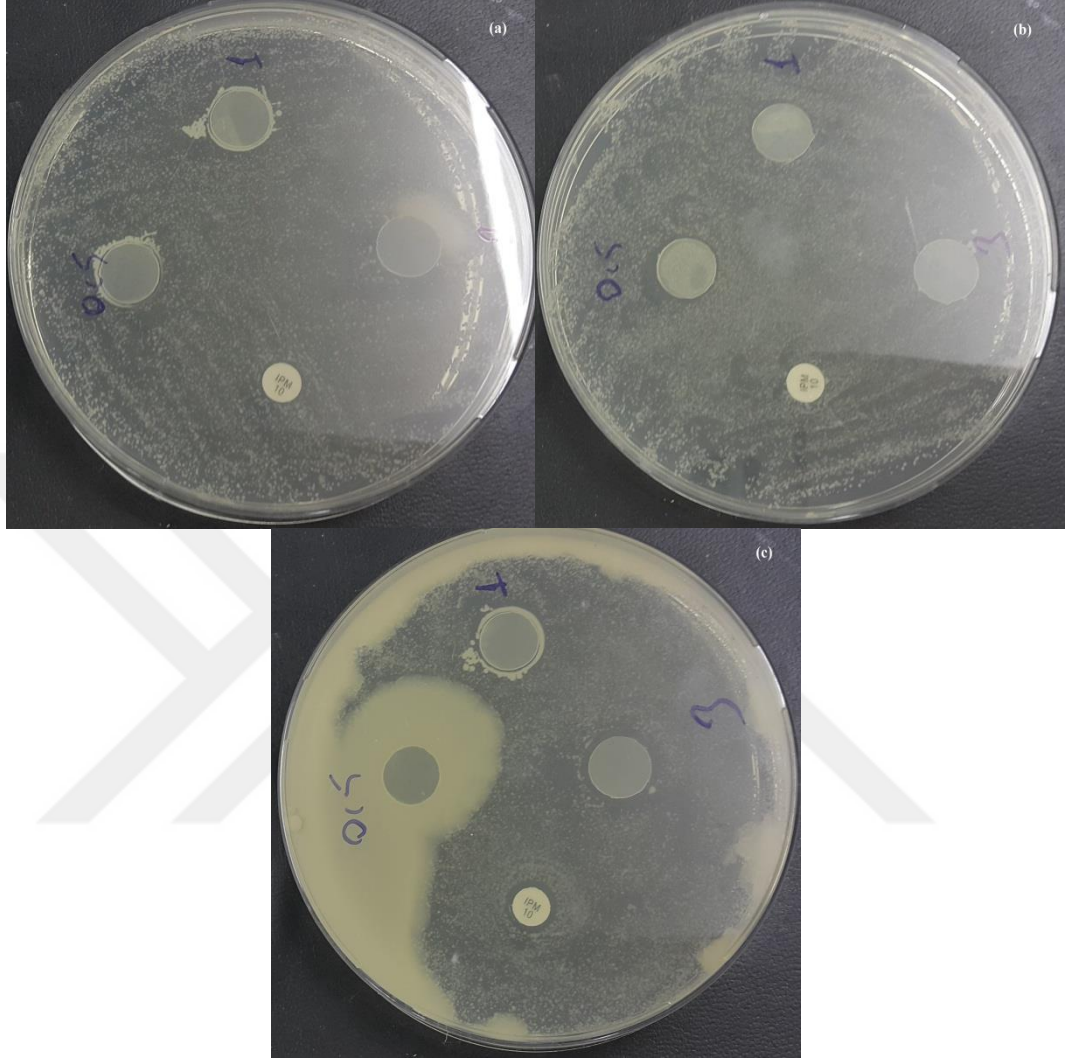
Şekil 3.36'da *K. pneumoniae* ile Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.36. *K. pneumoniae* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Çalışma kapsamında AgNP immobilize yüzeyde *P. aeruginosa* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. Bu çalışmada özellikle 0,5 dakika 5 amper değerinde görülen yüksek oranda bir üremenin neticesinde bile 9.0 mm ile antimikrobiyal aktivitenin korunduğu görülmektedir. Polimerik biyomalzemenin altında üreme olmayışı işlemin başarısını kanıtlamıştır. Çalışmanın en başarılı sonucunu ise 0,5 dakika 3 amper parametresinde elde edilen 14.0 mm vermiştir.

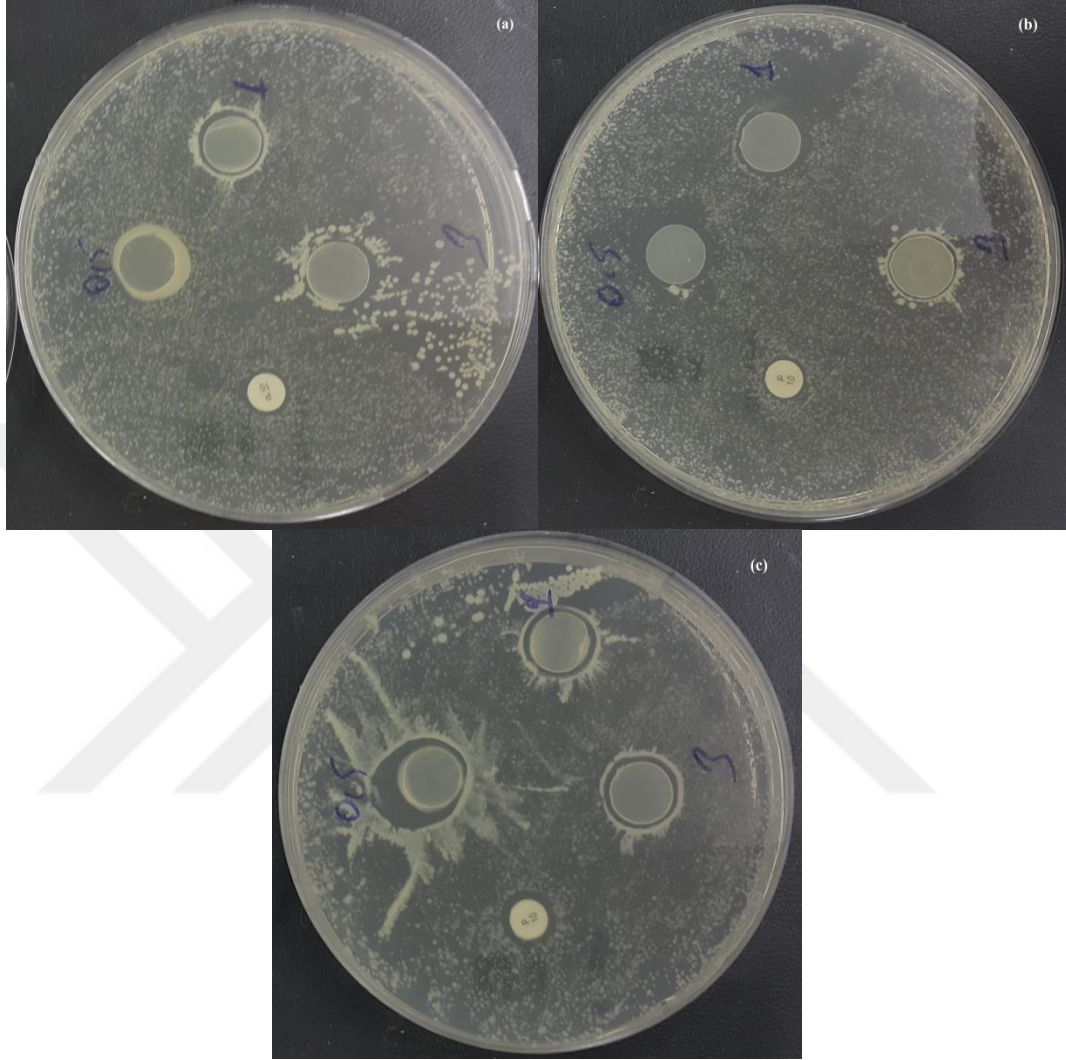
Şekil 3.37’de *P. aeruginosa* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.37. *P. aeruginosa* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırmada AgNP immobilize yüzeyde Metisilin dirençli *S. aureus* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda oldukça çarpıcı görsel sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle 5 amper uygulamasında kazanılan başarı tüm çalışmalar boyunca stabilitesini koruyan Metisilin dirençli *S. aureus*’un direncinin kırıldığını göstermektedir. 0,5 dakika 1 amper uygulamasında biyomalzeme altında üreme gerçekleşmemiştir.

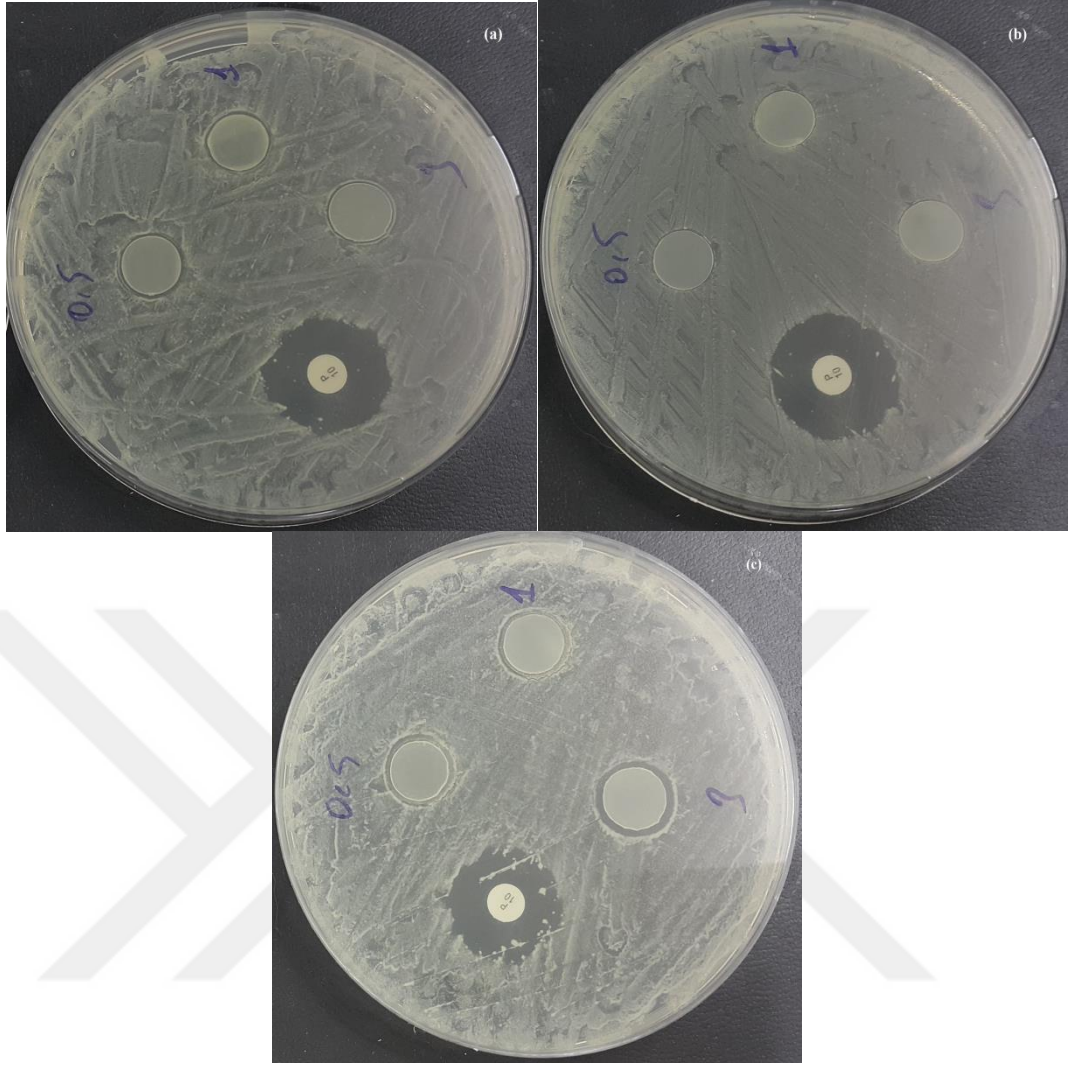
Şekil 3.38’de Metisilin dirençli *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.38. Metisilin dirençli *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırmada AgNP immobilize yüzeyde *S. aureus* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir.

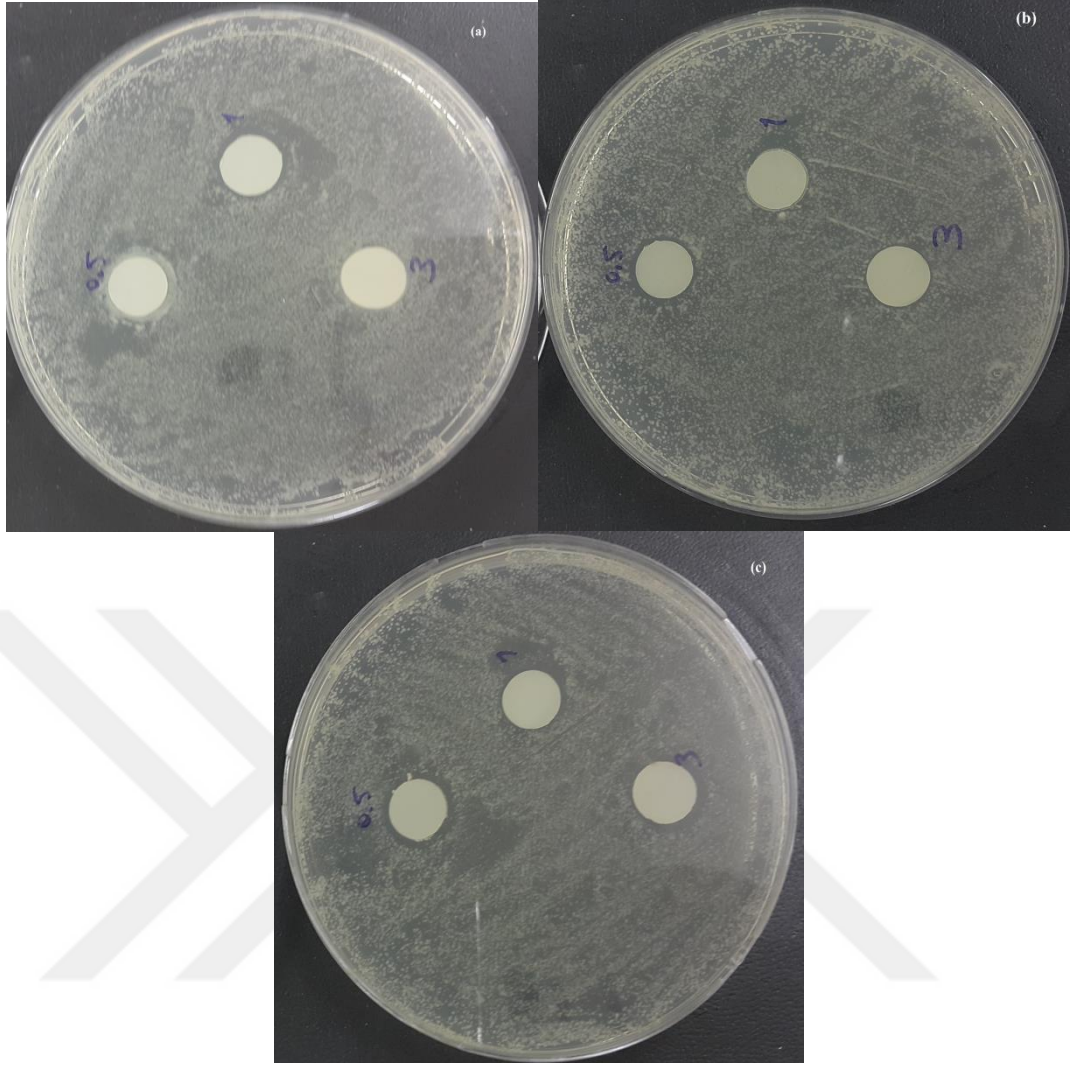
Şekil 3.39’da *S. aureus* ile Plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.39. *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

3.2.4.4.3 Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları

PEG+AgNP immobilizasyon işlemleri sonrası polimer esaslı PVC biyomalzemelerin hastane enfeksiyonu yapan bakteri ve maya üzerindeki dirençlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan antimikrobiyal analiz sonuçları bu başlık altında verilmiştir. Şekil 3.40'da *C. albicans* ile Plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.

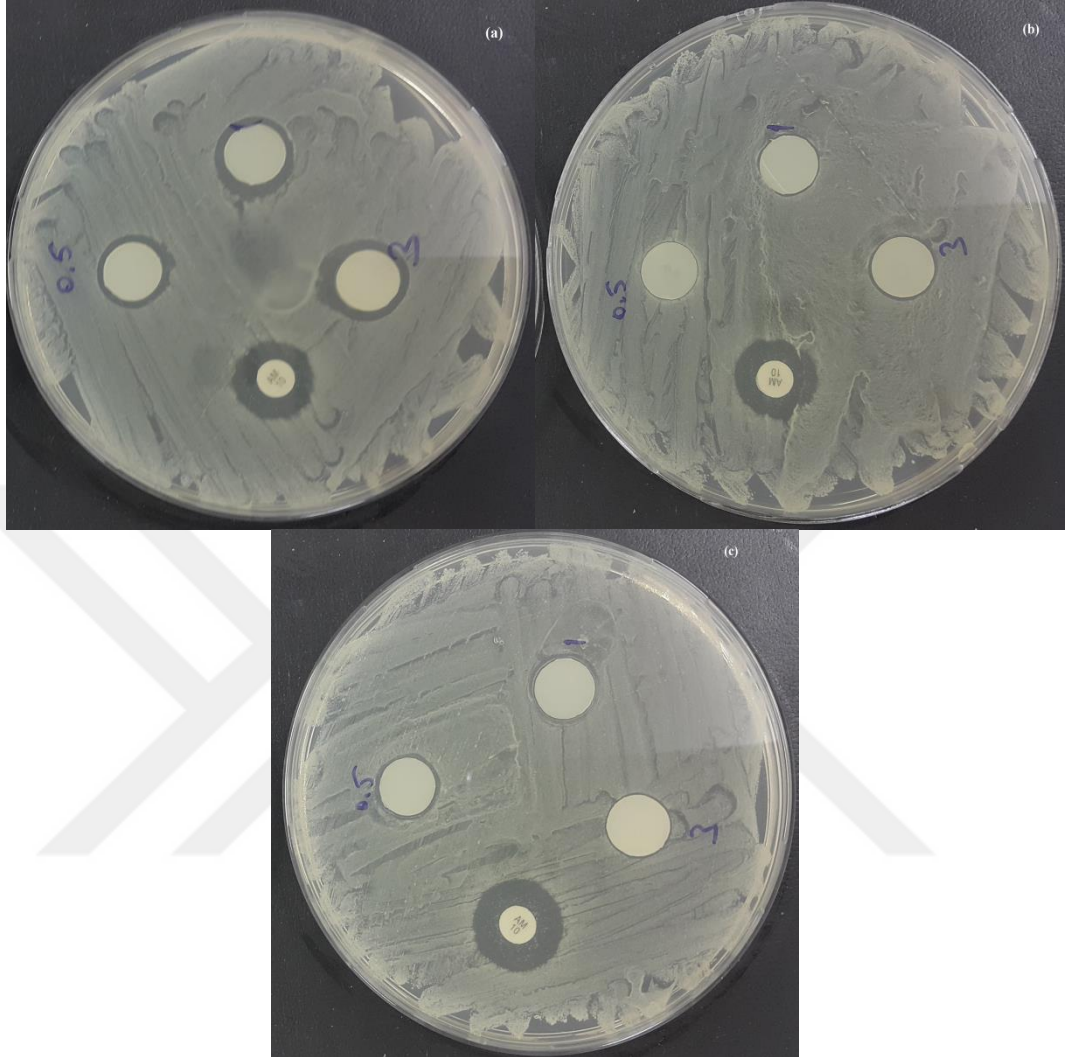


Şekil 3.40. *C. albicans* ile plazma işlemi sonrası PEG + AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırmada PEG+AgNP immobilize yüzeyde *Candida albicans* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 9 mm ve en yüksek 11 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. Adsorpsiyon işlemlerinde de değinildiği gibi daha güçlü antimikrobiyal aktivitenin sağlanması için daha etkin ve karmaşık bir yöntem ihtiyacı vardır.

Çalışmada PEG+AgNP immobilize yüzeyde *E. coli* ile de başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. Adsorpsiyon işlemlerinde de değinildiği gibi daha güçlü antimikrobiyal aktivitenin sağlanması için daha etkin ve karmaşık bir

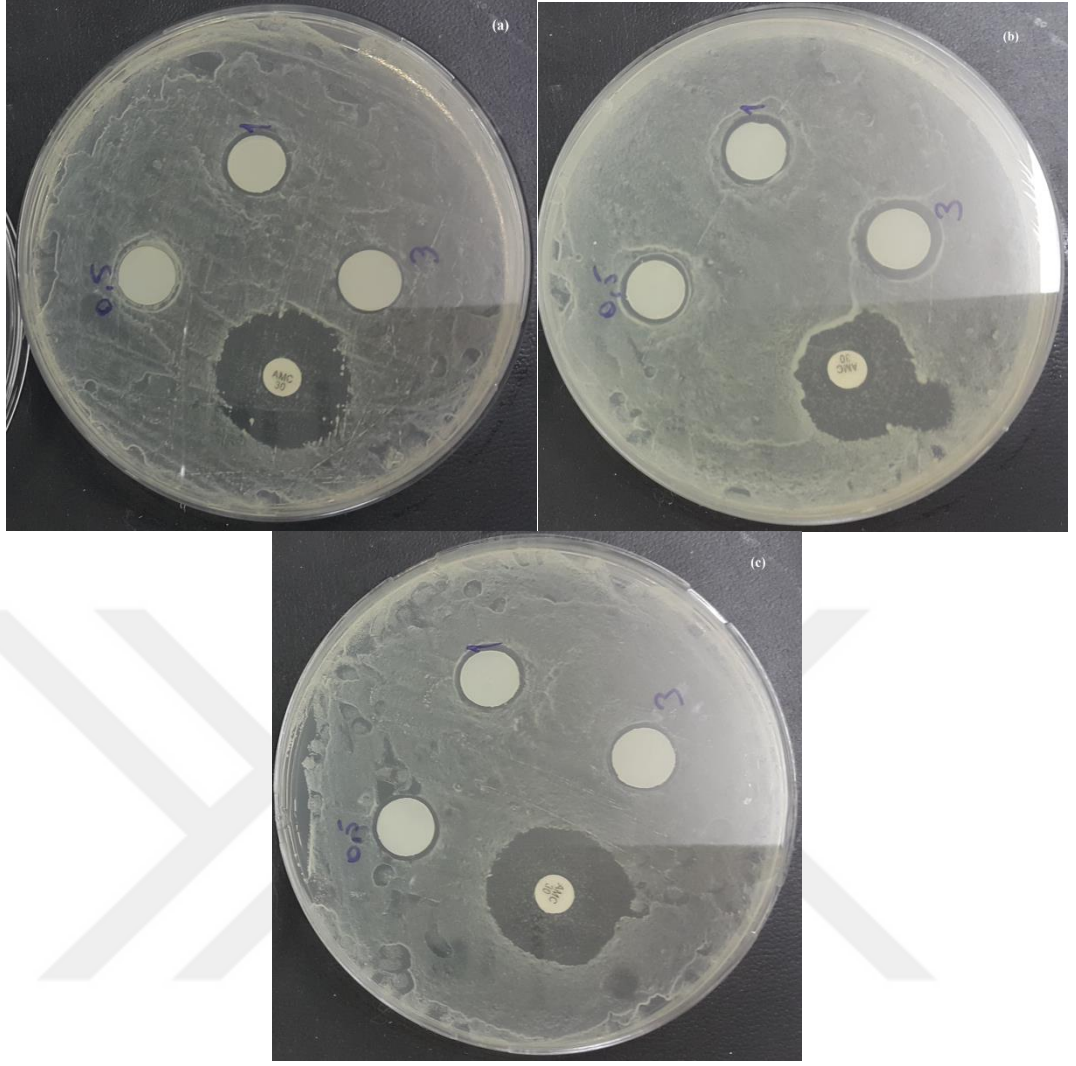
yönteme ihtiyaç vardır. Şekil 3.41’de *E. coli* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.41. *E. coli* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Çalışma kapsamında PEG+AgNP immobilize yüzeyde *Klebsiella pneumoniae* ile başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 11 mm ve en yüksek 13 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. *Klebsiella pneumoniae* gümüş bulunan yüzeylerde satabilitesini koruduğunu bir kez daha ispatlamıştır. 13.0 mm ile en başarılı sonucunu 3 dakika 3 amper uygulamasında vermiştir.

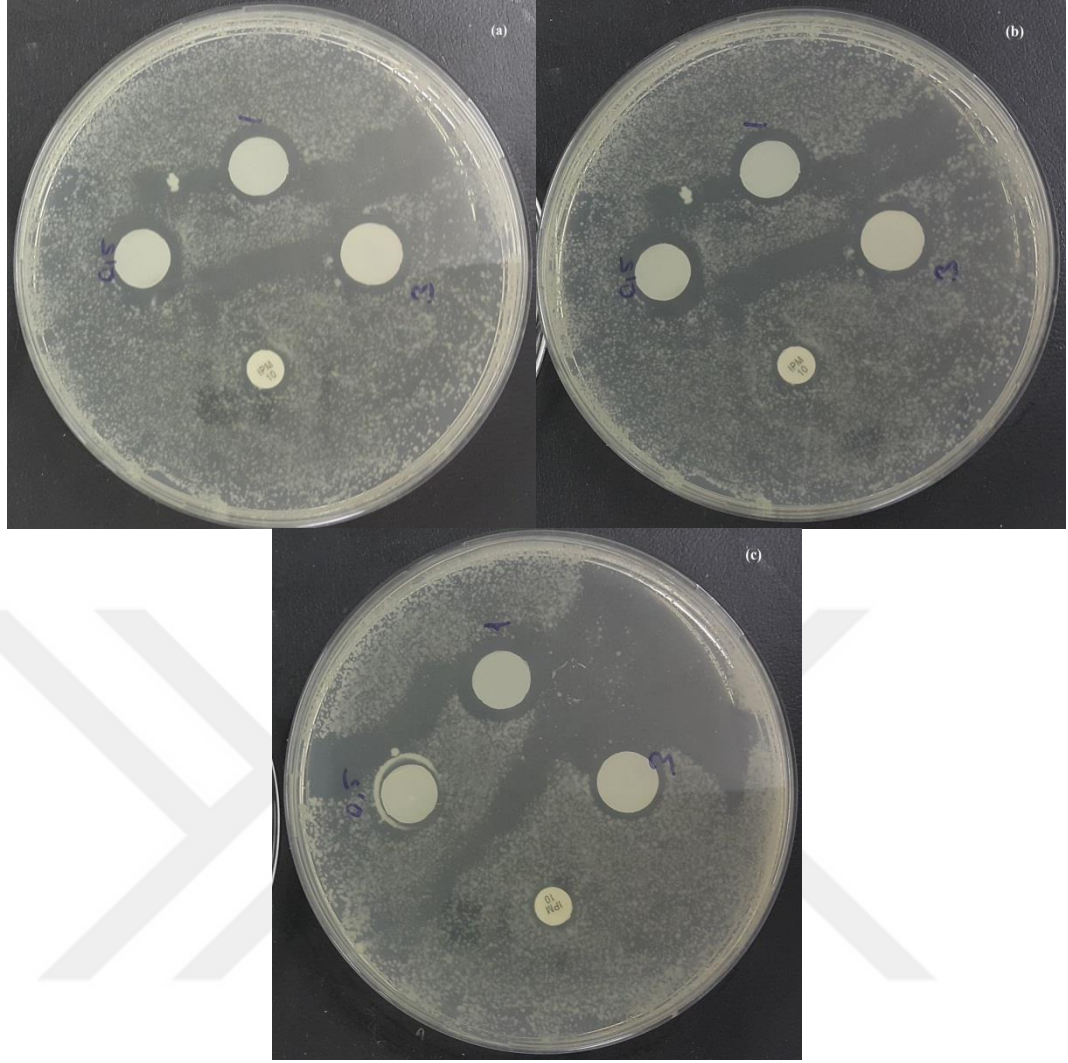
Şekil 3.42’de *Klebsiella pneumoniae* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.42. *K. pneumoniae* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırma kapsamında PEG+AgNP immobilize yüzeyde *Klebsiella pneumoniae* ile başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 11 mm ve en yüksek 13 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. *P. aeruginosa* Özellikle 0,5 Dakika 5 amper uygulamasında mikroorganizmanın biyomalzemeye doğru ilerlemeye çalıştığını ancak antimikrobiyal bariyer nedeniyle bir yığın halinde kolonilerin çeper oluşturduğu görülmektedir.

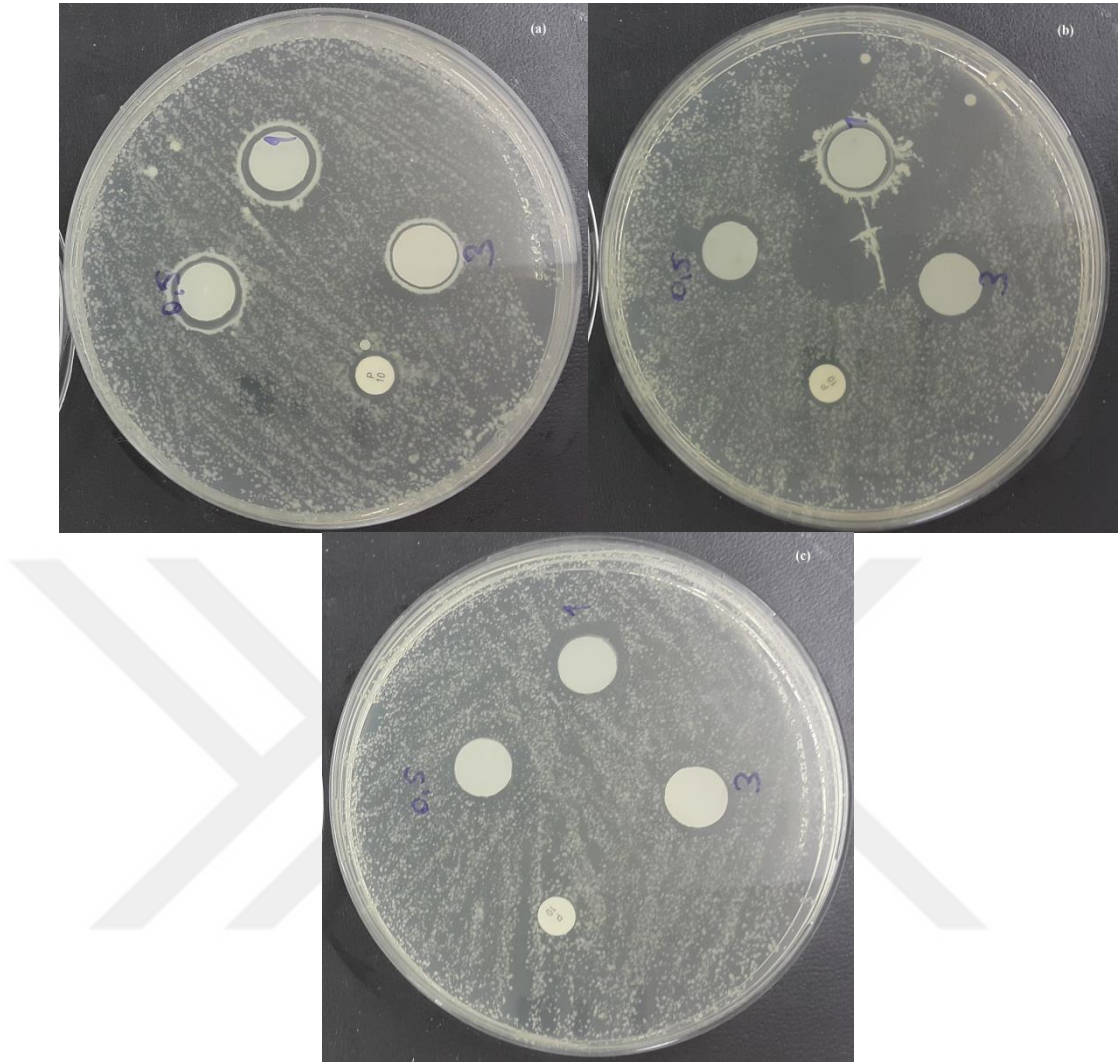
Şekil 3.43’de *P. aeruginosa* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.43. *P. aeruginosa* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırma kapsamında PEG+AgNP immobilize yüzeyde *S.aureus* ile başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 11 mm ve en yüksek 14 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. En dirençli nazokomial mikroorganizma olan Metisilin Dirençli *S.aureus* stabilitesi sonlandırılmıştır. Tüm bu tez çalışması kapsamında en belirleyici deney olarak kabul edilmiştir. Zira hem tüm parametrelerde stabilite sağlanmıştır hem de Metisilin Dirençli *S.aureus* suşundaki en etkin antimikrobiyal aktivite sonucuna ulaşılmıştır.

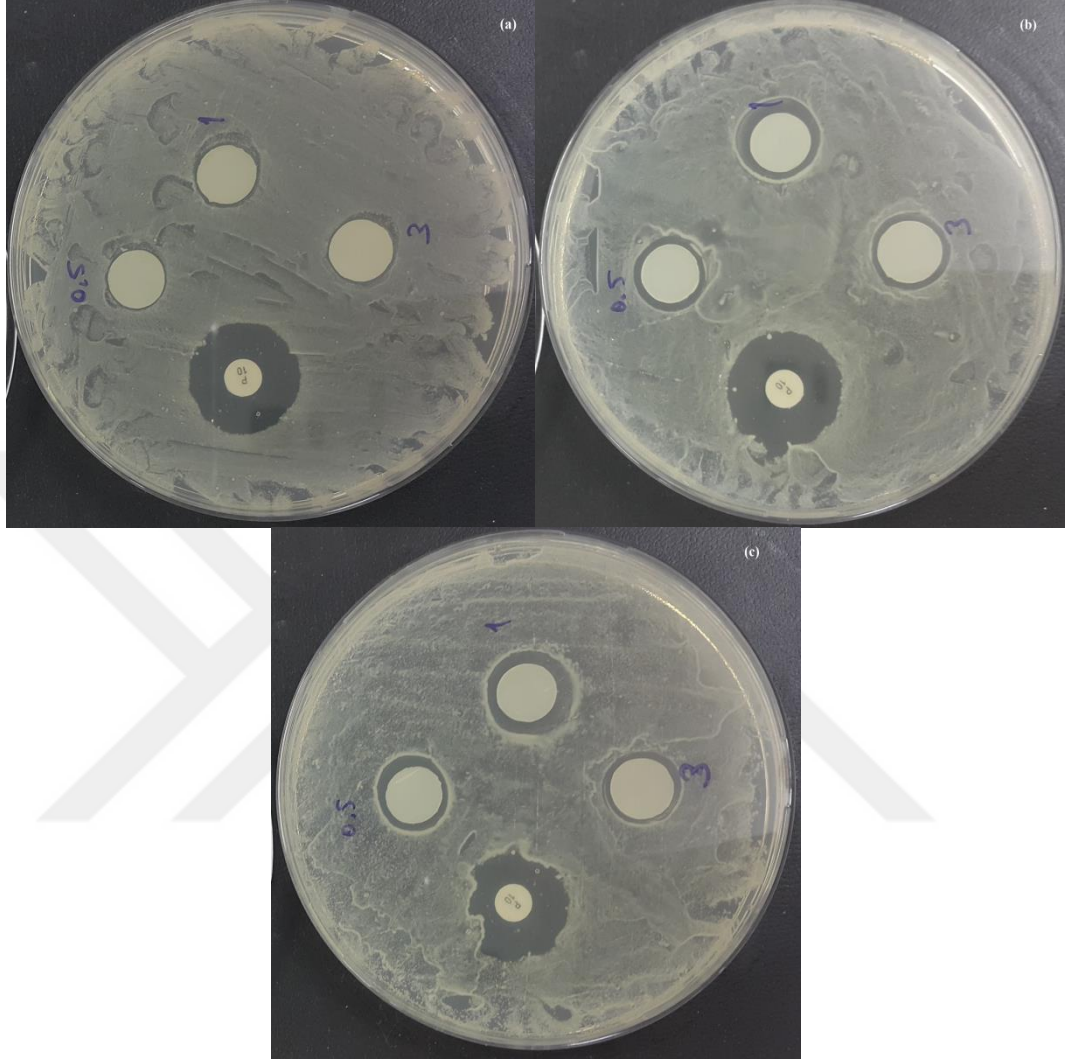
Şekil 3.44'de Metisilin Dirençli *S.aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.44. Metisilin dirençli *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

Araştırma kapsamında PEG+AgNP immobilize yüzeyde *S. aureus* ile başarılı antimikrobiyal etkinliğe ulaşılmıştır. Zon çapları oldukça belirgindir. Tüm işlemlerde zon görülmektedir. Yapılan tüm denemelerde en düşük 10 mm ve en yüksek 13 mm inhibisyon zonları gözlemlenmiştir. *S. aureus* 5 amper ve 3 amper uygulamalarında oldukça güzel zon çapları vermiştir. Özellikle zonun hemen üzerindeki halkalı yapıda mikroorganizmanın ne kadar inatçı ve kararlı bir yapı sergilediğini göstermektedir. Zonun üzerinde mikroorganizmanın yığın halinde koloni oluşturduğunu ancak antimikrobiyal bariyere takılarak ilerleme kaydedemediği şeklinde yorumlanmıştır.

Şekil 3.45’de *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları görülmektedir.



Şekil 3.45. *S. aureus* ile plazma işlemi sonrası PEG+AgNP immobilize yüzeylerin antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) 1 Amper; (b) 3 Amper; (c) 5 Amper.

4. SONUÇLAR

- Biyomalzeme olarak kullanılan medikal özellikli PVC polimerik yapının yüzey özelliğinin yapılan işlemler sonucu değiştirildiği ATR-FT-IR spektrumları ile doğrulanmıştır.
- Yüzeyin PEG immobilizasyonu sonrası AgNP ile kaplanması PEG'in polimerik stabilizör olarak da işlev görmesine yardımcı olduğu düşünülmüştür.
- Kan ile temas halinde olan tıbbi malzemenin yüzey özellikleri AgNP, PEG ve PEG+AgNP immobilizasyonu şeklinde değiştirilip hastane enfeksiyonlarına karşı etkisinin pozitif yönde olduğu, mikrobiyal bulaşmanın bu yöntemle daha az seviyelere çekilebileceği görülmüştür.
- Biyoyumlu malzeme olan PEG'in varlığı yüzey fonksiyonel grup karakterizasyonu ile belirlenmiştir. Böylelikle PVC biyomalzemeye biyoyumluluk kazandırılmıştır.
- **İşlemsiz medikal özellikli PVC polimerik yüzeylerde** inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. İşlemsiz yüzeylerde antimikrobiyal aktivitenin %50 oranında olduğu hesaplanmıştır.
- **Fiziksel adsorbsiyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu işlemlerinde** inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. Adsorbsiyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu yapılan yüzeylerde antimikrobiyal aktivitenin % 89 oranında olduğu hesaplanmıştır.
- **Plazma polimerizasyon işlemlerinde** 0,5-1-3 dakika, 1-3-5 amper parametrelerinin oluşturduğu matrix sistemde sadece plazma işleminden geçen PVC yüzeylerin antimikrobiyal akvitesi % 70 olarak hesaplanmıştır.
- **İmmobilizasyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu işlemlerinde** inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. immobilizasyon Yöntemiyle Yüzey Modifikasyonu yapılan yüzeylerde antimikrobiyal aktivitenin % 94,5 oranında olduğu hesaplanmıştır.

KAYNAKLAR

Abdelrahman M.M, El-Khabeary H, Study Of Three Different Types Of Plasma Ion Sources, Plasma Science And Technology 2009 Vol: 11 (5) 2009.

Ahmed S, Ahmad M, Swami BL, Ikram S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. J Adv Res 7, 17–28, 2016.

Arslan P, Tayyar A.E, Tekstil Alanında Kullanılan Antimikrobiyal Maddeler, Çalışma Mekanizmaları, Uygulamaları ve Antimikrobiyal Etkinilik Değerlendirme Yöntemleri, Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4 935-966, 2016.

Aytav E.G, Cebeci M.D, Küçükönder H, Hastane Enfeksiyonlarına Neden Olan Mikroorganizmalar Ve Bunların Antimikrobiyal Ajanlara Gelişen Dirençlilik Paterninin Araştırılması.

Awwad AM, Salem NM, Abdeen AO. Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity. Int J Ind Chem. 4: 29, 2013.

Bahrami N, Bayliss D, Chope G, Penson S, Pehinec T, Fisk ID, Cold Plasma: A New Technology to Modify Wheat Flour Functionality. Food Chemistry 202: 247-253, 2016.

Baysal T, İçier F, Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler. Nobel Yayıncılık, Ankara, 2012.

Bermúdez-Aguirre D, Barbosa-Cánovas G, Wemlinger E, Pedrow P, Garcia-Perez M, Effect of Atmospheric Pressure Cold Plasma (APCP) on the Inactivation of Escherichia coli in Fresh Produce. Food Control 34: 149- 157, 2013.

Baránková H, Bárdos L, Fused Hollow Cathode Cold Atmospheric Plasma Source For Gas Treatment, Catalysis Today, 2002.

Baránková H, Bárdos L, Hollow Cathode Cold Atmospheric Plasma Source With Monoatomic And Molecular Gases, Surface And Coatings Technology 2003.

Beveridge TJ. Structures of Gram-Negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles J Bacteriol. 4725–4733, 1999.

Bilgili B, Karademir F, Bozacı E, Özdoğan E, Ayhan H, Ayhan F, Liquidambar Orientalis Mill. Leaf Aqueous Extract For The Synthesis Of Silver Nanoparticles And Immobilization On Textile Fabrics For Biomedical Applications, Tekstil Ve Konfeksiyon 2016.

Bozacı E. Antimikrobiyal Tekstil Yüzeylerinin Oluşturulabilirliğinin Araştırılması. PhD Thesis, Ege University, Faculty of Engineering, Department of Textile Engineering, İzmir, Turkey; 2013.

Bulut E, Özacar M. Rapid, Facile Synthesis of Silver Nanostructure Using Hydrolyzable Tannin. Ind Eng Chem Res. 48: 5686– 5690, 2009.

Cao S, Zhou X, Jin W, Wang F, Tu R, Han Schen H, Chen C, Xie G, Ma F, Improving Of Lipid Productivity Of The Oleaginous Microalgae Chlorella Pyrenoidosa Via Atmospheric And Room Temperature Plasma (ARTP), Bioresource Technology 2017.

Chen H, Ding C, Nanostructured Zirconia Coating Prepared By Atmospheric Plasma Spraying, Surface And Coatings Technology, 2002.

Chizoba Ekezie F, Sun D, Cheng J, A Review On Recent Advances In Cold Plasma Technology For The Food Industry: Current Applications And Future Trends Chizoba Ekezie F Sun D Cheng J Trends In Food Science & Technology 2017.

Demir E, Yalçın H, Adsorbentler: Sınıflandırma, Özellikler, Kullanım Ve Öngörüler, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 7 (2): 70-79, 2014.

Deng S, Ruan R, Mok CK, Huang G, Lin X, Chen P, Inactivation of Escherichia coli on Almonds Using Nonthermal Plasma. Food Microbiology and Safety 72(2): 62-66, 2007.

Fernández A, Noriega E, Thompson A, Inactivation of Salmonella enterica Serovar Typhimurium on Fresh Produce by Cold Atmospheric Gas Plasma Technology. Food Microbiology 33: 24–29, 2013.

Fernández A, Thompson A, The Inactivation of Salmonella by Cold Atmospheric Plasma Treatment. Food Research International 45: 678-684, 2012.

Felix T, Trigueiro J, Bundaleski N, Teodoro O, S rio S, Debacher N, Functionalization Of Polymer Surfaces By Medium Frequency Non-Thermal Plasma, Applied Surface Science 2018.

Goodwin A, Herbert T, Leadley S, Swallow F, Atmospheric Pressure Liquid Deposition – A New Route To High Performance Coatings

Guessasma S, Trifa F, Montavon G, Coddet C, Al₂O₃ –13% Weight TiO₂ Deposit Profiles As A Function Of The Atmospheric Plasma Spraying Parameters, Materials And Design 25, 307–315, 2004.

Haris, J.E. Introduction: factors influencing corneal hydration. Invest Ophthalmol, Vol 1(2), pp 151–7, 1962.

Haris, J.M. (Ed.), Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications, 1992.

Helmenstine A, Lightning And Plasma Photo Gallery PRINT Lightning Photograph, 2017.

Hwang B, Lee S, Ahn J, Effect Of Oxides On Wear Resistance And Surface Roughness Of Ferrous Coated Layers Fabricated By Atmospheric Plasma Spraying, Materials Science And Engineering A 2002.

Hwang B, Lee S, Ahn J, Correlation Of Microstructure And Wear Resistance Of Molybdenum Blend Coatings Fabricated By Atmospheric Plasma Spraying, Materials Science And Engineering A 2004.

Kasım Karahocag l M, Yaman G, G kta  U, S nnet io lu M,  ıkman A, Bilici A, Yapıcı K, İrfan Baran A, Binici İ, Akdeniz H, Hastane Enfeksiyon Etkenlerinin Ve Diren  Profillerinin Belirlenmesi, Cilt (1) Pp: 18, 2011.

Kefser E.K, Dı rak M. Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyel ve Antifungal Aktiviteleri. KSU J Sci Eng.8(2), 2005.

Kim J, Kim Y, Lee K, Effects Of Atmospheric Plasma Treatment On The Interfacial Characteristics Of Ethylene-Vinyl Acetate/Polyurethane Composites, Journal Of Colloid And Interface Science 2004.

Koçum C, Ayhan H, Design And Construction Of Uniform Glow Discharge Plasma System Operating Under Atmospheric Condition.

Kodera, Y, Matsushima, A, Hiroto, M, Nishimura, H, Ishii, A, Ueno, T, Inada, Y. "Pegylation of proteins and bioactive substances for medical and technical applications" Prog. Polym. Sci, 23, 1233–1271, 1998.

Kogelschatz U, Atmospheric-Pressure Plasma Technology, Plasma Physics And Controlled Fusion 2004.

Krithiga N, Rajalakshmi A, and Jayachitra A. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extracts of Clitoria ternatea and Solanum nigrum and Study of Its Antibacterial Effect against Common Nosocomial Pathogens. Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanoscience Article ID 928204, 8 pages, 2015.

Misra NN, Patil S, Moiseev T, Bourke P, Mosnier J.P, Keener KM, Cullen P.J, In-Package Atmospheric Pressure Cold Plasma Treatment of Strawberries. Journal of Food Engineering 125: 131-138, 2014.

Moisan M, Barbeau J, Crevier M-C, Pelletier J, Philip N, Saoudi B, Plasma sterilisation. Methods and mechanisms. Pure and Applied Chemistry, 74 (3) 349-358, 2001.

Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia L.H, Low Temperature Sterilization Using Gas Plasmas: A Review of the Experiments and An Analysis of the Inactivation Mechanisms. International Journal of Pharmacology 226: 1-21, 2001.

Moon S, Choe W. A Comparative Study Of Rotational Temperatures Using Diatomic OH, O₂ And N₂ + Molecular Spectra Emitted From Atmospheric Plasmas, Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy 2003.

Moreau M, Orange N, Feuilleley M.G.J, NonThermal Plasma Technologies: New Tools for BioDecontamination. Biotechnology Advances 26: 610-617, 2008.

Murat Y, Kim E, Temelleri B, Biyomalzemeler Ve Biyoyapay Organ Teknolojileri

Özyol P, Özyol E, Karel F, Biocompatibility Of İntraocular Lenses, Turk Oftalmoloiji Dergisi 2017.

Perera S, Bhushan B, Bandara R, Rajapakse G, Rajapakse S, Bandara C. Morphological, antimicrobial, durability, and physical properties of untreated and treated textiles using silver-nanoparticles. *Colloid Surface. A.* 436, 975– 989, 2013.

Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv* 27: 76–83, 2009.

Ragaseema VM, Unnikrishnan S, Krishnan VK, Krishnan LK. The antithrombotic and antimicrobial properties of PEG-protected silver nanoparticle coated surfaces. *Biomaterials*, 33, 3083-3092, 2012.

Ratner B.D, Surface modification of polymers: chemical, biological and surface analytical challenges, *Biosensors & Bioelectronics* 10 797-804 1995.

Ricci A, Olejar KJ, Parpinello GP, Kilmartin PA, Versari A. Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in the Characterization of Tannins. *Appl Spectrosc Rev.* 50: 407–442, 2015.

Rod SK, Hansen F, Leipold F, Knochel S, Cold Atmospheric Pressure Plasma Treatment of Ready-To-Eat-Meat: Inactivation of *Listeria innocua* and Changes in Product Quality. *Food Microbiology* 30: 233-238, 2012.

Gürmen S, Ebin B, Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri, İ.T.Ü., Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü.

Saraç N, Şen B. Antioxidant, mutagenic, antimutagenic activities, and phenolic compounds of *Liquidambar orientalis* Mill. var. *Orientalis*. *Ind Crop Prod.* 53: 60– 64, 2014.

Schlemm H, Material Technology By New Plasma-And Ion Beam Techniques Research And Development For Thin Film Technology 1 Technique And Technology Development For Thin Film Processes With Plasma-And Ion Sources.

Sezgin Bayindir Z, Yüksel N, Pegilasyon: Peg Konjugatlarının Hazırlanması Ve Uygulamaları Pegylation: Preparation And Application Of Peg Conjugates, Vol: 36 (364) Pp: 249-266, 2007.

Sezer S, Peg Stabilize Kollajen-Kitosan Biyomalzeme Geliştirilmesi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Journal Article 2011.

Sivaraman SK, Elango I, Kumar S, Santhanam V. A green protocol for room temperature synthesis of silver nanoparticles in seconds. *Curr Sci.* 97:1055-59, 2009.

Terzi E, Kartal SN, Ibáñez CM, Köse C, Arango R, Clausen CA, Green F. Biological performance of *Liquidambar orientalis* Mill. heartwood. *Int Biodeter Biodegr.* 75: 104-108, 2012.

Temiz A. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, (3rd edition) Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, 2000.

Tripathi A, Melo J.S, Advances Biomaterials For Biomedical Applications Advances In Biomaterials For Biomedical Application S Editors (View Affiliations) Part Of The Advanced Structured Materials Book Series Structmat, Volume 66

Yüksel Ç, Karagözlü N, Soğuk Atmosferik Plazma Teknolojisi ve Gıdalarda Kullanımı, ADÜ Ziraat Derg, 14(2):81-86,2007.

Villermet A, Cocolios P, Rames-Langlade G, Coeuret F, Gelot J, Prinz , Förster F, ALDYNE™: Surface Treatment By Atmospheric Plasma For Plastic Films Converting Industry, Surface And Coatings Technology 2003.

Wang, Z. H., Choi, C. J. Kim, B. K., Kim J. C. and Zhang Z. D., Microstructure and magnetic property of Fe-Co nanoparticles prepared by chemical vapor condensation process, *J. of All. and Comp.*, 351, 319-323, 2003.

Wang, Z. H., Choi, C. J. Kim, B. K., Kim J. C. and Zhang Z. D., Characterization of Fe-Co alloyed nanoparticles synthesized by chemical vapor condensation, *Materials Letters*, 57, 3560-3564,2003.

Wolfgang, L. Bottom-up Methods for Making Nanotechnology Products, Erişim 22 Ekim 2007.

Yan D, Sherman J, Keidar M, Cold Atmospheric Plasma, A Novel Promising Anti-Cancer Treatment Modalityyan D Sh, *Oncotarget* 2017.

Zaki, A. Processing and Synthesis Techniques for the Preparation of Nanomaterials. . Erişim 22 Ekim 2007.

Zhang, M. Li, X.H. Gong, Y.D. Zhao, N.M. and Zhang, X.F. Properties and biocompatibility of chitosan films modified by blending with PEG. *Biomaterials*, Vol.23, pp 2641–8, 2002.

Zeng Y, Lee S, Gao L, Ding C, Atmospheric Plasma Sprayed Coatings Of Nanostructured Zirconia Journal Article.

Zhou X, Wang S, Wen T, Ding C, A Study Of Ni + 8YSZ/8YSZ/La0.6Sr0.4coo3- Δ itsofc Fabricated By Atmospheric Plasma Sprayingzheng Journal Of Power Sources 2005.

http://www.google.com.tr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwjY7vzo7N3bAhVLDOwKHQ1VBT8QFjAAegQIARAB&url=http%3A%2F%2Fadudspace.adu.edu.tr%3A8080%2Fjspui%2Fbitstream%2F11607%2F329%2F3%2Fmurat_uygun_tez.pdf&usg=AOvVaw1Ey7vxfh6b5K9Q79vrlsKI

<http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/210010302.pdf>

https://en.wikipedia.org/wiki/Methicillin-resistant_Staphylococcus_aureus



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : **Gülşah Arslan**
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Muğla – 18/01/1992
Medeni Hali : Bekar
Telefon : 0 544 524 4030
E-posta : aslangulsah48@gmail.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Yatağan Anadolu Lisesi	2010
Lisans	Pamukkale Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2018

İş Tecrübesi

Yıl	Yer	Pozisyon/görev
2015-2015	Carrefoursa Genel Merkez	Gıda Teknikeri/Stajer Müh.
2015-2016	Arçelik Merkez Ar-Ge	Stajer Müh./ Ar-Ge Müh.
2018-	KYK Erkek Öğrenci Yurdu	Gıda Müh.

Yabancı Dil(ler)

Dil (İngilizce, vs)	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma		X	
Konuşma		X	
Anlama		X	
Okuma			X

Bilimsel Faaliyetler

Yayınlar

1. ARSLAN, G., KEVEN KARADEMİR , F., AYHAN, F., Vücut Dışı Polimerik Biyomalzeme Yüzeylerine Atmosferik Plasma Kullanılarak Antimikrobiyal Özellik Kazandırılması 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2018), Özet/Sözlü Sunum, 26-27 Nisan 2018, Ankara, Türkiye.

2. KARADEMİR F., ARSLAN G., AYHAN F., Antimicrobial Properties of Biomaterials Coated with AgNP Synthesized by Mugla Region *Liquidambar Orientalis* Mill Leaves Extract. 8th International Advanced Technologies Symposium, Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum, The International Advanced Technologies Symposium (IATS17), Oct 19 to 21, 2017, Elazığ, Türkiye.

Hobiler

1. Satranç
2. Yüzmek
3. Edebiyat
4. Eskiz