



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü



**CERRAHİ İPLİKLERİN  
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE GÖSTEREN  
MİKROALG EKSTRAKTI  
İLE KAPLANMASI**

**Yüksek Lisans Tezi**

Merve TOKGÖZ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

İzmir

2019



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**CERRAHİ İPLİKLERİN  
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE GÖSTEREN  
MİKROALG EKSTRAKTI  
İLE KAPLANMASI**

Merve TOKGÖZ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Suphi Ş. ÖNCEL

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Yüksek Lisans Programı

İzmir

2019



Merve TOKGÖZ tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Cerrahi İpliklerin Antimikrobiyal Aktivite Gösteren Mikroalg Ekstraktı ile Kaplanması” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 26.08.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.



**Jüri Üyeleri:**

**Jüri Başkanı : Doç. Dr. Suphi Ş. ÖNCEL**

**Raportör Üye: Prof. Dr. Elif Esin HAMEŞ TUNA**

**Üye : Dr. Öğr. Üyesi Utku Kürşat ERCAN**

 **İmza**



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Cerrahi İpliklerin Antimikrobiyal Aktivite Gösteren Mikroalg Ekstraktı ile Kaplanması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

26/08/2019



Merve TOKGÖZ



**ÖZET****CERRAHİ İPLİKLERİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE GÖSTEREN  
MİKROALG EKSTRAKTI İLE KAPLANMASI**

TOKGÖZ, Merve

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Suphi Ş. ÖNCEL

Ağustos, 2019, 87 sayfa

Cerrahi iplikler (sütürler), bakterilerin yaralara nüfuz etmesine olanak sağlayan kapiler etkilerinden dolayı zorlu cerrahi alan enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Cerrahi iplikler, mikrobiyal yapışma ve ardından kolonizasyon, biyofilm oluşumu ve cerrahi alanda enfeksiyon için mükemmel yüzeyler olarak işlev görürler. Cerrahi ipliklerden kaynaklı cerrahi alan enfeksiyonunu önlemek için çeşitli antimikrobiyal cerrahi iplikler geliştirilmiştir. Bununla birlikte, cerrahi bölgeye bağlı olarak, antimikrobiyal cerrahi iplikler etkisiz kalabilmekte ve hatta üzerlerindeki antimikrobiyal ajanların sakıncaları olabilmektedir. Mikroalgler, oldukça ilgilenilen biyolojik olarak aktif bileşiklerin doğal bir kaynağıdır. Bu bileşikler, farklı yaşam bilimleri alanlarındaki potansiyel uygulamaları nedeniyle son yıllarda araştırmacılardan ve şirketler tarafından çokça ilgi görmüştür. Uygulamalar, gıda ve yem için biyokütle üretiminden tıp ve ilaç endüstrisi için biyoaktif bileşiklerin üretilmesine kadar uzanmaktadır.

Bu çalışmada antimikrobiyal aktivite gösteren mikroalg kaynaklı ekstraktlar ile cerrahi iplik materyalinin kaplanmasıyla cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesi, kimyasallara dirençli bakterilerin önüne geçilmesi, antibakteriyel etkinin devamlılığının sağlanması ve böylece sanayi arayışına fayda sağlanacak olması amaçlanmıştır. İlk olarak farklı şözücüler ve sonikasyon ile elde edilen *Spirulina*

*platensis*, *Haematacoccus pluvialis*, *Chlorella minutissima*, *Botryococcus braunii* ve *Nostoc muscorum* ekstraktları ile cerrahi iplikler kaplanıp *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı disk difüzyon testi ile antibakteriyel etkileri test edilmiştir. Biyouyumluluk sitotoksisite testi ile değerlendirilmiştir.

Tüm kaplanmış cerrahi iplikler antibakteriyel etki gösterirken Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi'nin çap ve düğüm kopma mukavemeti değerlerini de karşılamıştır. Biyouyumluluk açısından *Spirulina platensis* ve *Nostoc muscorum* ekstraktları ile kaplanan cerrahi iplikler ISO 10993-5'e göre kabul edilebilir sitotoksik seviyeler sergilemiştir. İnsan uygulaması için en yüksek potansiyeli *Spirulina platensis* ekstraktı göstermiştir. Sonuç olarak, antimikrobiyal aktiviteye sahip mikroalg ekstraktları ile kaplanmış cerrahi iplikler cerrahi alan enfeksiyonlarının kontrolü ve önlenmesi için yeni alternatif malzemeler olarak düşünülebilir.

**Anahtar sözcükler:** Mikroalg, *Spirulina platensis*, *Haematacoccus pluvialis*, *Chlorella minutissima*, *Botryococcus braunii*, *Nostoc muscorum*, antibakteriyel aktivite, cerrahi iplik, antibakteriyel cerrahi iplik, cerrahi alan enfeksiyonları

**ABSTRACT****COATING OF SURGICAL SUTURES WITH MICROALGAE  
EXTRACT WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY**

TOKGÖZ, Merve

MSc in Bioengineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Suphi Ş. ÖNCEL

August, 2019, 87 pages

Sutures can cause surgical site infections due to capillary effects that allow bacteria to penetrate wounds. Sutures serve as excellent surfaces for microbial adhesion followed by colonization, biofilm formation, and surgical site infection. Various antimicrobial sutures have been developed to prevent surgical site infection from sutures. However, depending on the surgical site, antimicrobial sutures may be ineffective and may have drawbacks of antimicrobial agents on them. Microalgae are a natural source of highly active biologically active compounds. These compounds have received much attention from researchers and companies in recent years due to their potential applications in different life sciences. Applications include the production of biomass for food and feed, and the production of bioactive compounds for the medical and pharmaceutical industries.

In this study, it was aimed to prevent surgical site infections by coating the suture material with microalgae-derived extracts showing antimicrobial activity, to prevent the bacteria resistant to chemicals, to ensure the continuation of the antibacterial effect and thus to benefit the industry search. Firstly, sutures were coated with *Spirulina platensis*, *Haematacoccus pluvialis*, *Chlorella minutissima*, *Botryococcus braunii* and *Nostoc muscorum* extracts obtained by different solvents and

sonication and antibacterial effects were tested against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. Biocompatibility was evaluated by cytotoxicity test.

All coated sutures showed antibacterial effect and met the diameters and knot breaking strength values of the United State Pharmacopoeia. In terms of biocompatibility, sutures coated with *Spirulina platensis* and *Nostoc muscorum* extracts have acceptable cytotoxic levels according to ISO 10993-5. *Spirulina platensis* extracts have shown the highest potential for human application. As a result, sutures coated with microalgae extracts with antimicrobial activity can be considered as new alternative materials for the control and prevention of surgical site infections.

**Keywords:** Microalgae, *Spirulina platensis*, *Haematacoccus pluvialis*, *Chlorella minutissima*, *Botryococcus braunii*, *Nostoc muscorum*, antibacterial activity, suture, antibacterial suture, surgical site infection

## ÖNSÖZ

Biyomühendislik mesleğinin devamlılığı açısından hem sektörel hem de akademik alanda, önemli bir adım olan yüksek lisans eğitimimi tamamlamış bulunmaktayım. Mesleğimin ayrıntılarını öğrenmek adına önemli bir basamak olan bu süreci tamamladığımı düşünürken önümde aşmam gereken birçok engel olduğunun da farkındayım. Bu süreçte; ilminden faydalandığım ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, Doç. Dr. Suphi Ş. ÖNCEL'e, diğer uzmanlık alanlarına sahip, bana yardımcı olan hocalarıma ve ekiplerindeki herkese; şu anda çalışmakta olduğum Katsan ailesine, bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan aileme ve dostlarıma teşekkürü borç bilirim.

İZMİR

26/08/2019

Merve TOKGÖZ



**İÇİNDEKİLER****Sayfa**

İÇ KAPAK .....	i
KABUL ONAY SAYFASI.....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
ÖNSÖZ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xv
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mikroalgler ve Özellikleri.....	3
2.2. Mikroalglerin Antibakteriyel Aktivitesi.....	5
2.2.1. Mikroalglerden elde edilen antibakteriyel bileşik çeşitliliği .....	7
2.2.2. Mikroalglerden antimikrobiyal aktiviteyi elde etme teknikleri.....	8
2.3. <i>Spirulina platensis</i> .....	10
2.4. <i>Heamatococcus pluvialis</i> .....	12

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<b><u>Sayfa</u></b>
2.5. <i>Botryococcus braunii</i> .....	13
2.6. <i>Nostoc muscorum</i> .....	14
2.7. <i>Chlorella minutissima</i> .....	15
2.8. Mikroalglerin Üretimini Etkileyen Parametreler .....	15
2.8.1. Işık.....	16
2.8.2. Besin maddesi .....	17
2.8.3. Sıcaklık.....	18
2.8.4. pH.....	19
2.8.5. Karıştırma.....	19
2.9. Cerrahi İplikler .....	19
2.9.1. Antibakteriyel cerrahi iplikler.....	20
2.9.2. Antibakteriyel cerrahi iplikler için kullanılan ajanlar .....	22
2.9.3. Mikroalglerin cerrahi ipliklerde kullanım potansiyeli .....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Gereç .....	26
3.1.1. Mikroalg türleri.....	26
3.1.2. Kimyasallar.....	26

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<b><u>Sayfa</u></b>
3.1.3. Cihaz ve ekipmanlar.....	28
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Mikroalgal besi ortamının hazırlanması .....	30
3.2.2. Mikroalgal kültürlerinin hazırlanması ve devamlılığı .....	31
3.2.3. Yapılan analizler.....	34
3.2.4. Hasat işlemi .....	35
3.2.5. Antibakteriyel aktivite denemeleri .....	35
3.2.6. Cerrahi iplik çap ve maksimum dayanım kuvveti ölçümü .....	42
3.4.7. Sitotoksosite testi.....	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	44
4.1. Yapılan Analizler .....	44
4.1.1. pH ölçümü .....	44
4.1.2. Kuru ağırlık ölçümü .....	45
4.1.3. Hücre yoğunluğu ölçümü .....	46
4.2. Antibakteriyel Aktivite Denemelerinin Sonuçları .....	48
4.2.1. Disk difüzyon testi sonuçları .....	48
4.2.2. Cerrahi ipliklerin mikroalg ekstraktları ile kaplanması.....	51

**İÇİNDEKİLER (devam)****Sayfa**

4.2.3. Kaplanmış cerrahi ipliklerin antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi ..	54
4.3. Cerrahi iplik Çap ve Maksimum Dayanım Kuvveti Ölçüm Sonuçları .....	61
4.4. Sitotoksosite Testi Sonuçları .....	63
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	65
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	67
TEŞEKKÜR.....	83
ÖZGEÇMİŞ .....	85

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 3-1 Petride <i>N. muscorum</i> (a) ve <i>B. braunii</i> (b) üretimi .....	32
Şekil 3-2 Erlen çapında mikroalg üretimi .....	33
Şekil 3-3 1 L ve 2 L kabarcık kolon reaktörlerde mikroalg üretimi.....	33
Şekil 3-4 <i>C. minutissima</i> için santrifüj sonrası elde edilen süpernatant(a) ve evaporasyon ile solventin uzaklaştırılması işlemi (b).....	36
Şekil 3-5 Evaporasyon sonrası elde edilen <i>S. platensis</i> (a), <i>H. pluvialis</i> (b) ve <i>B. braunii</i> (c) ekstraktları.....	36
Şekil 3-6 Cerrahi ipliklerin mikroalg ekstraktları ile kaplanması (a) ve kurutma sonrası <i>S. platensis</i> kaplı PGLA cerrahi ipliği (b) .....	39
Şekil 3-7 Kurutma sonrası <i>H. Pluvialis</i> kaplı PDO ve PGLA cerrahi ipliği .....	39
Şekil 3-8 ISO-20654 'e göre inhibisyon zonu hesaplama formülü.....	40
Şekil 3-9 İnkübasyon öncesi <i>E.coli</i> emdirilmiş petrilere yerleştirilen PGLA cerrahi iplik ve disk örnekleri(a), ve 37°C etüve yerleştirilen cerrahi iplik ve disk örnekleri (b) .....	41
Şekil 3-10 Dügüm kopma mukavemet testi yapmak üzere Devotrans cihazına yerleştirilen PDO (a) ve PGLA (b) cerrahi iplikleri .....	42
Şekil 4-1 Üretimi gerçekleştirilen mikroalgler için pH ölçüm grafiği .....	45
Şekil 4-2 Üretilen mikroalgler için kuru ağırlık grafiği .....	46
Şekil 4-3 Üretimi yapılan mikroalglerin hücre yoğunluğu grafiği.....	47

**ŞEKİLLER DİZİNİ(devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Şekil 4-4</b> <i>E. coli</i> (a) ve <i>S. aureus</i> (b) bakteri suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivite .....	48
<b>Şekil 4-5</b> <i>B. braunii</i> ekstraktı ile kaplanmış PGLA (a) ve PDO (b) cerrahi ipliklerinin görüntüleri.....	52
<b>Şekil 4-6</b> Kaplanmış PDO cerrahi ipliklerinin antibakteriyel aktivitelerinin görüntüsü .....	55
<b>Şekil 4-7</b> Kaplanmış (a,b,c) ve kaplanmamış(d) PGLA cerrahi ipliklerinin antibakteriyel aktivite görüntüleri.....	57
<b>Şekil 4-8</b> Düğüm kopma mukavemet testi sonucu PGLA (a) ve <i>S. platensis</i> ekstraktı kaplı PGLA cerrahi ipliği (b) raporu.....	62
<b>Şekil 4-9</b> 5 farklı mikroalg ekstraktı ile kaplanan PDO cerrahi ipliği L929-MTT (24.saat) grafiği .....	63
<b>Şekil 4-10</b> 5 farklı mikroalg ekstraktı ile kaplanan PGLA cerrahi ipliği L929-MTT (24.saat) grafiği .....	64

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 3-1</b> Kullanılan Kimyasallar .....	26
<b>Çizelge 3-2</b> Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar .....	28
<b>Çizelge 3-3</b> BG-11 Besi Ortamı İçeriği.....	30
<b>Çizelge 3-4</b> İz element solüsyonu içeriği .....	31
<b>Çizelge 4-1</b> Denemelerde kullanılan mikroalglerin antibakteriyel aktiviteleri .....	49
<b>Çizelge 4-2</b> Cerrahi ipliklerin içerdikleri mikroalg ekstrakt miktarları.....	53
<b>Çizelge 4-3</b> Kaplanan cerrahi ipliklerin inhibisyon zon boyutları(mm) .....	59
<b>Çizelge 4-4</b> Kaplanan cerrahi ipliklerin çap ve düğüm kopma mukavemeti değerleri .....	61



**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
O <sub>2</sub>	Oksijen
L	Litre
mL	Mililitre
m	Metre
cm	Santimetre
nm	Nanometre
g	Gram
mg	Miligram
dk	Dakika
rpm	Devir/dakika (Revolution per minute)
pH	Asitlik veya bazlık derecesi (Power of Hydrogen)
vvm	Hacim/hacim/dk

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
LED	Light Emitting Diode
GF/C	Cam Mikrofiber Filtre Kağıdı (Glass Microfibre Filters)
BG-11	Blue Green Algae
CAE	Cerrahi Alan Enfeksiyonu (Surgical Site Infection)
ATP	Adenozin trifosfat
NADPH <sub>2</sub>	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

## 1. GİRİŞ

Mikroalgler, biyolojik olarak aktif bileşiklerin doğal bir kaynağıdır. Bu bileşikler, farklı yaşam bilimleri alanlarındaki potansiyel uygulamaları nedeniyle son yıllarda araştırmacılar ve şirketler tarafından da ilgi görmüştür. Uygulamalar, gıda ve yem için biyokütle üretiminden tıp ve ilaç endüstrisi için biyoaktif bileşiklerin üretilmesine kadar uzanmaktadır (Harun, et al., 2010). Mikroalglerin biyolojik çeşitliliği ve genetik mühendisliğindeki son gelişmeleri göz önüne alındığında bu mikroorganizma grubu, yeni ürünler ve uygulamalar için en umut verici kaynaklardan biridir (Ibañez & Cifuentes, 2013). Günümüzde yapılan çalışmalar mikroalgal metabolizma ürünlerinin yalnızca doğasını araştırmakla kalmayıp aynı zamanda farklı alanlardaki olası uygulamalarını araştırmak için de yapılmaktadır (Morais et al., 2015)

Cerrahi alan enfeksiyonları cerrahi işlemlerden sonra ortaya çıkan komplikasyonlardır (Chen et al., 2015). Günümüzde biyomalzemelerin kullanımına bağlı komplikasyonların artışı nedeniyle cerrahi alan enfeksiyonları dikkat çekici bir konu haline gelmiştir (Rouhollahi et al., 2018). Cerrahi cerrahi iplik malzemesine bakteri yapışması, cerrahi alan enfeksiyonlarına yol açabilecek biyofilm oluşumundaki ilk adımdır. Bu nedenle, bu dönemde bakteriyel yapışmanın ve / veya yapışan bakterilerin önlenmesi, cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesinde önemlidir. Cerrahi alan enfeksiyonlarını önlemek için antimikrobiyal yüklü cerrahi iplikler geliştirilmiştir (Ercan et al., 2018).

Antimikrobiyal aktiviteye sahip mikroalglerin araştırılması, son yıllarda antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların enfeksiyon oranındaki artışla ilgili endişe duyulmasıyla önem kazanmıştır. Biyolojik olarak aktif maddelerin mikroalgler tarafından sentezlendiği kanıtlanmıştır. Mikroalglerin antibakteriyel, antifungal, sitotoksik, algosit, immünosupresif ve antiviral etkiler gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri olan hücre içi ve hücre dışı metabolitleri ürettiği bilinmektedir (Kaushik & Chauhan, 2008).

Yapılan çalışma ile literatürde antibakteriyel aktivitesi belirtilmiş olan *S. platensis*, *H. pluvialis*, *C. minutissima*, *B. braunii* ve *N. muscorum* mikroalg ekstraktlarının cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesinde geliştirilebilecek antibakteriyel aktiviteye sahip cerrahi ipliklerin eldesinde kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mikroalgler ve Özellikleri

Algler genellikle klorofil ve diğer pigmentler yoluyla fotosentez gerçekleştiren; yeşil, kırmızı, kahverengi gibi çeşitli renklerde çok hücreli veya tek hücreli olabilen organizmalardır. Algler sucul bitkiler olarak görünseler de yaprakları, kökleri ve embriyoları olmadığı ve gerçek bir bitki özelliği göstermedikleri için ayrı bir sınıfa aittirler (Eloka-Eboka & Inambao, 2017).

Alg grubu, MAKROALG olarak bilinen çok hücreli organizmalara ve MİKROALG olarak bilinen tek hücreli organizmalara ayrılır. Makroalgler genellikle hızlı büyür ve 60 m uzunluğa ulaşır. Makroalgler için pigmentlerine göre üç gruba ayırarak standart bir sınıflandırma belirlenmiştir: i) kahverengi deniz makroalgi (Phaeophyceae); ii) kırmızı makroalgi (Rhodophyceae) ve iii) yeşil makroalgi (Chlorophyceae). Yosunlar, temel olarak gıda üretimi ve hidrokolloidlerin çıkarılması için kullanılır.

Mikroalgler normalde süspansiyon halinde yetişen, bazıları bakteri özelliğine sahip mikroskobik canlılardır. Bu algler deniz suyunda, ışığın girdiği bölgede (fiziki bölge), temel olarak 200 metre derinliğe kadar büyür (Pina-Pérez et al., 2017). Mikroalgler, hemen hemen tüm ekosistemlerde bulunan ve yaklaşık 3-10 µm çapında veya çeşitli boyda değişik şekillere sahip tek hücreli mikroorganizmalardır (Falaise et al., 2016; Morais et al., 2015). Mikroalg terimi, prokaryotik ve ökaryotik organizmaları içerir (Morais et al., 2015). Mikro algler dört gruba ayrılır: siyanobakteriler (mavi-yeşil algler), rhodofitler (kırmızı algler), klorofitler (yeşil algler) ve kromofitler (diğer tüm algler).

Her grup yüzlerce tür içerir ve bu türlerin her birinin binlerce suşu vardır. Fayda için bu çeşitlerin sadece küçük bir kısmı çalışılmıştır. En yaygın kullanılan mikroalgler, Cyanophyceae (mavi-yeşil algler), Chlorophyceae (yeşil algler), Bacillariophyceae

(diatomlar dahil) ve Chrysophyceae (altın algler)' dir(Mobin & Alam, 2017).Siyanobakteriler ve bakteriler çok benzer yapısal özelliklere sahiptir; bununla birlikte, klorofil *a* ve fotosentezle ilgili bileşikler içerdikleri için mikroalg olarak sınıflandırılırlar (Morais et al., 2015).

Mikroalgler, yaklaşık 30.000'inin belgelendiği 300.000'den fazla türe sahiptir. Karmaşık doğal ortamlarda yaşarlar ve aşırı koşullara (örneğin değişken tuzluluk, sıcaklık, besin maddeleri, UV ışınması) hızla adapte olabilirler (Mobin & Alam, 2017). En geniş ototrofik mikroorganizma grubu olan mikroalgler hızlı büyüme oranına sahiptir. Doğal ışık kaynağı güneşi veya yapay ışık kaynaklarını kullanarak, makro ve mikro elementleri fotosentez prosesiyle,bitkilere benzer olarak ancak onlardan 10-50 kat daha verimli şekilde CO<sub>2</sub>'yi biyoenerjiye dönüştürürler ve stres faktörlerinin olduğu zorlu koşullarda dahi yetişebilirler (Tandon & Jin, 2017). Bu nedenle, genellikle diğer organizmalarda bulunmayan yeni yapıları ve biyolojik aktiviteleri olan çok çeşitli sekonder metabolitleri (biyolojik olarak aktif) üretebilirler (Mobin & Alam, 2017).

Mikroalgler son derece rekabetçi ortamlarda gelişip, çok çeşitli tüketiciler arasından büyük ölçüde sıyrılıp ve bakteri, virüs ve mantar gibi mikrobiyal patojenlere maruz kalıp hayatta kalabilmek için tolerans ya da savunma stratejileri geliştirmek zorunda kalmışlardır. Bu mekanizmaların çeşitliliği, çeşitli metabolik yollardan sentezlenen yüksek çeşitlilikte bileşiklerle sonuçlanmıştır (Falaise et al., 2016).

Mikroalgler, lipitler, proteinler, karbonhidratlar, pigmentler ve polimerler gibi yüksek beslenme değeri ve terapötik işlevleri olan biyobileşikleri geliştirmek ve sentezlemek için ışık enerjisi ve inorganik besleyicileri (karbondioksit, azot, fosfor vb.) kullanan ototrofik mikroorganizmalardır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, mikroalglerin, karotenoidler, fikobilinler, çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, polisakaritler, vitaminler ve steroller gibi farklı biyolojik aktivitelerde farklı kimyasal bileşikler üretebildiğini bildirmiştir (Bhagavathy et al., 2011; Markou & Nerantzis,

2013). Bu tür bileşikler antibakteriyel, antiviral, antifungal, antialgal, antienzimatik veya antibiyotik etki gösterebilirler (Volk, 2008). Birçok mikroalg için bu biyoaktif bileşikler biyokütlerde toplanır. Bazı durumlarda ise biyoaktif metabolitler ortama atılır ve bu metabolitlere de ekzo metabolitler denir. Mikroalgal kaynaklı biyoaktif metabolitler tıbbi, farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrisi için yeni ürünlerin geliştirilmesine yardımcı olabilmektedir (Morais et al., 2015). Ekstraktların eldesi veya farklı mikroalglerden metabolitlerin izolasyonu, bu bileşenlerin biyolojik aktivitesini belirlemek için kullanılan yaygın bir yöntemdir (Morais et al., 2015). Bu bileşiklerin bir probiyotik, nutrasötikler, kemopreventif ajan veya antimikrobiyal ilaç kaynağı olarak kullanılması araştırılmış ve ümit verici sonuçlar ortaya koymuştur (Falaise et al., 2016).

## **2.2. Mikroalglerin Antibakteriyel Aktivitesi**

Son on yılda, patojenik bakterilerin antibakteriyel maddelere karşı direncinde önemli bir artış görülmüştür (Amaro et al., 2011). Patojenik bakterilerin antibiyotiğe karşı artan direnci insan sağlığı için endişe kaynağı oluşturmuş ve yeni antibakteriyel madde bulma çabalarını zorlaştırmıştır (Mayer et al., 2013; Shannon & Abu-Ghannam, 2016). Bu nedenle, antimikrobiyal direncin altında yatan mekanizmaların daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasına dikkat edilmiştir. Bunlar direnci saptamak için geliştirilmiş yöntemlerin yanı sıra, dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için yeni antimikrobiyal seçenekler ve ilk başta direncin ortaya çıkmasını ve yayılmasını önleyen yöntemlerdir. Çabaların çoğu, çeşitli nedenlerden dolayı bakterilerde antibiyotik direnci araştırmasına adanmıştır: (i) bakteriyel enfeksiyonlar toplum kökenli ve hastane kaynaklı enfeksiyonların çoğundan sorumludur; (ii) büyük ve genişleyen antibakteriyel sınıfların sayısı daha çeşitli direnç mekanizmaları sunar; ve (iii) bakteriyel direnç belirleyicilerini standart, iyi karakterize edilmiş bakteri suşlarına taşıyabilmek, altta yatan moleküler mekanizmaların daha ayrıntılı çalışılmasını kolaylaştırmaktadır (Amaro et al., 2011) .

Yeşil alg *Chlorella*'nın çeşitli Gram-pozitif (G+) ve Gram-negatif (G-) bakterilere karşı aktivitesini gösteren 1944'teki Pratt'ın öncü çalışmaları, mikroalglerden anti bakteriyel bileşiklere duyulan ilgiyi arttırmıştır. Mikroalglerde antibakteriyel aktiviteye sahip bileşikleri tespit etmek, bakteriyel enfeksiyonlara karşı yeni ilaçlar geliştirmek veya gıda koruyucuları için katkı maddeleri geliştirmek için çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (Falaise et al., 2016).

Bu nedenle, çeşitli mikroalg ekstraktlarının patojenik ve gıda kaynaklı bakterilere karşı potansiyel antibakteriyel aktivitesini değerlendirmek için geniş tarama programları uygulanmıştır. Çeşitli bölgelerden, özellikle deniz ortamından, ayrıca tatlı su ortamından ve hatta topraktan kaynaklanan hem (G+) hem de (G-) bakterilere karşı etkili antibakteriyel aktivite gösteren sayısız mikroalg türünün bulunduğu görülmüştür (Falaise et al., 2016). 1953 yılında yapılan çalışmalarda mikroalglerin antibiyotik ürettiği ve daha sonra çok sayıda mikroalg ekstraktı ve ekstraselüler ürünün antimikrobiyal (antibakteriyel, antifungal) aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. 1988'de yapılan bir çalışmada 300 tatlı su alginin %10'unda antibakterial aktivite, 532 deniz ve tatlı su alginin ise %5'inde antifungal aktivite saptanmıştır (Borowitzka, 1999).

Mikroalg türlerinin yanı sıra, mikroalg özütlerindeki antibakteriyel bileşiklerin varlığı ekstraksiyon sırasında kullanılan çözücüye de büyük ölçüde bağlıdır. Biyolojik aktivite nadiren sulu ekstraktlarda bulunduğundan, mikroalglerde gıda kaynaklı ve insan patojenik bakterilerine karşı etkinliğe sahip bileşiklerin çoğunlukla hidrofobik olduğu ve organik solventlerle daha kolay ekstrakte edilebileceği görülmektedir (Falaise et al., 2016). Bazı çalışmalar antibakteriyel aktivitenin genellikle metanolik ekstraktlarda bulunduğunu (Mudimu et al., 2014), diğer bazı çalışmalar ise aseton (Walter, 2016), benzen ve etil asetat (Bhagavathy et al., 2011) veya petrol eteri ve hekzan (Herrero et al., 2006) kullanılarak daha iyi bir ekstraksiyon tanımlamıştır.

### 2.2.1. Mikroalglerden elde edilen antibakteriyel bileşik çeşitliliği

Bazı çalışmalarda, organik ekstraktlarda bulunan antibakteriyel bileşikler tanımlanmıştır. Bu biyoaktif bileşikler, fikobiliproteinler (Najdenski et al., 2013) veya klorofil türevleri (Bruce&Duff, 1967) gibi pigmentler olabilir, ancak çoğu zaman serbest yağ asitleridir. *H. pluvialis*'ten (Rodríguez-Meizoso et al., 2010) kısa zincirli yağ asitleri ve *Scenedesmus obliquus*'tan (Guedes et al., 2011) uzun zincirli yağ asitleri *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterir. Chlorococcum suşu HS-101 ve *Dunaliella primolecta*'dan gelen çoklu doymamış yağ asitleri, yılda binlerce ölüme neden olan ve geleneksel antibiyotiklere karşı oldukça dirençli olabilecek bir bakteri olan metisiline dirençli *S. aureus*'a (MRSA) karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Ohta et al., 1995). Desbois ve arkadaşları ayrıca MRSA'ya karşı çok kuvvetli bir antibakteriyel aktiviteye sahip olan diatom *Phaeodactylum tricornutum*'dan elde edilen yağ asitlerini de bulmuştur ve antibakteriyel aktiviteye katılan üç farklı doymamış yağ asitini karakterize etmiştir: çoklu doymamış yağ asidi eikosapentaenoik asit, tekli doymamış yağ asidi palikotoik asit ve nispeten sıradışı çoklu doymamış yağ asidi heksadekatrienoik asittir (Desbois et al., 2008; Desbois et al., 2009).

Doğal ortamlarda, mikroalg hücresi bütünlüğünü kaybettiğinde yağ asitleri salınır ve bir alg popülasyonunu avcılara karşı korumak için “aktif” bir savunma mekanizması sergilenir (Smith et al., 2010). Ayrıca, yağ asitlerinin, çeşitli bakteri çeşitlerine karşı bakteri öldürücü özelliklere sahip olduğu daha önce gösterilmiştir (Kabara, et al., 2013). Biyoaktif bileşiklerin antibakteriyel aktivitesinin kesin mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır, ancak bakteriyel hücre membranlarının ana etki bölgesi olduğu görülmektedir. Hücre kaçağı, besin alımının azalması ve hücre solunumunun azalmasına yol açan, yağ asitlerinin bakteriyel zardaki zararlı etkilerine dair bazı kanıtlar vardır (Smith et al., 2010). Yağ asitlerinin antibakteriyel etkisine bakteri yağ asidi sentezinin inhibisyonu da aracılık edebilir (Falaise et al., 2016).

Antimikrobiyaller genellikle karmaşık, çok katmanlı hücre duvarı yapıları nedeniyle Gram (-) bakterilere karşı daha az etkilidir, bu da aktif bileşiğin bunlara nüfuz etmesini zorlaştırır; süpernatantların antibakteriyel aktivitesinin Gram (+) 'a karşı Gram (-) bakterilerden daha güçlü olmasının nedenini haklı çıkarır(Amaro et al., 2011). Bu mekanizmalarda neden Gram (+) bakterilerin mikroalg biyoaktif bileşiklere Gram (-) bakterilerden daha duyarlı olduklarını açıklayabilir. Aslında, mikroalg Gram (-) bakterilere karşı test edildiğinde bakteriyel üreme inhibisyonu genellikle daha düşüktür ve bazı durumlarda test edilen ekstraktlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermez. Dolayısıyla, bakterilerin hassasiyetleri arasındaki fark, karmaşık zar geçirgenliği nedeniyle olabilir ve bu da bileşiğin nüfuz etmesini ve antibakteriyel etkilerini daha da zorlaştırır (Falaise et al., 2016).

### **2.2.2. Mikrolglerden antimikrobiyal aktiviteyi elde etme teknikleri**

Antimikrobiyal bileşiklerce zengin mikroalglerin istenilen, seçici özlerini elde etmek için çeşitli ekstraksiyon teknolojileri uygulanmaktadır (Dai & Mumper, 2010). 70'lerin sonlarından bu yana, katı-sıvı ekstraksiyonuna dayanarak, genel olarak organik çözücüler, örneğin [kloroform: metanol] karışımları veya aseton kullanılarak, mikroalglerden antimikrobiyal aktiviteyi elde etmek için çeşitli işlemler geliştirilmiştir Ek olarak, seçiciliği artırmak için ultrafiltrasyon işlemleri gibi bazı işlemler eklenmektedir. Diğer yöntemler, proteini çökeltmek için birinci aşamada etanol, ardından hekzan, bütanol veya etil asetat ile ikinci aşama bir özütleme kullanır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, homojen bir çözelti oluşturmak için üçlü çözücü karışımları kullanmanın mümkün olduğunu, özütleyici içindeki bileşiklerin yüksek çözünürlüğüne dayanarak, tek bir evre ile ekstrakte edilen bileşiklerin ekstraksiyon verimini ve saflığını önemli ölçüde arttırmanın avantajını göstermiştir(Parniakov et al., 2015).

Mikroalglerin antimikrobiyal potansiyeli, çözücünün bazı biyoaktif bileşikleri çözme kapasitesine ve ayrıca seçici olarak özütlenen bileşiklere bakteri veya

mantarların duyarlılığına bağlıdır (Al-Saif et al., 2014). Genel olarak, Soxhlet, katı-sıvı ekstraksiyonu veya sıvı-sıvı ekstraksiyonu gibi bu geleneksel ekstraksiyon teknikleri, yüksek miktarda solvent kullanan ve düşük ekstraksiyon verimleri elde eden zaman alıcı prosedürlerdir (Pina-Pérez et al., 2017).

Mikroalglerden biyoaktif bileşikler elde etmek için temiz teknolojilerin kullanımı konusundaki çalışmalar, uluslararası bilim camiasının ve Ar-Ge mühendislerinin süperkritik akışkan ekstraksiyonu, yüksek yoğunluklu darbeleri elektrik alanları kullanarak t-ultrasonik destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu, ekstrakte edilen bileşiklerin kalitesini ve biyolojik aktivitesini mümkün olduğunca korumak için basınç ve sıcaklık kullanarak ekstraksiyon gibi teknolojilere yatırım yapmalarını sağlamıştır. Hücre duvarlarının enzimatik bir yolla bozulması da mikroalg muamelesinde (örneğin *Chlorella vulgaris*'de) kullanılmıştır, ancak endüstride yaygın olarak uygulanması hala çok pahalıdır (Hammed et al., 2013).

CO<sub>2</sub> kullanarak süper kritik akışkan ekstraksiyon işlemi, alglerden biyoaktif bileşikler elde etmek için en gelişmiş tekniklerden biridir. Arzu edilen fonksiyonel bileşikler bakımından yüksek saflıkta ve zengin özütler elde etmenin yüksek verimli ve hızlı bir yoludur, ancak endüstriyel ölçekte bir yöntem olarak nispeten pahalı kalmaktadır (Mendiola et al., 2017).

Ultrasonik destekli ekstraksiyon, alg hücresi duvarlarına uygulanan mekanik akustik kaviteye etkilerine dayanmaktadır. Başlıca avantajları arasında, ekstraksiyon işleminin oda sıcaklığında etkinliği ve asgari düzeyde biyolojik olarak aktif bileşik kaybı vardır. Mikro alglerde, ultrasonik destekli ekstraksiyon kullanımı iyi sonuçlarla yaygın şekilde kullanılmaya başlanmış ve devam etmektedir (Adam et al., 2012).

Yüksek yoğunluklu elektrik atımlarının kullanımı, yüksek voltaj atımlarının uygulanmasının hücresel materyali bozduğu, proteinler, klorofiller ve karotenoidler

gibi bileşenlerin serbest bırakılmasını kolaylaştırdığı bir yöntemdir. *Spirulina* ve *Chlorella* türlerinden biyoaktif özütlerde başarıyla uygulanmıştır. Metod, elektroporasyon teorisine dayanmaktadır, çünkü hücre zarında meydana gelen iletkenlik ve geçirgenlik değişiklikleri, hücre içi bileşenlerin çevreye salınmasına izin veren küçük gözeneklerin oluşumunu desteklemektedir (Parniakov et al., 2015).

Bu tez kapsamında seçilen 5 farklı mikroalg türünde antimikrobiyal aktiviteyi elde etmek için solvent kullanımı ve ardından sonikasyon yöntemi uygulanmıştır.

### 2.3. *Spirulina platensis*

*Spirulina platensis*, 3 milyon yıl önce ortaya çıkan, mevcut oksijen atmosferini oluşturan Cyanophyta'ya ait prokaryotik siyanobakteridir ve gezegenin biyosferinin düzenlenmesinde önem taşımaktadır (Morais et al., 2015).

*Spirulina* (Arthrospira) havadan azot kullanan simbiyotik, çok hücreli ve filamentli mavi-yeşil bir mikroalgdir. İki farklı şekli vardır: spiral çubuk veya disk benzeri. *Spirulina* fotosentetiktir ve ikili bölünme ile ürerler. *Spirulina*'nın ana fotosentetik pigmenti fikosiyanindir (mavi renk). *Spirulina* ayrıca klorofil-a ve karotenoidleri içerir. Bazıları, mikroalgin rengini kırmızı veya pembeleştirilen pigment fitoyrin içerir. (Mobin & Alam, 2017).

*Spirulina*; proteinler, vitaminler, esansiyel amino asitler, mineraller ve esansiyel çoklu doymamış yağ asidi ve fikosiyanin, ksantofil ve zeaksantin dahil pigmentler bakımından zengindir (Mobin & Alam, 2017). Yüksek besin değeri ve aktif biyolojik bileşiklerin varlığı gibi özellikler nedeniyle, bu mikroorganizma dünya çapında en çok çalışılan mikroalglerden biridir. *Spirulina* kuru ağırlığının % 50 ila 70'ini protein içeriği, % 10 ila 20'sini karbonhidrat içeriği ve % 5 ila % 10'unu lipit içeriği oluşturur (Morais et al., 2015). *Spirulina*'nın temel amino asitleri lösin, izolösin ve valindir. Ayrıca göreceli olarak yüksek provitamin A, B12 vitamini, K vitamini ve  $\beta$ -karoten

konsantrasyonu içerir. *Spirulina*'nın yağ asitleri linolenik ve  $\gamma$ -linolenik asit ve  $\omega$ -3 ve  $\omega$ -6 poli doymamış yağ asitleri içerir. *Spirulina platensis*, toplam yağ asitlerinin% 9.1'ini oluşturan doğal bir dokozahekzaenoik asit (DHA) kaynağıdır (Mobin & Alam, 2017).

*Spirulina*, büyük ölçekli dış mekan kültürü için iyi çalışılmış alglerden biridir. En iyi yüksek pH (9-11) ve yüksek bikarbonat konsantrasyonlarında büyür. Sıcaklığın *Spirulina*'nın verimliliği üzerinde büyük etkisi vardır. 35 °C ile 37 °C arasındaki sıcaklıklarda optimum büyüme sıcaklığına sahiptir (Mobin & Alam, 2017). *Spirulina* 'nın mineral içeriği, içinde büyüdüğü suya bağlıdır ve demir, kalsiyum ve magnezyum içeriği yüksek besin değeri sağlar (Mobin & Alam, 2017)

Bu mikroalg, B1, B2, B12 ve E vitamini bakımından zengindir (özellikle vitamin B12). Ayrıca, *Spirulina* demir, kalsiyum, magnezyum, fosfor ve potasyumdan en yüksek pigment, mineral ve oligoelement içeriğine sahiptir. Bazı çalışmalar, antioksidan özelliklerinden ötürü pigmentlerin üretimi için bu mikroalgin kullanıldığını göstermiştir.  $\beta$ -Karoten, *Spirulina* 'da bulunan karotenoidlerin yaklaşık % 80'ini temsil eder ve tokoferoller, fikosiyenin ve fitoeritrin gibi diğer bileşenler de bileşiminin bir parçasıdır (Priyadarshani & Rath, 2012).

Siyanobakterilerin, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitümör, anti-inflamatuar, antioksidan, herbisit ve bağışıklık bastırıcı etkiler gibi potansiyel biyolojik aktivitelerle hücre içi ve hücre dışı metabolitleri ürettiği bilinmektedir (El Semary, 2011; Rastogi & Sinha, 2009). *Spirulina* 'nın terapötik önemi birçok çalışmada bildirilmiştir. Bunlara kanser, HIV, şeker hastalığı, obezite ve hipertansiyonun tedavisinde, ağır metaller ve ilaçlara karşı korumada bağışıklık tepkisinin geliştirilmesinde ve diğerlerinin yanında serum ve lipid düzeylerinde azalma da dahildir (Colla et al., 2008; Colla et al., 2007).

#### 2.4. *Haematococcus pluvialis*

Yeşil mikroalg *Haematococcus pluvialis*, chlorophyceae grubuna aittir (Ba et al., 2016). Büyüme aşamalarında hem hareketli hem de hareketli olmayan formlara sahiptir. Birincisinde, armut biçimli bir hücrenin çapı 8 ila 50 µm arasında değişmektedir. Bu evrenin hücresel yapısı diğer aile üyelerinin çoğuna benzerdir; çok sayıda ve dağınık pirenoid ile fincan şeklinde bir kloroplast, protoplastın yüzeyinin yakınında sıklıkla sayısız ve görünüşte düzensiz bir şekilde dağılmış olan kasılma vakuolleri, bir çekirdek ve selüloz çeperi geniş açılı olarak perforasyon eden ön papilladan çıkan eşit uzunlukta 2 kamçı bulunur (Boussiba, 2000).

Yapının benzersizliği, kuvvetli bir şekilde kalınlaşmış, jelatinli ve genellikle basit veya dallı kamçılar ile protoplastına bağlanan hücre duvarı ile işaretlenmiştir (Ba et al., 2016; Boussiba, 2000). Bu tatlı su organizması, klorofiller ve proteinler bakımından zengin bir bitkisel hücre durumundan stres altında bulunan kapalı bir duruma geçebilmesi nedeniyle atipik bir yaşam döngüsüne sahiptir (Ba et al., 2016). Hareketsiz formunda, "palmella" adı verilen aşama olan küresel protoplast, sıkı bir şekilde yapışan bir palmella zarının içine sarılır ve flagella hariç, hücresel yapı, hareketli formuyla aynı kalır. Büyüme koşulları elverişli hale gelince, hücreler hacimlerini büyük ölçüde artırır ve hücrenin, kısmen sporopoline benzer maddelerden oluşan ağır dirençli bir selüloz çeperi ile çevrili olduğu bir dinlenme aşamasına girer. Bu genel süreç "ele geçirme" olarak adlandırılır. Protoplast daha sonra sekonder bir karotenoid, (astaksantin) olarak belirlenen belirgin bir kırmızı renk almaktadır. (Boussiba, 2000).

*Haematococcus pluvialis* yetiştiriciliği için fotoototrofik, heterotrofik ve mixotrofik (büyüme durumuna bağlı olarak), açık veya kapalı kanal havuzları veya fotobiyoreaktörler kullanılır (Mobin & Alam, 2017).

*Haematococcus pluvialis* çevresel stres altında, kuvvetli antioksidan özelliklere sahip astaksantin üretim yeteneğine sahiptir (Rodríguez-Meizoso et al., 2010). Astaksantin, *Haematococcus'taki* başlıca karotenoiddir ve esas olarak çeşitli yağ asitlerinin astaksantin esteri olarak bulunur. *Haematococcus pluvialis* kuru ağırlık bazında%2-3'e kadar astaksantin biriktirebilir( Mobin & Alam, 2017; Rao et al., 2010). Astaksantin, yaygın olarak kullanılan somon ve alabalıkta pigmentasyon kaynağı olarak kullanılır (Rao et al., 2010). Ayrıca, son yıllarda dikkat çeken astaksantin dahil olmak üzere yüksek miktarda sekonder metabolitler üretebilir (Ba et al., 2016). Astaksantin birikimi, ışık, sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu ve beslenme stresleri gibi çevresel faktörlerden etkilenir. *Haematococcus pluvialis'in* hücresel bileşimi, özellikle “yeşil” ve “kırmızı” yetiştirme aşamaları arasında değişmektedir (Mobin & Alam, 2017)

Astaksantin nutrasötik olarak ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon, inflamasyon, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun önlenmesi için kanser gibi dejeneratif hastalıklara karşı tıbbi bir bileşendir (Rao et al., 2010). Ayrıca, astaksantin ile antibakteriyel, antiviral ve / veya antifungal aktiviteye sahip farklı bileşikler de bu mikroalgde bulunmaktadır (Rodríguez-Meizoso et al., 2010).

Miki ve diğ. (1998), insan deneklerde astaksantin serum düşük yoğunluklu lipoprotein üzerindeki antioksidan etkisini bildirmiştir. Ayrıca hayvanlarda ve insanda önemli metabolik fonksiyonların gerçekleştirilmesi, bağışıklık tepkisinin güçlendirilmesi ve oksijen radikallerini temizleyerek dejeneratif hastalıklardan korunma gibi etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (Rao et al., 2010).

## **2.5. *Botryococcus braunii***

Tek hücreli fotosentetik mikroalga *Botryococcus braunii Chlorophyceae* sınıfına ait bir türdür ve tüm kıtaların taze ve acı sularında yaygındır (Banerjee et al., 2002). Koloni oluşturan ve lipit üreten bir organizmadır. *Botryococcus braunii* radyal

bölünme sonucu oluşan 4-8 adet otosporla eşeysiz olarak üremekte ve koloni büyüklüğü 30 µm ile 2 mm arasında değişmektedir (John et al., 2002). Lipit değeri yaklaşık %25-75 arasında değişmekle birlikte kuru ağırlığının %80' ine varan oranlarda hidrokarbonca zengin yağları sentezler. Büyüme için optimum sıcaklık 25°C'dir. *Botryococcus braunii* biyokütle artışı ve lipit miktarı; sıcaklığa, ortamdaki ışık yoğunluğuna, tuzluluğa, pH'a, azot ve fosfor miktarına bağlı olarak değişmektedir (Lupi et al., 1991).

Fosil yağına benzeyen yüksek miktarlarda hidrokarbon üretme kabiliyeti ile polisakkaritler, polyaldehitler ve sıvı hidrokarbonlardan oluşan hücre dışı bir matris (extracellular matrix) ile bir araya gelen tek tek hücrelerin kolonilerini oluşturur (Arévalo-Gallegos et al., 2018).

Bu alg esas olarak hidrokarbon, ekzopolisakkarit ve karotenoid üretimi ile tanınır. Karotenoidlerin varlığı B ve L suşlarında daha belirgindir. Büyümenin doğrusal aşamasında, her iki suş da neredeyse eşit miktarlarda Lutein bu suşların lineer fazındaki ana karotenoiddir (% 22-29) (Rao et al., 2010). Ayrıca *Botryococcus braunii*'nin karotenoid bileşimi ve antioksidan özellikleri Rao ve ark. tarafından raporlanmıştır (Rao et al., 2006).

## 2.6. *Nostoc muscorum*

Nostoc, filamentler olarak birbirine bağlanan küresel kolonileri oluşturan Nostocaceae familyasının nitrojen sabitleyici siyanobakteri ailesinin bir cinsidir ve toplu nitrojen mevcut olmadığında atmosferik nitrojen kullanma yeteneğine sahip yenilebilir bir mikroalgadır (Anshuman et al., 2013; Quan et al., 2015). Bu mikroalg, homojen bir hücre modeli ve filament oluşturan hücreler arasında düzenli bir uzaklık olan heterosistlere sahiptir (Anshuman et al., 2013). Heterosistler, mikroalgal biyokütlede amino asit sentezi için atmosferik azotu düzenler. Mikroalgal ekim

sırasında bir azot kaynağının yokluğunda, heterosistler oluşur ve bu besin maddesinin hücre büyümesi için sınırlandırılmasını önler (Morais et al., 2015)

Nostoc mikroalgal biyokütlesi tıp alanında protein, vitamin ve yağ asidi içeriğinden dolayı diyet ilave maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu mikroalgin tıbbi değeri, fistül tedavisinde ve bazı kanser türleri için kullanıldığı kanıtlanmıştır (Temina et al., 2007). Birçok çalışma, Nostoc'un antimikrobiyal, antiviral ve antikanser aktivitesi olan birkaç bileşik ürettiğini öne sürmektedir. Bu sonuçlar, üretimini geniş çapta teşvik etmiştir ayrıca beslenme ve farmasötik önemi nedeniyle de büyük bir ekonomik potansiyele sahiptir (Morais et al., 2015).

## **2.7. *Chlorella minutissima***

Chlorella türleri, tek hücreli, küresel şekilli (~ 2 ila 10 µm çapında) ve flagel içermeyen fotoototrofik yeşil mikroalglerdir. Chlorella, kloroplastında yeşil fotosentetik pigmentler klorofil-a ve -b içerir. Sadece CO<sub>2</sub>, su, güneş ışığı ve az sayıda mineral ile hızla çoğalır. Chlorella, başlangıçta iç mekanlarda kültür şişelerinde üretilir ve bu kültürler daha sonra dış mekan tankları ve göletler için inokülasyon olarak kullanılır. Ticari olarak en yaygın kullanılan üretim şekli fotobiyoreaktörlerde ve açık havuzlardır (Mobin & Alam, 2017).

Chlorella suşları, kültürde nispeten hızlı büyüme oranları ve yüksek lipid içeriğinden dolayı antibakteriyel araştırmalarında büyük ilgi çekmektedir (Aremu et al., 2016). Ayrıca, farklı stres faktörlerinin yetiştirilen *Chlorella minutissima*'nın yarı-sürekli kültürlerinde biyokimyasal değişiklikler üzerindeki etkisi vurgulanmıştır (Ördög et al., 2012).

## **2.8. Mikroalglerin Üretimini Etkileyen Parametreler**

Ortam içeriği ve üretim koşulları gibi biyotik ve abiyotik faktörler mikroalg üretimi sırasında hücre büyümesinde önemli rol oynamaktadır (Tandon & Jin, 2017). pH, su,

sıcaklık, ışık, nutrient konsantrasyonu, havalandırma, CO<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> konsantrasyonu, hücre yoğunluğu, akış hızı, fotosentetik verim, karıştırma, tuzluluk, ağır metal ve toksik kimyasalların varlığı gibi büyümeyi doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen çeşitli fiziksel ve kimyasal abiyotik parametreler bulunmaktadır (Salama et al., 2018; Singh & Singh, 2014). Büyümeyi doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen biyotik faktörler ise patojenler, kontaminasyona neden olan yarışmacı diğer mikroalglerdir (Salama et al., 2018; Tandon & Jin, 2017).

### 2.8.1. Işık

Mikroalglerin yetiştirilmesinde kullanılan en yaygın yöntem fotoototrofik kültürdür. Fotoototrofik üretim sürecinde mikroalgler, karbondioksit ve ışığı kullanarak fotosentez yaparlar ve ışık kaynağına bağlı olarak absorbe edilen enerjiyi ATP ve NADPH<sub>2</sub> üretiminde kullanırlar. Mikroalglerin fotoototrofik kültürasyonu önemli ölçüde ışık enerjisine bağlıdır. Işık, mikroalglerin fotosentetik etkinliğini doğrudan etkilemektedir ve fotosentetik etkinlik, fotoototrofik gelişim süresince ışık enerjisinin kimyasal enerjiye dönüştürülmesi olarak ifade edilmektedir. Fotosentetik etkinlik, ışık spektrumuna göre farklılık göstermektedir. Mikroalgler genellikle fotosentez için 400-700 nm dalga boyundaki ışığı kullanırlar. Ayrıca absorbe edilen dalga boyu mikroalg türüne bağlı olarak değişebilmektedir. Mikroalglerin büyüme hızı ve lipid üretimleri de aydınlatma düzeyine göre değişebilmektedir. Aşırı ışık yoğunluğu fotooksidasyona ve fotoinhibisyona sebep olabilirken düşük ışık seviyeleri büyüme sınırlayıcı olabilmektedir. Bu sebeple, mikroalg gelişiminde, ışığın hangi şiddetinde yeterli doygunluğa ulaştığı, ışık kullanım verimliliğinin belirlenmesinde önemli bir faktördür (Elcik & Çakmacı, 2017).

Işık kullanımının verimini kültür hacmi, hücrelerin spesifik konumu ve hücre pigmentasyonu gibi birçok parametre de etkilemektedir. Işık geçirgenliği hücre yoğunluğuna bağlıdır. Fazla mikroalgal yoğunluk nedeni ile fotosentetik verimlilik düşebilir. Ayrıca uygun ışık dağılımı sağlanmalıdır; kapalı sistemlerde floresan

lambalarla kontrollü ve eşit ışıklandırma sağlanırsa daha yüksek biyokütle verimliliği sağlanabilir. Fotobiyoreaktörlerin doğal ışıklandırmaya göre daha pahalı olmasına rağmen yapay ışıklandırması teknik olarak mümkündür. Özellikle yüksek değerli ürünlerin büyük ölçek üretimlerinde yapay ışıklandırma kullanılmaktadır (Chisti, 2017). Ayrıca araştırmacılar tarafından ışık parametreleriyle optimizasyon çalışmaları yapılmaktadır. Farklı ışık kaynakları; kırmızı LED, kırmızı-mavi LED, beyaz LED, halojen tungsten gibi üretimlerde kullanılabilir (Razzak et al., 2017; Salama et al., 2018).

### **2.8.2. Besin maddesi**

Mikroalg metabolizması fotoototrofik veya heterotrofik olabilir. Fotoototrofik mikroalgler CO<sub>2</sub>, tuzlar ve güneş enerjisi gibi inorganik bileşiklere ihtiyaç duyarken heterotrofik fotosentetik değildir, bir besin maddesi ve enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere dışarıdan bir organik bileşik kaynağına ihtiyaç duyarlar. Bazı fotosentetik türler mixotrofiktir; fotosentez yapma ve dışsal organik kaynakları aynı anda kullanma becerisine sahiptirler (Morais et al., 2015).

Karbon, azot ve fosfor mikroalglerin yetiştirilmesinde gerekli olan başlıca besin maddeleridir. Mikroalgler hem organik hem de inorganik karbon kaynaklarını kullanabilmektedir. Ototrof mikroalgler inorganik karbonu kullanırken, heterotrof mikroalgler organik karbonu kullanmaktadır. Mikroalgler azotu nitrat, nitrit, amonyum ve üre formunda kullanmaktadır. Mikroalglerin hangi azot formunu kullanacağı türe göre değişmekle birlikte, büyük çoğunluğu azot kaynağı olarak amonyumu tercih etmektedir. Azot eksikliği, mikroalgler için kimyasal bir stres faktörüdür. Fosfor, hücre gelişimi ve mikroalg metabolizması için gerekli bir besin maddesidir. Enerji transferi, hücrel sinyal iletimi, fotosentez ve solunum gibi hücrel metabolik süreçlerde önemli rol oynamaktadır (Elcik & Çakmacı, 2017; Rashid et al., 2014).

Magnezyum, sodyum ve kalsiyum da diğer makro nutrientlerdendir. Mangan, klor, sülfür, bor, kobalt, nikel, molibden, bakır, çinko, silikon ve demir gibi iz metal olarak kullanılan mikro nutrientler de bulunmaktadır. Demir PSI ve PSII enzimatik reaksiyonlarında önemlidir. Bu tür besinler de yüksek miktarlarda kullanılırsa mikroalgler için toksik etki oluşturabilir (Razzak et al., 2017; Salama et al., 2018).

Mikroalgler, dış ortamlarındaki değişikliklere, hücre içi ortamlarındaki değişikliklerle tepki verirler ve böylece kültür koşullarının manipülasyonu veya besinlerin varlığı veya yokluğu, spesifik bileşiklerin biyosentezini uyarırlar. Kültür ortamı, mikroorganizmaların çoğalması ve / veya hayatta kalması için gerekli besinleri içerecek şekilde formüle edilmiş kimyasal ortamlardır. Kültür ortamı, mikroorganizmanın beslenme ihtiyaçlarını karşılamalı, proses kontrolüne yardımcı olmalı ve makul bir şekilde sabitlenmiş bir bileşime sahip olmalıdır (Morais et al., 2015).

### **2.8.3. Sıcaklık**

Sıcaklık mikroalg gelişimini etkileyen en önemli unsurlardan biridir. Sıcaklık metabolik prosesi, biyokimyasal içeriği, hücre boyutunu, biyolojik reaksiyon hızını ve nutrient tüketimini etkilediği için mikroalg büyümesinde önemli etkileri vardır. Özellikle düşük sıcaklıklar mikroalg büyümesini engellemektedir ve ortam sıcaklığının gereğinden fazla azalması hücrelerin akışkanlığını ve mikroalglerdeki doymamış lipidlerin derecesini arttırmaktadır. Yüksek sıcaklık ise hücrelerin metabolizma hızını arttırmaktadır. Sıcaklığın artması buharlaşmaya neden olduğundan hacim kaybı sorunu da ortaya çıkarmaktadır. Dış ortam üretimlerinde hava ve mevsimsel koşullarda bulunan dalgalanmalar sıcaklık kontrolünü zorlaştırmaktadır. Mikroalglerin genellikle gelişebildikleri sıcaklık aralığı 5-35°C'dir. Fakat birçok mikroalg türünün optimum büyüme sıcaklığı 20-30°C'arasındadır. Sıcaklık aynı zamanda mikroalg hücreleri için bir stres faktörü olarak değerlendirilebilir. (Banerjee et al., 2002; Eloka-Eboka & Inambao, 2017; Rashid et al., 2014; Salama et al., 2018).

#### **2.8.4. pH**

Mikroalg üretiminde pH büyümei etkileyen önemli bir faktördür. Farklı mikroalg türlerinin farklı pH toleransları bulunmaktadır. Çoğu mikroalg nötral pH'da yaşarken bazı türler düşük ve yüksek pH'a karşı daha dayanıklıdır (Salama et al., 2018). Mikroalglerin üreyebilmesi için 7-9 pH aralığı uygun görülmektedir. Uygun olmayan pH seviyelerinin büyüme üzerinde olumsuz etkileri olabilir. Uygun pH'nın sağlanmaması durumunda hücreler parçalanarak ortama geçmekte ve ölümle sonuçlanmaktadır. Besin ortamından CO<sub>2</sub> ve nitrat alımı, pH değerini yükseltirken, amonyak alımında pH değeri düşer (Rashid et al., 2014; Zhao et al., 2011).

#### **2.8.5. Karıştırma**

Karıştırma, mikroalgler için büyümeye etki ede önemli bir parametredir. Işık, sıcaklık ve gazların (O<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub>) homojen dağılımı için optimum karıştırma gerekmektedir. Besin maddelerinin dağılımını ve kullanımını artırmak için ve ayrıca mikroalglerin çökmesini önlemek için uygun karıştırma gereklidir Karıştırma işlemi yavaş olursa, mikroalgal kültür içerisinde karanlık bölgeler oluşabilir ve anaerobik bölgeler oluşarak, mikroalglerin büyümesini etkileyebilir. Karıştırma hızlı olursa, kesme gerilmesinden dolayı mikroalgal hücreler zarar görebilir (Elcik & Çakmakçı, 2017; Rashid et al., 2014)

#### **2.9. Cerrahi İplikler**

Hızla artan tıbbi teknolojilere rağmen, ameliyatlar hala modern tıbbın kaçınılmaz bir parçasıdır. Cerrahi zımbalar gibi yeni cerrahi insizyon kapatma yöntemlerinin kullanılmasına rağmen, cerrahi iplikler (s) hala cerrahi insizyonların kapatılmasında en sık kullanılan yöntemdir, ancak ilk kullanımlarından bu yana, M.Ö 3500 yılına kadar dayanır, cerrahi işlemlerin değişmez bir parçasını oluşturur (Kjaergard, 2001; Rothenburger et al. , 2002). Cerrahi cerrahi iplik, yaranın açık uçlarını bir arada tutan

ve yaranın kapatılması için yeterli mekanik destek sağlamak için normal fizyolojik mekanik stres seviyelerine dayanması gereken filaman şeklinde bir tıbbi araçtır (Kjaergard, 2001)

Cerrahi iplikler, dokuları bir araya getirmek veya yara iyileşmesi sürecinde kan damarlarını bağlamak için yaygın olarak kullanılan ipliklerdir (Chen et al., 2018). Yaygın kullanımları nedeniyle, cerrahi iplikler insanlarda implante edilen en büyük tıbbi cihaz gruplarından biridir (Ciraldo et al., 2019). Bu biyomedikal tekstil malzemesi, geçmişi en az 4.000 yıl olan en eski tıbbi cihazlardan biridir. Cerrahi iplikler doğal veya sentetik malzemeler kullanılarak üretilebilir ve emilebilir veya emilemeyen olabilir (Chen et al., 2018; Ciraldo et al., 2019). Cerrahi iplikler biyolojik olarak parçalanabilirliklerine göre emilebilir veya emilemeyen olarak sınıflandırılabilir ve iplik tiplerine bağlı olarak monofilament veya multifilament (veya örgülü) olarak sınıflandırılabilir (Grigoras et al., 2016.). Yıllar boyunca, özellikle emilebilir olanlar gibi çeşitli sentetik cerrahi iplikler dikkat çekmiş ve cerrahi iplik pazarına hakim olmuştur(Chen et al., 2018).

### **2.9.1. Antibakteriyel cerrahi iplikler**

Cerrahi cerrahi iplikler, yarayı kapalı tutarak yaralı dokunun iyileşmesine ve rehabilitasyonuna yardımcı olmak için tasarlanmıştır. Bununla birlikte, cerrahi iplikler, doku iyileşmesini önleyecek patojenlere ve enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalarla kirlenmiş olabilir (Rouhollahi et al., 2018). Yabancı bir cihazın insan vücuduna implante edilmesi inflamasyonlara neden olabilir ya da yerinde enfeksiyonlara neden olabilecek patojenleri ortaya çıkarabilir (Ciraldo et al., 2019). Ek olarak, cerrahi iplikler, antibiyotiklere ve konakçı bağışıklık sistemine karşı bakteri direncine neden olan bakterilerin biyofilm oluşumuna yol açabilmektedir. (Rouhollahi et al., 2018). Bir yara bölgesinde cerrahi ipliklerin varlığı enfeksiyon riskini yaklaşık 10.000 kat artırır (Justinger et al., 2009). Cerrahi bir yara bölgesinde enfeksiyon, sadece istenen yara iyileşme sürecini tehlikeye atmakla kalmaz, aynı zamanda,

özellikle kritik hastalarda, hayatı tehdit edici koşullara dönüşebilir (Justinger et al., 2009; Edmiston et al., 2013). Çalışmalar, tüm ameliyatların % 2-5'inde, cerrahi alan enfeksiyonlarının (CAE) ortaya çıkabileceğini göstermiştir (Chen et al., 2015; Ciraldo et al., 2019), iyileşmede gecikmelere, hasta için rahatsızlıklara, hatta bazı aşırı durumlarda ölüme bile yol açmaktadır. Ek olarak, CAE'lerin sadece ABD'de 1,5 milyar dolarlık ekstra sağlık masraflarına neden olduğu tahmin edilmektedir (Ciraldo et al., 2019). Aslında, cerrahi iplik varlığında, bir dizi faktör enfeksiyona neden olabilir; normal cildin bazı patojenik olmayan mikroorganizmalara sahip olmasının da cerrahi iplik varlığında patojenik mikroorganizmalara dönüşme olasılığı vardır. Bu nedenle, bir enfeksiyon oluşturmak için gerekli olan kritik mikroorganizma sayısı, biyomalzemelerin varlığında artacaktır (Rouhollahi et al., 2018). Son çalışmalar, ameliyat sonrası bakteriyel enfeksiyonu sınırlamak için yerel ilaç dağıtım sistemlerinin kullanılmasını önermiştir (Dennis et al., 2016).

Cerrahi cerrahi ipliklerde biyofilm oluşumu, dikiş malzemesi üzerine patojenlerin yapışması ile başlayan karmaşık bir süreçtir. Cerrahi ipliklerin cerrahi yaraya implantasyonunu izleyen ilk 6 saatte bakteri yapışması, biyofilm oluşumu ve buna bağlı olarak cerrahi iplikle ilgili CAE'lerin gelişimi için kritiktir (Yang et al., 2017). Ayrıca, biyofilm oluşumunun bir parçası olarak yabancı bir cisim üzerinde ilk bakteri yapışması, *E.coli* ve *S. aureus*'un en önemli virülans faktörleri olarak bildirilmiştir (Bozic, et al., 2014; Oliveira et al., 2014). Bu nedenle, cerrahi bir cerrahi ipliğin implantasyonundan kısa bir süre sonra ilk kez bakteriyel yapışmanın ve / veya kolayca yapışan bakterilerin etkisiz hale getirilmesinin önlenmesi, cerrahi iplike ilişkin CAE'lerin önlenmesi için kritik bir girişim olarak kabul edilir. Patojenlerin virülans faktörlerine ek olarak, cerrahi iplik materyallerinin fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi bakteri yapışması üzerinde karşılıklı olarak etkilidir (Katz et al., 1981; Masini et al., 2011).

CAE'ler için çok yönlü cerrahi risk faktörlerinden biri cerrahi iplik materyalleri, özellikle örgülü cerrahi iplikler ve cerrahi iplik düğümleridir. Yabancı bir cisim olarak,

cerrahi iplik materyalleri bakteriler için biyolojik olarak bağlanma potansiyeline sahiptir ve cerrahi insizyonlarda mikrobiyal kolonizasyona neden olur. Mikroorganizmalar cerrahi iplike kolonize olmakta ve daha sonra yapışkan bir biyofilm oluşturarak çoğalmaktadır. Biyofilm oluşuktan sonra, CAE'lerin riski daha yüksektir ve mikro popülasyonun ortadan kaldırılması daha zordur (Chang et al., 2012).

Antimikrobiyal cerrahi iplikler, bakterileri inhibe etmek ve çevreleyen ökaryotik doku hücrelerine biyo-uyumluluğu sürdürmek arasında bir dengeleme eylemi gerçekleştirmelidir (Obermeier et al., 2014). Alexander ve arkadaşları antibakteriyel işlemlili cerrahi iplik materyallerinin, yaralardaki bakteri üremesini inhibe etme ve enfeksiyon oranını azalttığına dikkat çekmiştir (Alexander et al., 2011).

### **2.9.2. Antibakteriyel cerrahi iplikler için kullanılan ajanlar**

Triklosan kaplı antimikrobiyal cerrahi iplikler geliştirilmiş ve cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesi için cerrahi iplik yüzeyinde bakteriyel yapışmayı önlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Justinger et al., 2009). Triklosan, hem Gram (+) hem de Gram (-) patojenlerde etkinliği gösterilmiş güçlü bir antimikrobiyal ajandır (Edmiston et al., 2006). CAE'lerin önlenmesinde triklosan kaplı cerrahi ipliklerin antimikrobiyal etkinliği ve başarılı klinik performansı çeşitli yazarlar tarafından bildirilmiştir (Marzo et al., 2008). Bununla birlikte, triklosan kaplı dikişlerden elde edilebilecek klinik faydalar, ameliyatın tipine ve anatomik bölgesine büyük ölçüde bağlıdır. Sternal cerrahide triklosan kaplı cerrahi ipliklerin kullanımı abdominal duvar kapanması ve beyin omurilik sıvısı şant operasyonlarında CAE'lerin önlenmesi için yeterliyken, apandisit, meme kanseri ve kolorektal ameliyatların ardından CAE'lerin önlenmesinde yeterli olmamıştır (Obermeier et al., 2015). Antimikrobiyal cerrahi ipliklerde triklosanın yaygın ve gereksiz kullanımı ve degradatif enzimlerin aşırı ekspresyonu da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla bakteri direncinin gelişmesine yol açmıştır (Li et al., 2012). Ayrıca, insan sütünde, göbek kordon kanında,

yağ dokusunda ve idrarda triklosanın biyoakümüülasyonu bildirilmiştir. Triklosanın insan vücudundaki biyoakümüülasyonu, immün, endokrin ve üreme sistemleri üzerinde istenmeyen etkilerle ilişkilendirilmiştir (Clayton et al., 2011).

Bugüne kadar ağırlıklı olarak kullanılan antimikrobiyal triklosanın ana dezavantajı, kozmetik, hijyen ve ev ürünlerindeki tıbbi olmayan kullanımudur. İlk araştırma grupları, bakterilerin triklosana karşı direnç gösterdiğini ve potansiyel patojen seçimlerinin uyarıldığını bildirmiştir (Obermeier et al., 2014; Yazdankhah et al., 2006). Bununla birlikte, triklosanın tıbbi olmayan geniş kullanımı antibiyotiklerle potansiyel bakteri ve triklosana uyarlanmış çapraz direnç seçimine katkıda bulunabilmektedir (Yazdankhah et al., 2006). Ayrıca, göğüs küçültme ameliyatında triklosan kombine cerrahi ipliklerle cerrahi iplik açılma potansiyeli olduğu bildirilmiştir (Chang et al., 2012).

Benzer şekilde, klorheksidin kaplı cerrahi iplikler, geniş spektrumlu ve etkili antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle CAE'lerin önlenmesine alternatif olabilir. Bununla birlikte, kısa süreli antimikrobiyal etki ve kloroheksidinin sınırlı biyoyumluluğu, CAE'lerin önlenmesi için kloroheksidin kaplı cerrahi ipliklerin klinik sonuçlarını sınırlandırabilmektedir (Obermeier et al., 2015).

Gümüş gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip metalik maddeler, CAE'lerle mücadele etmek için antimikrobiyal cerrahi iplikler geliştirmek için dikkate alınmıştır. Bununla birlikte, topografyaya bağlı olarak bakteri yapışmasının önlenmesi ve gümüş ile arzu edilen doku uyumu henüz tam olarak anlaşılmamış ve kanıtlanmamıştır (Yang et al., 2017).

Bu nedenle, cerrahi iplik ile ilgili CAE'lerin önlenmesi için cerrahi iplik yüzeyine patojenlerin ilk yapışmasını önleyebilen yeni ve etkili bir cerrahi iplik ihtiyacı vardır.

### 2.9.3. Mikroalglerin cerrahi ipliklerde kullanım potansiyeli

CAE'ler cerrahide büyük bir komplikasyon teşkil etmektedir. Cerrahi ipliklere, yapışan patojenlerin çoğalması ile indüklenen cerrahi iplik ile ilişkili enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Bakteriler kılcal hareket ile yaralara girip, enfeksiyöz biyofilmler oluşturarak kronik enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Cerrahi cerrahi iplikler için antimikrobiyal kaplamalar, bakteri üremesini engelleyerek cerrahi iplikleri koruyarak bu sorunu çözebilir (Obermeier et al., 2014).

Cerrahi alan enfeksiyonlarını önlemek için antimikrobiyal (triklosan ve klorheksidin gibi) yüklü cerrahi iplikler geliştirilmiştir. Triklosan kaplı cerrahi ipliklerin in vitro ve klinik uygulamalardaki başarılı sonuçlarına rağmen, bazı ameliyatlarda etkinliği yetersiz kalabilmektedir. Ayrıca, triklosanın insanlarda ve çeşitli hayvan modellerinde üreme sistemi üzerindeki potansiyel toksik etkileri bildirilmiştir. Triklosan ayrıca atım pompası sisteminin aktivitesinin artmasına neden olur ve bu da çoklu ilaç direncinin desteklenmesine neden olabilmektedir (Ercan et al., 2018). Klorheksidinin bilinen spektrumu ağız ve cilt için antiseptik olarak kullanılması ve medikal aletlerin kaplanması gibi çeşitli medikal uygulamalarda kanıtlanmıştır (Obermeier et al., 2014). Ancak klorheksidinin de yara iyileşmesine yavaşlatıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir (Sanchez et al., 1988). Bu nedenle antibakteriyel etkili cerrahi iplik geliştirmek için alternatifler aranmaktadır.

Mikroalglerde antibakteriyel aktiviteye sahip bileşikler tespit etmek, bakteriyel enfeksiyonlara karşı yeni ilaçlar geliştirmek veya gıda koruyucuları için katkı maddeleri geliştirmek için çok sayıda çalışmalar yapılmıştır (Falaise et al., 2016).

Bu tez kapsamında mikroalg ekstraktlarındaki antibakteriyel aktivitenin cerrahi iplik kaynaklı CAE'lerin önlenmesi için kullanılacak antibakteriyel aktiviteye sahip cerrahi iplik geliştirmek için kullanımına ilişkin çalışmalar yapılmıştır.

Bu çalışma ile cerrahi iplik kaynaklı CAE'lerin önlenmesi, ticari olarak kullanılan triklosan ve klorheksidine dirençli bakterilerin önüne geçilmesi, antibakteriyel etkinin devamlılığının sağlanması ve böylece sanayi arayışına fayda sağlanması amaçlanmaktadır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Mikroalg türleri

Tez kapsamında Ege Üniversitesi Alg Kültür Koleksiyonu'ndan sağlanan aşağıdaki 4 suş ve Ege Üniversitesi Biyomühendislik bölümü ile iş birliği içinde olan Egert firmasından temin edilen biyokütle kullanılmıştır.

1. *Nostoc muscorum* 1453-12b
2. *Chlorella minutissima* UTEX- 2341
3. *Botryococcus braunii* 807-1
4. *Haematococcus pluvialis* SAG-4698
5. *Spirulina platensis* (Egert firmasından biyokütle olarak temin edilmiştir)

##### 3.1.2. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasallar Çizelge 3-1'de belirtilmiştir

Çizelge 3-1 Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal İsmi
NaNO <sub>3</sub>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O
Citric Acid·H <sub>2</sub> O
Ammonium Ferric Citrate

Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Trace Metals
Agar Agar
Müller Hinton Broth
Müller Hinton Agar
Etanol
Metanol
Kloroform
Etil Asetat
Klorheksidin
DMSO

### 3.1.3. Cihaz ve ekipmanlar

Çalışmada kullanılmış olan cihaz ve ekipmanlar marka ve kullanım amaçlarıyla birlikte Çizelge 3-2'de sunulmuştur.

**Çizelge 3-2** Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

<b>Cihaz ve Ekipman İsmi</b>	<b>Marka</b>	<b>Kullanım Amacı</b>
Otoklav	Hirayama, HV-50L	Sterilizasyon
Fotosentetik Aktivite Ölçüm Cihazı	Hansatech	Fotosentetik aktivite ölçümü
Spektrofotometre	Optizen Pop, Mecasys	Absorbans ölçümünün yapılması
Manyetik Karıştırıcı	WiseStir MSH-20A, Gerhardt MAG-H	Çözeltilerin homojen karışımının sağlanması
Çalkalamalı Karıştırıcı	Zhicheng, Zhwy-2112B	Kültürlerin uygun sıcaklıkta, uygun hızda çalkalanarak karıştırılmasının sağlanması
Etüv	WiseVen, Won-105	60 °C'de kurutma işleminin yapılması
pH metre	Hanna, HV-2211	pH ölçümü
Laminar Akışlı Steril Kabin	Heal Force	Steril ortamda kültürlerin aktarılması işlemi
Vakum Pompası	Knf	Hücrelerin ortamlarından ayrılması işlemi
Thoma Lamı	Marienfeld	Hücre sayımı

Santrifüj	Nüve, NF 400	Santrifügasyon yaparak farklı fazların elde edilmesi
Mikroskop	Micros Austria	Hücre görüntülenmesi ve hücre sayımı
Hava Pompası	Kültürlerin havalandırılması	Gerekli havanın sağlanması
Liyofilizatör	Christ, Alpha 1-2 LD plus	Kültürlerin dondurularak kurutulması
Hassas Terazi	Ohaus, Explorer Pro	Kuru hücre ağırlıkları ölçümü
Vortex Karıştırıcı	ViseMix, VM10	Santrifüj sonrası dipte kalan hücrelerin kaldırılması
Evaporatör	Stuart RE 300	Çözgenin uzaklaştırılması
Ultrasonic Temizleyici	Lab Companion UC-10	Çözdürme işleminin tamamlanması
Antibakteriyal duyarlılık test diskleri	Bioanalyse	Antibakteriyal etkinin tespiti
Etüv	Memmert	37°C'de bakteri inkübasyon işlemi
Etilen oksit sterilizasyon cihazı	Teknomar	Cerrahi ipliklerin steril edilmesi işlemi
Mikrometre	Mitutoyo	Cerrahi iplik çap ölçümü
Çekme Basma Test Cihazı	Devotrans	Cerrahi iplik düğüm kopma mukavemet ölçümü
Vorteks	Wisd	Bakterilerin Müller Hinton sıvı tüp içinde homojen dağılması

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Mikroalgal besi ortamının hazırlanması

Blue Green Algae (BG-11) kültür ortamı hazırlanırken 500 mL distile suyun üzerine Çizelge 3-3'de yer alan stok solüsyonlardan belirtilen miktarlarda koyulmuş ve toplam hacim distile su ile 1 L'ye tamamlanmıştır. pH ortalama ~7 olarak ayarlandıktan sonra besi ortamı 121°C sıcaklıkta 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Agar ortam hazırlanırken ise BG-11 çözeltisine %2 agar agar eklenerek besi ortamının katı hale getirilmesi sağlanmıştır. pH ölçümü agar eklemesinden önce yapılmıştır. BG-11 agar yatık agar ve petri hazırlanmasında kullanılmıştır.

**Çizelge 3-3** BG-11 Besi Ortamı İçeriği

(Dayananda et al., 2005)

	Bileşen	Son Konsantrasyon (mM)	Stok Solüsyon (g.L <sup>-1</sup> dH <sub>2</sub> O)	Kültür Ortamı için Eklenen Miktar/Litre
1	NaNO <sub>3</sub>	17,6	–	1,5 g
2	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,22	40	1 mL
3	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,03	75	1 mL
4	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,2	36	10 mL
5	Citric Acid·H <sub>2</sub> O	0,03	6	10 mL
6	Ammonium Ferric Citrate	0,02	0,6	10 mL
7	Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	0,002	0,1	10 mL
8	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,18	2	10 mL
9	İz Element Solüsyonu	Çizelge 3-4'de bulabilirsiniz.		1 mL

### İz element solüsyonun hazırlanması

Çizelge 3-4 İz element solüsyonu içeriği

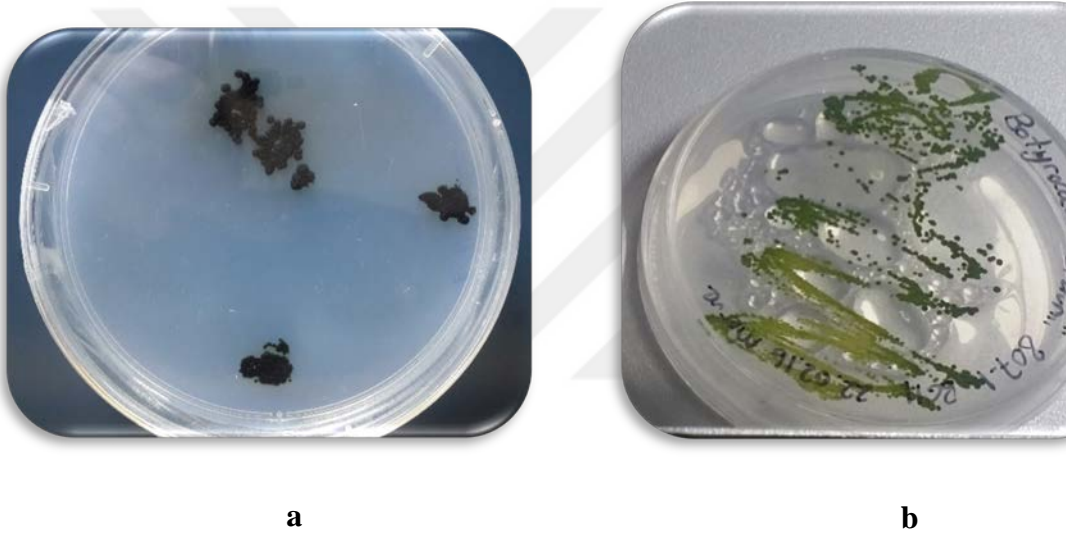
	Metal	1 litre için eklenen miktar (g)
1	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86
2	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1,81
3	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,22
4	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,39
5	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,08
6	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,05

### 3.2.2. Mikroalgal kültürlerinin hazırlanması ve devamlılığı

*Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*), *Chlorella minutissima* (*C. minutissima*), *Botryococcus braunii* (*B. braunii*) ve *Nostoc muscorum* (*N. muscorum*) stok kültürleri BG-11 ortamında  $26 \pm 1$  °C sıcaklık ve sürekli aydınlatma koşullarında kültive edilmiştir. Agar ortamında bulunan bu suşlar aseptik koşullarda öncelikle agar besi ortamı içeren tüplere ve petrilere ekilmiştir (Şekil 3-1). Agar üzerinde üreme görülen mikroalgler daha sonra 5 ml sıvı ortam içeren tüplere geçirilerek çoğaltılmıştır. Uygun büyümeye gelen mikroalg kültürleri ölçek büyütülerek 25 mL, 50 mL, 100 mL (erlenler), 1 L ve 2 L (tübüler fotobiyoreaktör) üretim hacimlerine ulaştırılmıştır (Şekil 3-2). Erlen kültürler çalkalamalı karıştırıcıda ışık altında, 120 rpm hızında ve 23°C sıcaklıkta karıştırılarak dibe çökmeleri engellenmiştir. Erlenlerde bulunan kültürler daha büyük hacimli üretimler için aşı kültür olarak kullanılmak üzere çoğaltılmaya devam edilmiştir. İnokulasyon oranı %10 olarak seçilmiştir. 1 L ve 2 L üretim denemelerinde ise 1 vvm' lik havalandırma için akış ölçerlerle beraber pompalar

kullanılmıştır ve üretim sıcaklığı 23 °C iken ışık şiddeti ise  $\sim 70 \mu\text{Em-2s-1}$ 'dir (Şekil 3-3).

Denemeler sırasında kullanılan *S. platensis* üretimi gerçekleştirilmeyip biyokütle olarak EGERT firmasından temin edilmiştir. Bu nedenle mikroalg üretim çalışmaları bulunmamaktadır.



Şekil 3-1 Petride *N. muscorum* (a) ve *B. braunii* (b) üretimi



Şekil 3-2 Erlen çapında mikroalg üretimi



Şekil 3-3 1 L ve 2 L kabarcık kolon reaktörlerde mikroalg üretimi

### **3.2.3. Mikroalg üretim çalışmaları**

#### **3.2.3.1. pH ölçümü**

Kolon fotobiyoreaktörlerden iki günde bir alınan örneklerin pH'sı laboratuvarında bulunan Hanna, HV-2211 pH-metre cihazı ile ölçülmüş ve okunan değerler kaydedilmiştir.

#### **3.2.3.2. Kuru ağırlık ölçümü**

Kuru ağırlık ölçümleri GF/C Whatman filtre kağıtlarıyla yapılmıştır. 1 gece önceden 60°C etüvde kurutulup, işlem öncesi desikatörde soğutularak sabit tartıma getirilen filtre kağıtlarının tara değerleri belirlenip kaydedilmiştir. Vakum pompasının üzerine yerleştirilen filtre kağıtlarından sırasıyla 1 mL distile su, 1 mL kültür örneği ve tekrar 1 mL distile su geçirilmiştir. Bu filtre kağıtları 1 gece kurumak üzere 60°C etüvde bekletilmiştir. Kuruyan filtre kağıtlarına sonraki gün tekrar tartım yapılmıştır ve tartım sonucu okunan değerler kaydedilip mikroalg kuru ağırlıkları hesaplanmıştır. Örnekleri bulunduran kuru filtre kağıtlarının ağırlık miktarları önceki gün kaydedilen tara ağırlık miktarlarından çıkarılarak gram cinsinden elde edilen sonuçlar 1 mL ortamdaki kuru mikroalg kültürü olarak belirlenmiştir.

#### **3.2.3.3. Hücre yoğunluğu ölçümü**

Hücre yoğunluğu ölçümü için her bir mikroalg kültüründen alınmış olan 1 mL örnekler spektrofotometre kuvvetlerine konularak 560 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılmıştır. Ölçümlerde kör olarak distile su kullanılmıştır. Ölçümler sonucunda okunan değerler kaydedilmiştir.

### 3.2.4. Mikroalg hasat işlemleri

Üretimi yapılan *H. pluvialis*, *C. minutissima*, *B. braunii* ve *N. muscorum* kültürlerinin üretimi stasyonel fazda sonlandırılmış ve hasat işlemi gerçekleştirilmiştir. Reaktörlerdeki kültürler toplanarak 50 mL falkon tüplere eşit olarak paylaştırılıp, santrifüje yerleştirilmiş ve 4000 rpm de 10 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar uzaklaştırılmış ve biokütleyle steril distile su ile iki kere yıkama işlemi (4000 rpm 3 dk) gerçekleştirilmiştir. Elde edilen biokütlelere liyofilizasyon işlemi uygulanarak kurutulmuş ve +4°C de muhafaza edilmiştir.

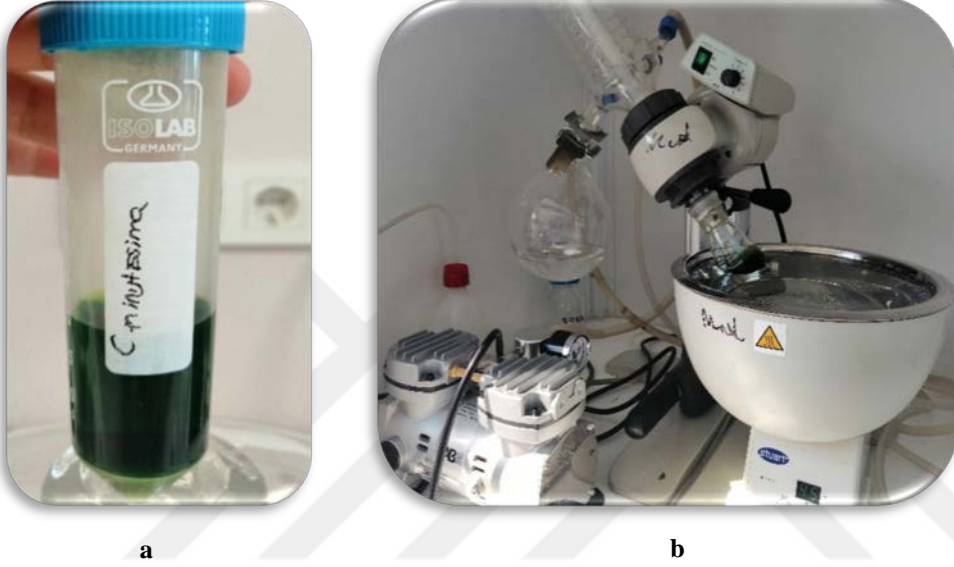
### 3.2.5. Antibakteriyel aktivite denemeleri

#### 3.2.5.1. Ekstraktların hazırlanması

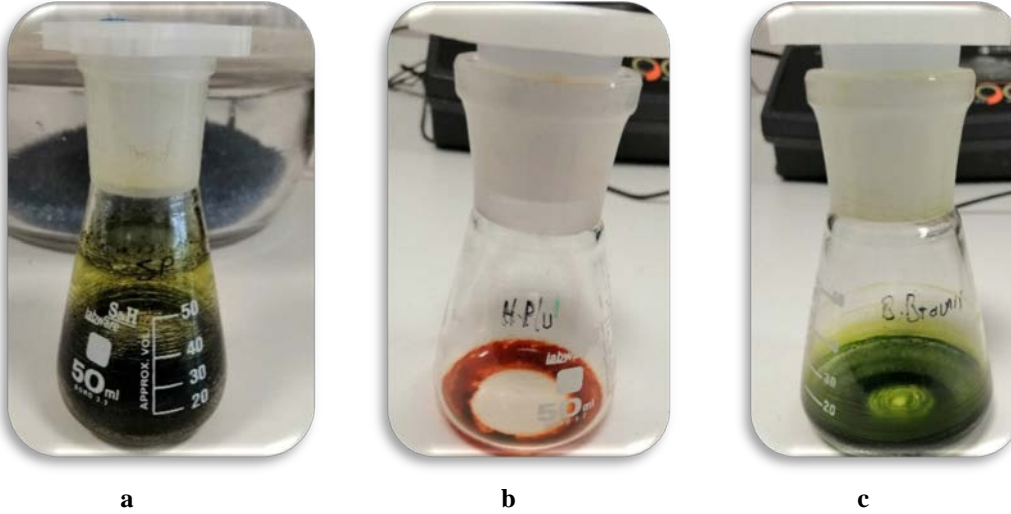
Ekstraktların hazırlanması için belirlenen mikroalg türlerine göre literatürde maksimum antibakteriyel etki gösterdiği belirtilen çözümler kullanılmıştır. *S.platensis* ekstraktının hazırlanması için metanol (Kaushik & Chauhan, 2008), *H.pluvialis* ekstraktının hazırlanması için kloroform (Rao et al., 2010), *B.braunii* ekstraktının hazırlanması için etil asetat (Rao et al., 2010), *C.minutissima* ekstraktının hazırlanması için etanol (Ördög et al., 2004), *N.muscorum* ekstraktının hazırlanması için etanol (Najdenski et al., 2013) kullanılmıştır.

Liyofilizasyon ile kurutulmuş mikroalg biyokütlelerden 2 g tartılarak üzerlerine belirlenen solventlerden 40 ml eklenmiştir. Karışım 5 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra 10 dk sonikasyon işlemi uygulanmıştır. Sonikasyondan sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Santrifüjden sonra toplanan süpernatant (Şekil 3-4) daha önceden 60°C etüvde kurutulan ve tartılan balonlar (50 mL) içine alınmıştır ve evaporasyon işlemi ile solventlerin tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır (Şekil 3-4). Uçurma işleminden sonra elde edilen ekstraktlar Şekil 3-5'de gösterilmiştir. Elde edilen ekstrakt miktarının belirlenebilmesi için balonlar tekrar

tartılmıştır. Antibakteriyel etkinin belirlenebilmesi için elde edilen ekstraktlar distile su ile süspansiyon edilip (0,06 g/mL ekstrakt) 0,22 µm filtreden geçirilmiş ve denemeye kadar +4°C’ de saklanmıştır (Kaushik & Chauhan, 2008).



Şekil 3-4 *C. minutissima* için santrifüj sonrası elde edilen süpernatant(a) ve evaporasyon ile solventin uzaklaştırılması işlemi (b)



Şekil 3-5 Evaporasyon sonrası elde edilen *S. platensis*(a), *H. pluvialis*(b) ve *B. braunii* (c) ekstraktları

### **3.2.5.2. Test mikroorganizmaları**

Antibakteriyel analizlerde kullanılan mikroorganizmalar, Ege üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Endüstriyel Mikrobiyoloji Laboratuvarı tarafından sağlanmıştır. Kullanılan türler Gram (+) bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538) ve Gram (-) bakteri *Escherichia coli* (ATCC-10535)'dir. Bakteriyel suşların ekilebilmesi için Müller Hinton agar besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan Müller Hinton agar tüplere 5 mL olacak şekilde paylaştırılıp besiyeri 121°C' de 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Bakteriyel suşlar steril Müller Hinton yatık agar üzerinde inoküle edilip etiketlenerek 24 saat süreyle 37 °C' de inkübe edilmiştir. Ekimi 24 saat önce yapılmış olan *Escherichia coli* (*E.coli*) ve *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) bakterileri Mc Farland metodu kullanılarak bakteri suşlarının konsantrasyonlarının  $1,0 \times 10^7$ - $1,0 \times 10^8$  mL<sup>-1</sup> ve  $1,0 \times 10^5$ - $1,0 \times 10^6$  mL<sup>-1</sup> olması sağlanmıştır (Ozdemir et al., 2004). Bu işlem sırasında bakteri hücrelerinin homojenizasyonu vorteks karıştırıcı ile sağlanmıştır. Bu işlemde hücrelerin tüp kapağına gelmemesine ve zarar görmemesine dikkat edilmiştir.

### **3.2.5.3. Disk difüzyon yöntemi**

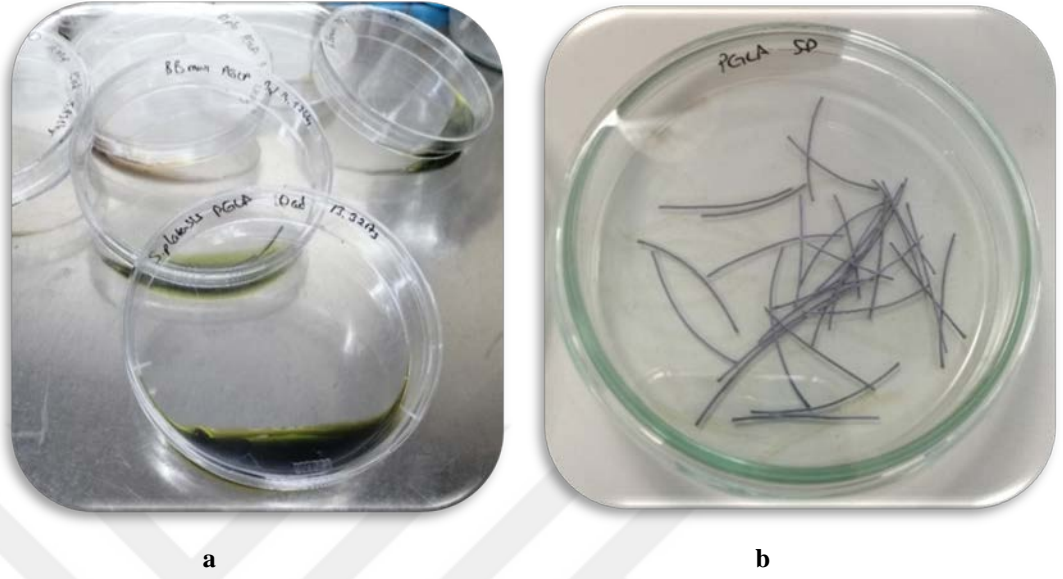
Farklı mikroalg akstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri, agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir (Ozdemir et al., 2004).

Disk difüzyon yöntemi için Müller Hinton agar besiyeri kullanılmıştır. Hazırlanan Müller Hinton agar besiyeri 121°C'de 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Steril edilen ortam steril petrilere yaklaşık 20 mL hacim içerecek şekilde paylaştırılıp katılaşması beklenmiştir. 6 mm çaplı disklere her bir mikroalg akstraktından 20 µL emdirilmiştir. Klorheksidin (4µg/mL(Htun, et al., 2019)) ve steril distile su 6 mm çapındaki disklere 20 µL emdirilerek pozitif ve negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

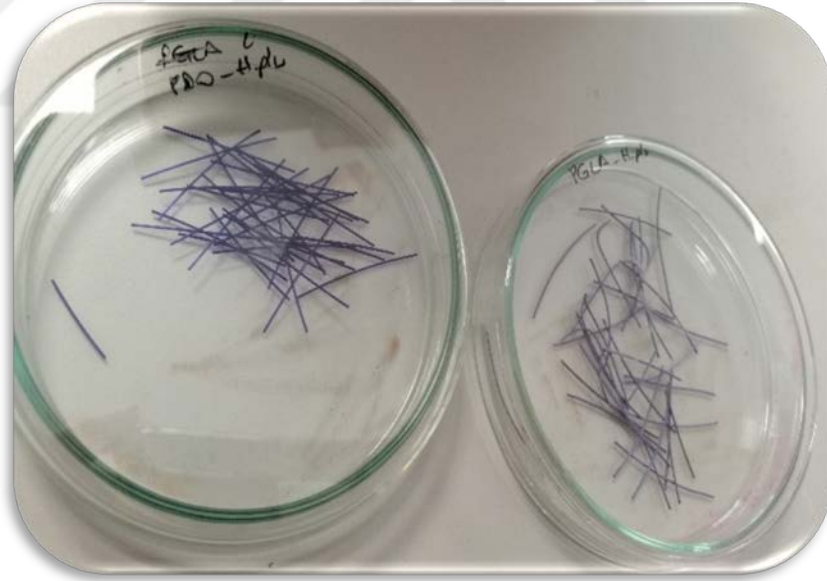
Hazırlanan petrilere içerisinde  $10^6$  bakteri/mL bulunan tüplerden 100'er  $\mu$ L eklenerek etanol ve ateşle steril edilen L baget yardımıyla petri yüzeyine yayılmıştır. Bakteri yayma işlemi tamamlandıktan sonra hazırlanan diskler etiketlenerek petrilere yerleştirilip  $37^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Tüm işlemler laminar akışlı kabin içinde aseptik koşullarda gerçekleştirilmiştir. Denemeler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

#### **3.2.5.4. Cerrahi ipliklerin mikroalg ekstraktları ile kaplanması**

Kaplama işleminin gerçekleştirilmesi için KATSAN Katgüt San ve Tic. A.Ş firmasından temin edilen multiflament ALCALACTİNE (Poli (glikolid (90%) – ko – laktid (10%) (PGLA)) ve monofilament ALCALACTONE (Polidioksanon (PDO)) USP (Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi) 1 (metric 4) cerrahi iplikleri tercih edilmiştir. Distile su ile süspanse edilen ekstraktlar 3 cm uzunluğunda kesilerek hazırlanan PGLA ve PDO cerrahi ipliklere daldırma yöntemi ile emdirilmiştir (Şekil 3-6). Cerrahi iplikler ekstraktlar içinde 5 dk bekletilip, ekstraktlar ortamdan uzaklaştırılarak cerrahi iplikler kurumaya bırakılmıştır ve görsel olarak gözlem yapılmıştır (Şekil 3-7). Cerrahi iplikler kurutulduktan sonra KATSAN Katgüt San ve Tic. A.Ş bünyesinde bulunan etilen oksit sterilizasyon cihazı ile steril edilmiştir. Kaplama yapılan cerrahi ipliklerin mikroalg ekstrakt içeriğinin hesaplanabilmesi için cerrahi iplikler kaplanmadan önce ve kaplanıp kurutulduktan sonra ağırlıkları ölçülmüştür. Değerler kaydedilerek 3 cm'lik kaplanmış PGLA ve PDO cerrahi ipliklerinin ilk ve son ağırlıkları arasındaki farktan yaklaşık olarak içerdikleri mikroalg ekstrakt miktarı belirlenmiştir



**Şekil 3-6** Cerrahi ipliklerin mikroalg ekstraktları ile kaplanması (a) ve kurutma sonrası *S. platensis* kaplı PGLA cerrahi ipliği (b)



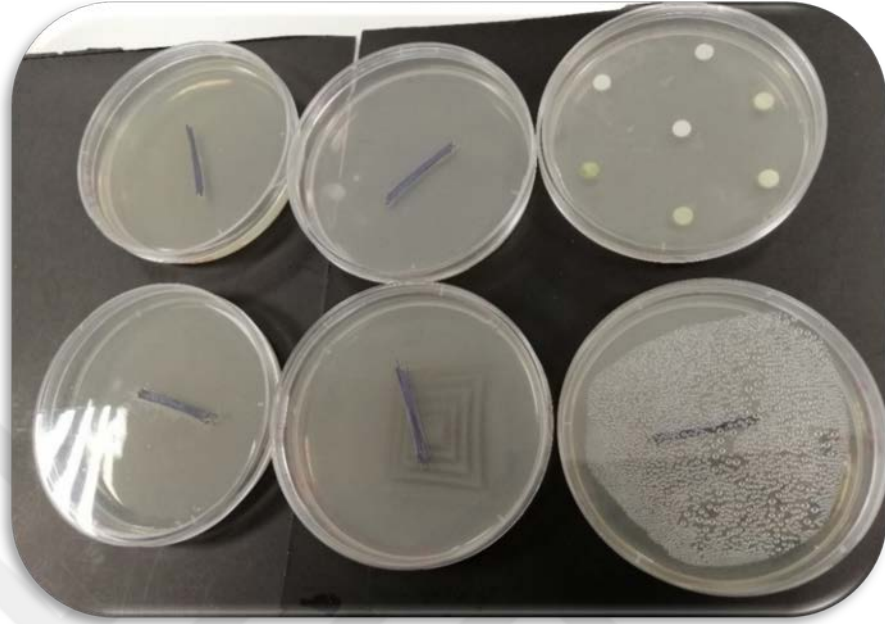
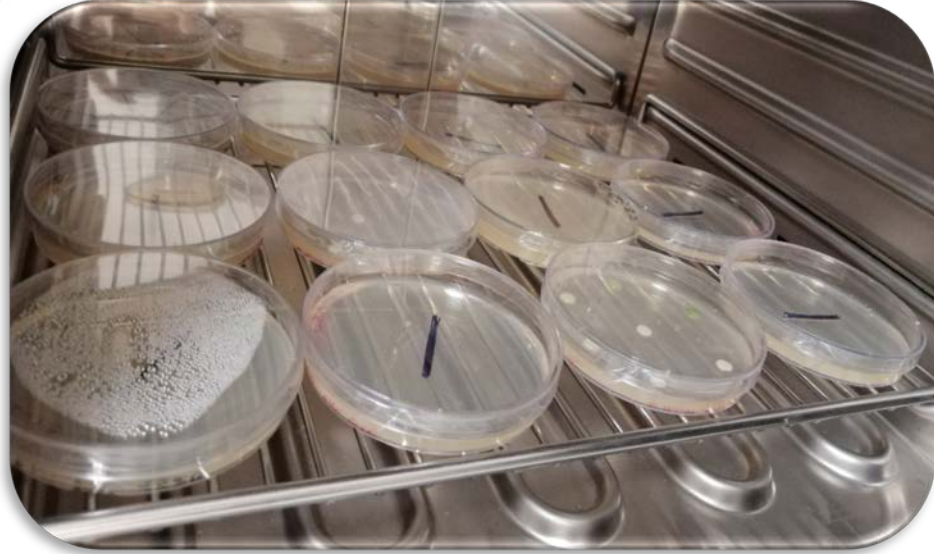
**Şekil 3-7** Kurutma sonrası *H. pluvialis* kaplı PDO ve PGLA cerrahi iplik

### 3.2.5.5. Kaplanmış cerrahi ipliklerin antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi

*S. platensis*, *H. pluvialis*, *B. braunii*, *C. minutissima* ve *N. muscorum* ekstraktları ile kaplanan PGLA ve PDO cerrahi iplikler hazırlandıktan sonra üzerine *E. coli* ve *S. aureus* yayılmış içerisinde Mülller Hinton agar besi yeri bulunan petrilere 5'er adet olacak şekilde yerleştirilip 24 saat boyunca 37°C' de inkübe edilmiştir (Şekil 3-9). İplik zon çaplarının belirlenmesi için ISO-20645- Textile fabrics- Determination of antibacterial activity-Agar diffusion plate test standardında belirtilen Şekil 3-8' deki formül kullanılmıştır.

$H = \frac{D-d}{2}$	<p>H : inhibisyon zon büyüklüğü (mm)</p> <p>D : örneğin ve inhibisyon zonunun toplam çapı(mm)</p> <p>d : örneğin çapı(mm)</p>
---------------------	---

Şekil 3-8 ISO-20654 'e göre inhibisyon zonu hesaplama formülü

**a****b**

**Şekil 3-9** İnkübasyon öncesi *E.coli* emdirilmiş petrilere yerleştirilen PGLA cerrahi iplik ve disk örnekleri(a), ve 37°C etüve yerleştirilen cerrahi iplik ve disk örnekleri (b)

### 3.2.6. Cerrahi iplik çap ve maksimum dayanım kuvveti ölçümü

Denemeler sırasında Amerika Birleşik Devletleri Farmakopesi'ne (USP) göre belirlenen çap aralıklarını ve maksimum dayanım kuvvetini sağlayan KATSAN Katgüt San. ve Tic. A.Ş' den temin edilen ALCALACTİNE ve ALCALACTONE USP 1 cerrahi iplikleri kullanılmıştır. Ölçümlerin yapılabilmesi yaklaşık 75 cm uzunluğundaki PGLA ve PDO cerrahi iplikleri hazırlanan 5 farklı mikroalg ekstraktları KATSAN Katgüt San. ve Tic. A.Ş bünyesinde bulunan mikrometre ile çap ölçümü ve mukavemet ölçüm cihazı ile maksimum dayanım kuvveti ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3-10). Kaplama kaplanan iplik boyu ile orantılı olarak yüksek hacimli ekstraktlarla yapılmıştır.

**a****b**

**Şekil 3-10** Maksimum dayanım kuvveti testi yapmak üzere Devotrans cihazına yerleştirilen PDO (a) ve PGLA (b) cerrahi iplikleri

### 3.4.7. Sitotoksisite testi

Belirlenen mikroalglerle hazırlanan ekstraktların emdirildiği cerrahi ipliklere ISO 10993 standardına göre sitotoksisite testi yapılmıştır. Sitotoksisite testinin yapılabilmesi için PGLA ve PDO cerrahi iplik örnekleri 5 farklı mikroalg ekstraktı ile kaplanmış ve kaplanan cerrahi iplikler steril edilmiştir.

Testlerde ISO 10993- 5 tarafından tavsiye edilen hücre hatlarından biri olan ve memeli sistemini temsil etmeye uygunluğu dolayısı ile seçilen L929 fare fibroblast hücre hattı kullanılmıştır.

Farklı içeriklere sahip numunelerden yeterli miktarda alınarak ekstraksiyon işlemine başlanmıştır. Bunun için ISO 10993- 12'de belirtilmiş olan standartlar kullanılmış olup, yüzeyler PGLA numuneler için 6 cm<sup>2</sup>/mL ve PDO numuneler için 3cm<sup>2</sup>/mL olacak şekilde 37°C' de 24 saat boyunca, serum içermeyen besi yeri içinde ekstrakte edilmiştir. Kontroller için hiçbir prosedür uygulanmamış serum içeren taze besi yeri Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12 (DMEM -F12) ve dimetil sülfoksit (DMSO) (100% v/v) kullanılmıştır.

Ekstraksiyon prosedüründe anlatıldığı şekilde hazırlanan örnek ekstraktları kullanılmış besi ortamları çekildikten sonra hücrelerin üzerine eklenmiş ve 24 saat 37°C, %5 CO<sub>2</sub>'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürelerinin sonunda %10 (v/v) Metiltiazol difenil tetrazolyum (MTT) ajanı içeren besi ortamları gözlere eklenip 3 saat sonra 37°C, %5 CO<sub>2</sub>'de inkübe edilmiştir. 3 saatin sonunda canlılık testi için MTT içeren besi ortamı çekildikten sonra gözlere DMSO eklenerek oluşan formazan kristallerinin çözülmesi sağlanmış ve mikropate okuyucuda 570 nm ve 690 nm referans dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Mikroalg Üretim Çalışmaları

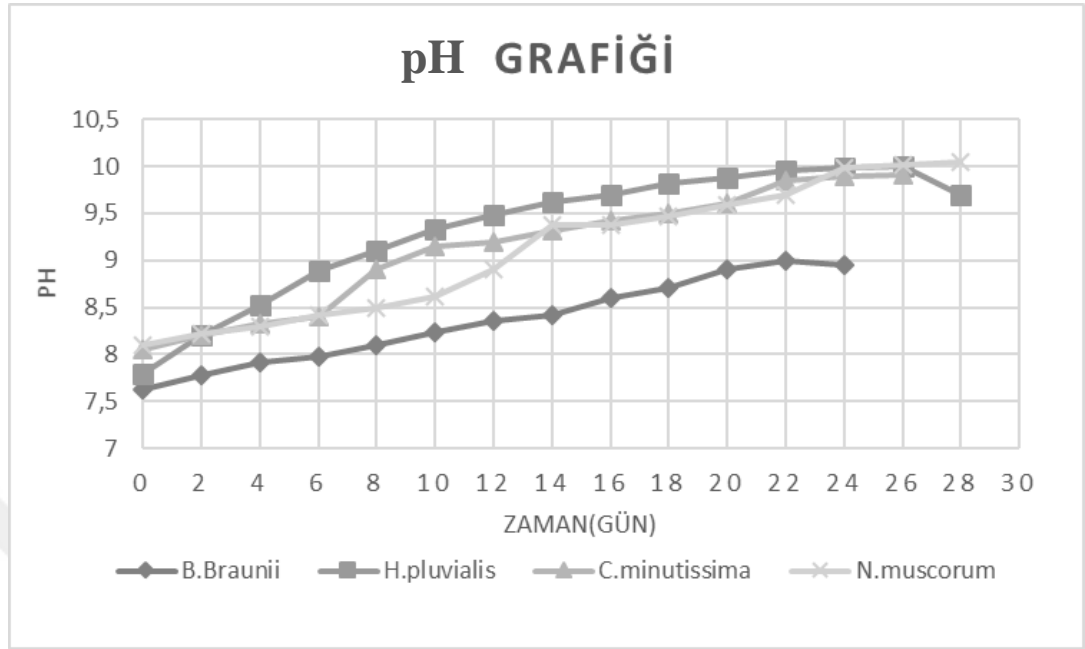
#### 4.1.1. pH ölçümü

Mikroalg kültür ortamının pH değeri besin alımı ile doğrudan ilişkilidir ve mikroalglerin metabolik aktivitelerini değiştirmektedir. pH değişimleri, mikroalglerin besin maddelerinden biyolojik olarak yararlandığının bir göstergesidir. pH karbondioksit ve nitrat alımında yükselirken, amonyak alımında düşmektedir. Genel olarak, pH 10- 11'in üzerinde, mikroalglerin gelişimini olumsuz etkilemektedir. Birçok alg türünün gelişimi için uygun olarak değerlendirilen aralık değerleri pH 7-9 arasındadır. Ancak, bazı türler asidik veya alkali şartlarda da optimum gelişim gösterebilirler (Elcik & Çakmakçı, 2017).

pH kültür takibinde önemli bir parametre olduğu için üretim süresince de kontrol edilmesi gerekmektedir.

Üretimi yapılan *H. pluvialis*, *C. minutissima*, *B. braunii* ve *N. muscorum* mikroalglerinin üretim süreleri boyunca iki günde bir pH ölçümleri yapılmıştır. Şekil 4-1'de yer alan grafikte genel olarak üretim uygun zamanda sonlandırılıncaya kadar pH değerlerinin yaklaşık olarak 7,5'ten 10 seviyelerine kadar çıktığı görülmüştür. Sadece *B. braunii* mikroalgi için üretim boyunca pH değeri yaklaşık 7,5 'dan 9 seviyesine kadar çıkmıştır. pH değerlerinde üretim sonunda en fazla azalma *H. pluvialis* mikroalginde gözlemlenmiştir.

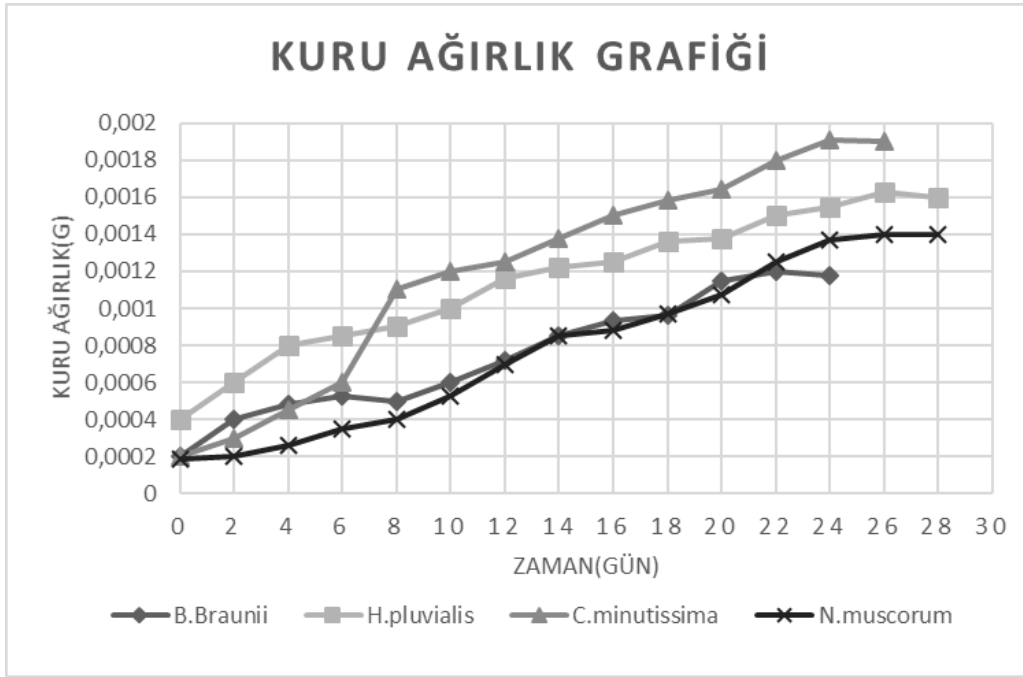
*B. braunii* mikroalginde üretim süresince pH değerinin çok fazla artmaması ise biyokütle üretiminin görece daha az olması ile ilişkilendirilebilir..



Şekil 4-1 Üretimi gerçekleştirilen mikroalgler için pH ölçüm grafiği

#### 4.1.2. Kuru ağırlık ölçümü

Hücre büyümesinin takip edildiği analizlerden biri de kuru mikroalg biyokütle artışının gözlemlendiği kuru ağırlık ölçümleridir. Biyokütle takibi için üretimi yapılan *H. pluvialis*, *C. minutissima*, *B. braunii* ve *N. muscorum* mikroalglerinin üretim süreleri boyunca iki günde bir kuru ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Üretimler süresince kuru ağırlık miktarları üretimi gerçekleştirilen mikroalg çeşitleri için pH artışı ile arttığı gözlemlenmiştir. Bu bağlamda en yüksek biyokütle değeri 0,001908 g olarak *C. minutissima* mikroalginde görülmüştür. Üretim ortamından alınan 1 mL örnekler besi ortamından ayrılarak kurutulduğu için Şekil 4-2’de yer alan grafikte kuru hücre ağırlıkları mL başına olan değerleri ifade etmektedir.



Şekil 4-2 Üretilen mikroalgler için kuru ağırlık grafiği

#### 4.1.3. Hücre yoğunluğu ölçümü

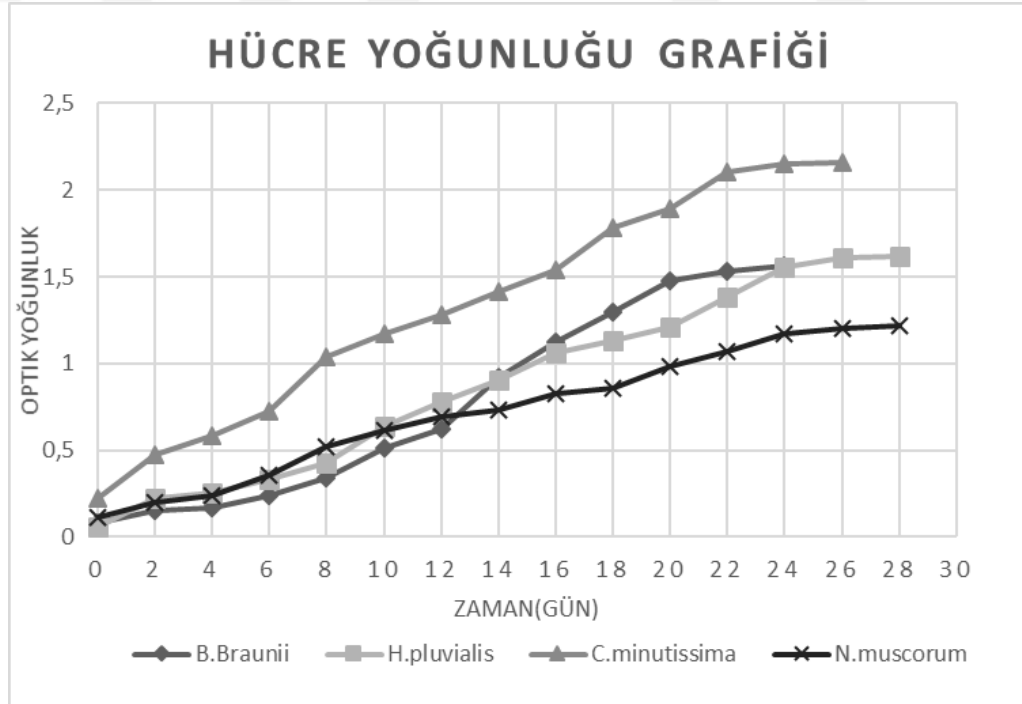
Mikroalg hücre büyümesinin takip edildiği analizlerden biri olan hücre yoğunluğu ölçümü 560 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometre ile okunan değerler türbidite değeri olarak adlandırılmaktadır. Türbidite değeri canlı hücrelerle beraber ölü hücreleri ve hücrelerin ürettikleri metabolitlerin de neden olduğu bulanıklıkların spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hesaplanır.

Ölçümler sonucunda okunan değerler kaydedilip üretimi yapılan her mikroalg için elde edilen verilerle Şekil 4-3'deki grafik elde edilmiştir. Fazlar arasındaki geçiş net olmamakla birlikte üretimler hücreler stasyoner fazdayken sonlandırılmıştır. *C. minutissima* mikroalginin kuru ağırlıkla paralel olarak en fazla hücre yoğunluğuna sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4-3). 22. günden itibaren stasyoner faza girdiği belirlenen mikroalgin üretimi 26. günde sonlandırılmıştır.

Şekil 4-3 'den *B. braunii* mikroalginin 12-20 günleri arasında logaritmik faza girdiği ve 20.günden itibaren stasyoner faza girdiği görülmektedir. *B. braunii* üretimi 24. Günde sonlandırılmıştır. Üretimi yapılan diğer mikroalgelere göre daha kısa süre stasyoner faza girdiği tespit edildiğinden daha kısa sürede üretim sonlandırılıp hasat işlemi gerçekleştirilmiştir.

*H. pluvialis* mikroalginin üretimi 28. günde sonlandırılıp hasat işlemi gerçekleştirilmiştir. Mikroalgin 24.günde stasyoner faza girdiği görülmektedir (Şekil 4-3).

Şekil 4-3'de grafiği verilen *N. muscorum* mikroalginin fazlar arası geçişleri net olmamakla birlikte 24. günde stasyoner faza girdiği tespit edilmiştir. Mikroalg üretimi 28. günde sonlandırılıp hasat işlemi gerçekleştirilmiştir. Türbidite değerlerinin diğer mikroalgelere göre daha az olduğu görülmektedir.

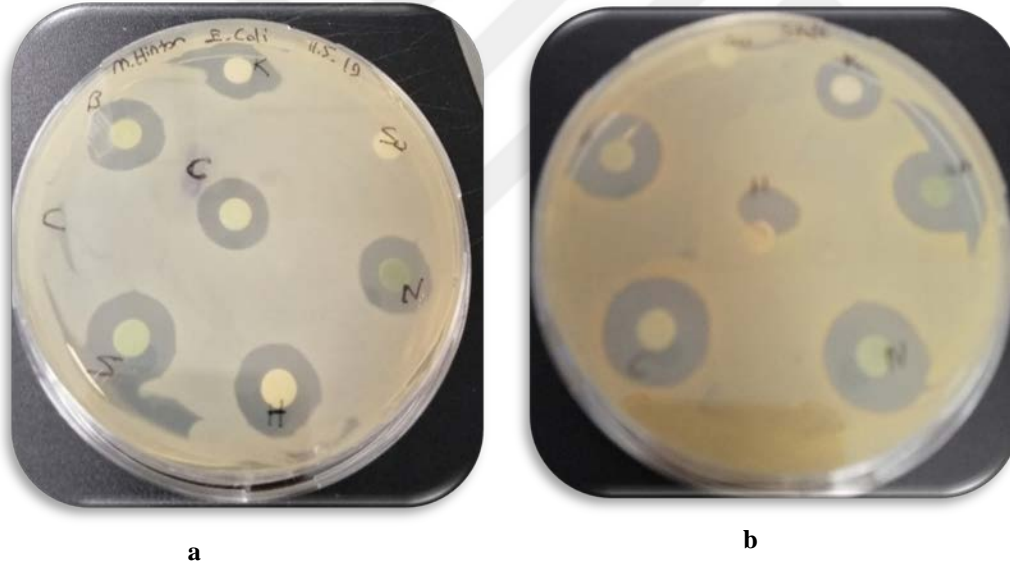


**Şekil 4-3** Üretimi yapılan mikroalgelerin hücre yoğunluğu grafiği

## 4.2. Antibakteriyel Aktivite Denemelerinin Sonuçları

### 4.2.1. Disk difüzyon testi sonuçları

Bu çalışmada *S. platensis*, *H. pluvialis*, *C. minutissima*, *B. braunii* ve *N. muscorum* mikroalg ekstraktlarının Gram (+) ve Gram (-) bakteriler üzerine olan etkilerini saptamak amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraktların kullanılan bakteri suşlarına karşı oluşturdukları inhibisyon zonları Şekil 4-4 'de verilmiştir. İnhibisyon zonları diskler ile beraber inhibisyon zonunun sınırları ölçülerek kaydedilmiştir. Ölçülen zon boyutları Çizelge 4-1 gösterilmiştir.



Şekil 4-4 *E. coli* (a) ve *S. aureus* (b) bakteri suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi ile belirlenen antimikrobiyal aktivite

K: Klorheksidin S: *S. platensis*, H: *H. pluvialis*, C: *C. minutissima*, B: *B. braunii*, N: *N. muscorum*

Disk difüzyon testi sonucunda genel olarak denemelerde kullanılan ekstraktların antibakteriyel aktivitelerinin *S. aureus*' da *E. coli* 'ye göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda daha önce bahsedilen Gram (-) bakterilerin sahip olduğu karmaşık, çok katmanlı hücre duvarı yapıları nedeniyle genellikle aktif bileşiğin nüfuz etmesini zorlaştırdığından antibakteriyel aktivitenin Gram (-) bakterilerde Gram (+) bakterilere göre daha az etkili olduğunu haklı çıkarmaktadır.

Çizelge 4-1 Denemelerde kullanılan mikroalglerin antibakteriyel aktiviteleri

İnhibisyon Zonları (mm)		
Disk	<i>S. aureus</i> (ATCC-6538)	<i>E. coli</i> (ATCC-10535)
Su	0	0
Klorheksidin	21,3±1,15	19,3±0,58
<i>S. platensis</i>	20,7±1,15	18,7±1,15
<i>H. pluvialis</i>	14,3±1,15	14±1
<i>C.minutissima</i>	18,3±0,58	15,3±1,15
<i>B. braunii</i>	18,7±0,58	16,3±0,58
<i>N. muscorum</i>	19,3±0,58	15,7±1,53

Denemelerde kullanılan Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı en fazla inhibisyon zonunu *S. platensis S. aureus'* a (20,7 mm) karşı göstermiştir. *S. platensis* mikroalginin *E. coli'* de ölçülen zon büyüklüğü ise 18,7mm'dir. *S. aureus'* a karşı ikinci en büyük inhibisyon zonu *N. muscorum* (19,3 mm) oluştururken *E. coli'* ye karşı ikinci en büyük inhibisyon zonunu *B. braunii* (16,3 mm) oluşturmuştur.

Denemeler sırasında negatif kontrol olarak antibakteriyel aktivitesi olmadığı bilinen distile su kullanılmış ve denemeler sonunda zon oluşumu gözlemlenmemiştir. Pozitif kontrol grubu olarak kullanılan klorheksidinin de antibakteriyel etkisi gözlemlenmiştir.

Kaushik & Chaunan (2008) *S. platensis* ile yaptıkları çalışmada mikroalg üretimini stasyonere fazda (23 gün) sonlandırıp kültür hasatını gerçekleştirmişlerdir. Hasatı gerçekleştirilen biyokütleyi hekzan, etil asetat, diklormetan ve metanol ile 5 saat oda sıcaklığında bekletip ardından 10 dk sonikasyon ve 4000 rpm de 10 dk santrifüj gerçekleştirip süpernatantı ağırlıkları bilinen tüplere alıp kurutmuşlar ve sonra uygun solventlerle tekrar süspanse etmişlerdir. Çalışmaların sonucunda *S. platensis*- metanol

ekstraktının *E. coli* (12,42 mm) ve *S. aureus* (15,21 mm) bakterilerine karşı en yüksek zonu oluşturduğu tespit edilmiştir.

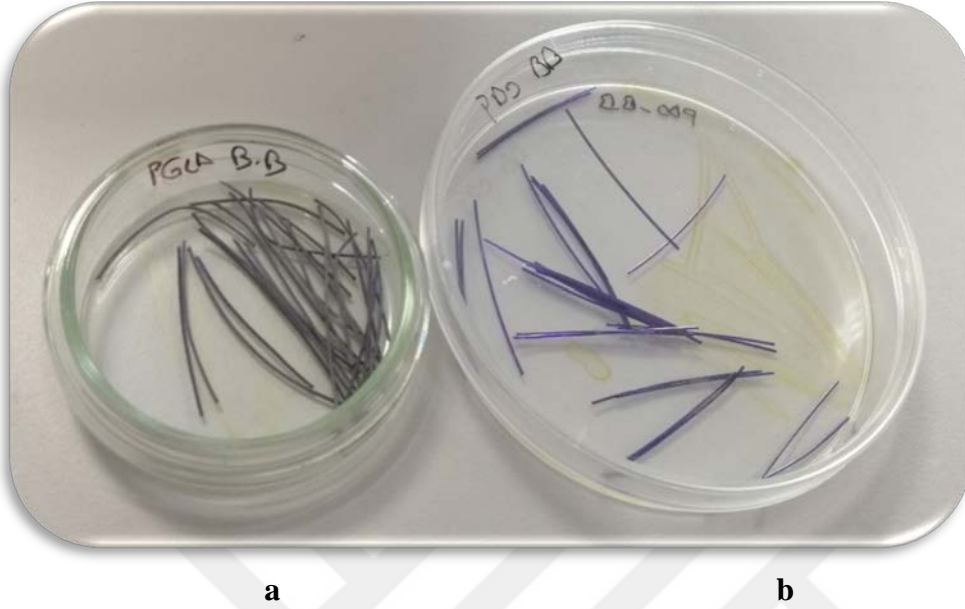
Rao et al. (2010), *S. platensis*, *H. pluvialis* ve *B. braunii* mikroalgleri ile yaptıkları çalışmada hasatı gerçekleştirilip kurutulan biyokütlelerden 2 g alınarak 10'ar mL aseton, metanol, kloroform ve etil asetat solventleri ile havan ve tokmak kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonunda solventler evaporasyon ile uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlar antibakteriyel aktivitenin belirlenebilmesi için etanol içinde çözdürülmüştür. Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi için yapılan çalışmaların sonucunda *S. platensis*- metanol ekstraktının *S. aureus* bakterisine karşı en yüksek zonu ( $15,20 \pm 0,16$ mm) oluşturduğunu belirlemişlerdir. *B. Brauni*-etil asetat ekstraktı denemesi yapılan diğer solvent ekstraktlarına göre *S. aureus* bakterisine karşı ek yüksek zonu ( $14,09 \pm 0,41$ mm) oluşturduğunu tespit etmişlerdir *H. pluvialis*-kloroform ekstraktının ise diğer solvent ekstraktlarına göre *S. aureus* ( $13,75 \pm 0,31$ mm) ve *E. coli* ( $15,87 \pm 0,2$  mm) bakterilerine karşı ek yüksek zonları oluşturduklarını tespit etmişlerdir. Ayrıca *S. platensis* ve *H. pluvialis*' in klinik açıdan önemli patojenik bakterilere karşı antibakteriyel etkisi, antibakteriyel maddeler olarak bilinen sağlık yararları ve gıda sisteminde kullanımı için tercih edilen bir tamamlayıcı olabileceklerini ve bu alglerin biyolojik aktivitesini incelemek için daha ileri araştırmaların devam ettiğini belirtmişlerdir. Bu tez kapsamında yapılan çalışmada ise *S. platensis*, *H. pluvialis* ve *B. braunii* mikroalg ekstraktları biyokütlelerden 2g tartılarak bu çalışmada en yüksek zonu oluşturduğu belirtilen solventlerle 5 saat süspansiyon edilip sonikasyon metodu ile elde edilmişlerdir ve bu ekstraktlar kullanılarak elde edilen zonlar Rao et al. (2010) çalışmasına göre daha büyük olmuştur. Bu sonuçlar solvent ve sonikasyon yöneminin birlikte kullanılmasının havan kullanımına göre daha etkili bir yöntem olduğunu yönünde yorumlanabilir.

Ördog et al (2004), yaptıkları çalışmada disk difüzyon yöntemi ile yaklaşık iki yüz mikroalgal suşu (174 Klorofit ve 23 Siyanobakteri) bazı bakterilere, filamentli mantarlara ve mayalara karşı taramışlardır. Bu ilk taramadaki yüksek antimikrobiyal

aktivitelerinden dolayı üç cinsten (*Desmococcus*, *Chlorella* ve *Scenedesmus*) *C. minutissima*'nin da içinde bulunduğu 10 Chlorophyta suşu seçilmiş ve 10 soy kısmen saflaştırılmış ve antimikrobiyal minimum inhibisyon konsantrasyonu (Minimum Inhibitory Concentration -MIC) ve mikrotitre yarı maksimum inhibitör konsantrasyon (IC50) antikanser deneyleri kullanılarak test edilmiştir. Bu önceden seçilmiş alg suşları, hem Gram (+) (10 türden 9'u) hem de Gram (-) (10 türden 7'si) bakterilerine karşı yüksek oranda antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ekstraktlar bazı tümör hücre soylarına karşı da etkili olmuştur.

#### **4.2.2. Cerrahi ipliklerin mikroalg ekstraktları ile kaplanması**

Destile su ile süspanse edilerek hazırlanan mikroalg ekstraktlarının PGLA ve PDO cerrahi ipliklere emdirilmesi ile PDO cerrahi ipliğinde renk olarak farklılık gözlemlenmezken, PGLA cerrahi ipliklerinin renklerinde değişimler gözlemlenmiştir. PGLA cerrahi ipliği multifilament iplik yapısına sahip olduğundan kaplama işleminden sonra renkli mikroalg ekstraktlarından monofilament PDO cerrahi ipliklerine göre daha fazla etkilendiği düşünülmektedir. Şekil 4-5 de gösterildiği gibi *B. braunii* ekstraktı ile kaplı olan PGLA cerrahi ipliğinin renginde soluklaşma gözlemlenirken, PDO cerrahi ipliğinde herhangi bir değişiklik yoktur. Cerrahi ipliklerde görsel olarak renk değişiminden başka farklılık gözlemlenmemiştir.



**Şekil 4-5** *B. braunii* ekstraktı ile kaplanmış PGLA (a) ve PDO (b) cerrahi ipliklerinin görüntüleri

Kaplama yapılan cerrahi ipliklerin ne kadar mikroalg ekstrakt içerdiğinin hesaplanabilmesi için cerrahi iplikler kaplanmadan önce ve kaplanıp kurutulduktan sonra ağırlıkları ölçülmüştür. Değerler kaydedilerek 3 cm'lik kaplanmış PGLA ve PDO cerrahi ipliklerinin ilk ve son ağırlıkları arasındaki farktan yaklaşık olarak içerdikleri mikroalg ekstrakt miktarı belirlenmiştir (Çizelge 4- 2). Genel olarak PGLA cerrahi ipliklerin içerdiği mikroalg ekstrakt miktarı PDO cerrahi ipliklerin içerdiği mikroalg ekstrakt miktarına göre daha fazladır. Bu durum PGLA cerrahi ipliğinin multifilament iplik yapısına sahipken PDO cerrahi ipliğinin monofilament iplik yapısına sahip olması ve multifilament yapıya bağlı olarak PGLA'nı PDO'ya göre daha büyük yüzey alanına sahip olması ile açıklanabilir.

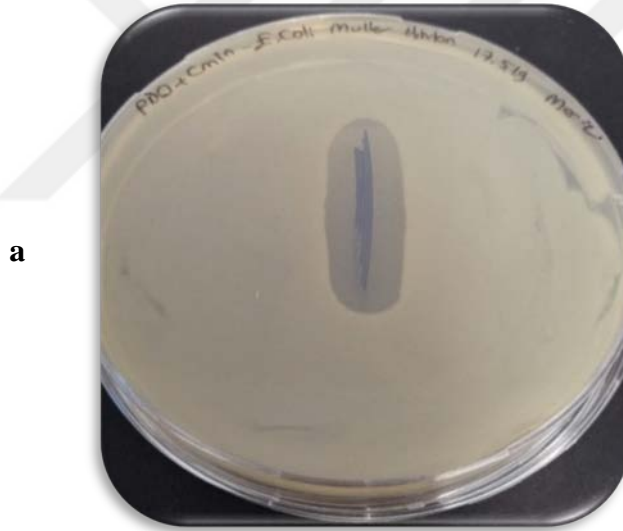
Çizelge 4-2 Cerrahi ipliklerin içerdikleri mikroalg ekstrakt miktarları

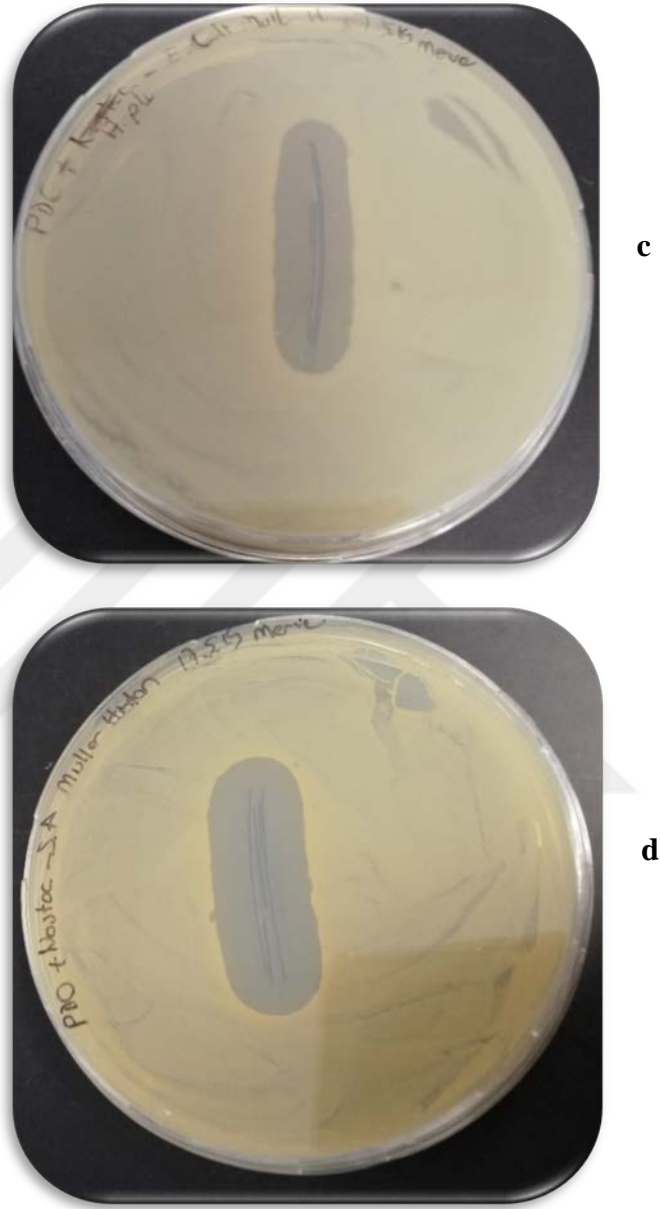
<b>Mikroalg Kaplama</b>	<b>Cerrahi iplik</b>	<b>Kaplama Miktarı(mg)</b>
<i>S. platensis</i>	PGLA	0,00812
	PDO	0,00577
<i>H. pluvialis</i>	PGLA	0,00911
	PDO	0,00461
<i>C. minutissima</i>	PGLA	0,00796
	PDO	0,00604
<i>B. braunii</i>	PGLA	0,00812
	PDO	0,00645
<i>N. muscorum</i>	PGLA	0,00923
	PDO	0,00619

Bu çalışmada cerrahi iplik kaplama metodu örnek alınan Obermeier et al. (2015) yaptıkları çalışma ile cerrahi iplikler için bir kaplama maddesi olarak antimikrobiyal ilaç oktenidini araştırmış ve tıbbi cihazlar için yüksek antimikrobiyal etkinlik ve gerekli biyoyumluluk elde etmek için, yağ asitlerine dayalı oktenidin kaplamalarının optimize edilmesine odaklanmıştır. Bu amaçla palutik / laurik aside dayalı üç farklı konsantrasyonda cerrahi ipliklerin antimikrobiyal hale getirilmesi için yeni oktenidin kaplamaları geliştirilmiş ve analiz edilmiştir. Cerrahi iplikler (40 cm) hazırlanan antimikrobiyal kaplama çözeltilerinde 150 rpm'de 35 °C'de 2 dakika boyunca bir termo-çalkalayıcı kullanılarak kaplanmıştır. Hazırlanan cerrahi iplikler oda sıcaklığında 2 saat kurutulmuştur. Tüm yeni kaplamalar, *S. aureus*'a karşı yüksek uzun süreli antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Bu tür kaplamaların güvenlikleri ve etkinlikleri bakımından klinik testlere aday olduğu belirtilmiştir.

### 4.2.3. Kaplanmış cerrahi ipliklerin antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi

Bu çalışmada disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel etkinlikleri belirlenen *S. platensis*, *H. pluvialis*, *C. minutisima*, *B. braunii* ve *N. muscorum* mikroalglerinin distile su ile süspansiyon edilmiş ekstraktlarının kaplanması ile elde edilen kaplanmış PGLA ve PDO cerrahi ipliklerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenebilmesi amaçlanmıştır. Denemeler sonucunda elde edilen zon büyüklükleri belirlenmiştir (Şekil 4- 6,7). Negatif kontrol grubu olarak herhangi bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmayan PGLA ve PDO cerrahi iplikleri kullanılmıştır. Pozitif kontrol grubu olarak ise klorheksidin emdirilmiş PGLA ve PDO cerrahi iplikleri kullanılmıştır.





**Şekil 4-6** Kaplanmış PDO cerrahi ipliklerinin antibakteriyel aktivitelerinin görüntüsü

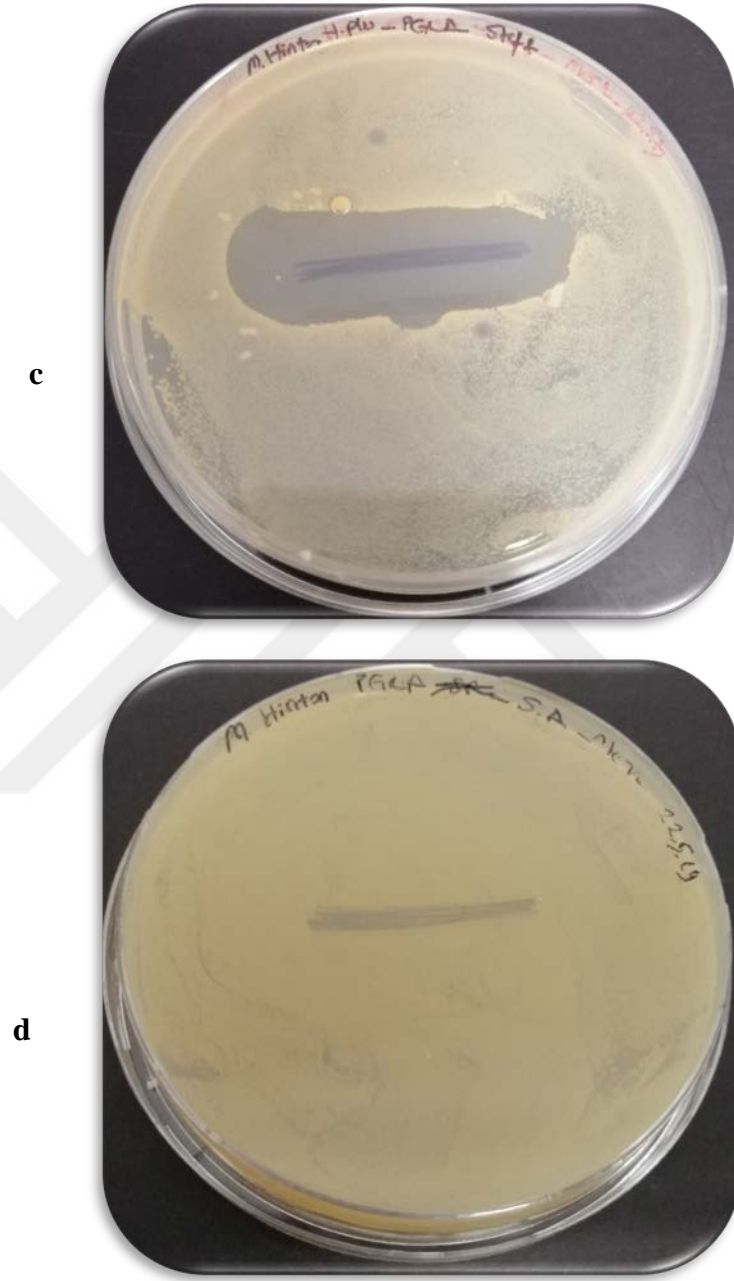
a: *S. platensis*-*E. coli* b: *H. pluvialis* -*S. aureus* c: *H. pluvialis*-*E. coli* d: *N. muscorum*- *S. aureus*

**a**



**b**





**Şekil 4-7** Kaplanmış (a,b,c) ve kaplanmamış(d) PGLA cerrahi ipliklerinin antibakteriyel aktivite görüntüleri

a: *S. platensis*-*E.coli* b: *C.minutissima* -*S. aureus* c: *H. Pluvialis*-*S. aureus* d: PGLA- *S.aureus*

Çizelge 4-3’de denemeler sonucunda elde edilen kaplanmamış, klorheksidin kaplanmış ve 5 farklı mikroalg ekstraktı ile kaplanmış PGLA ve PDO cerrahi ipliklerinin belirlenen inhibisyon zonlarının büyüklükleri verilmiştir.

Kaplanmamış cerrahi ipliklerde zon oluşumu gözlemlenmezken kaplanmış cerrahi ipliklerden *S. aureus*’a karşı en yüksek inhibisyon zonunu klorheksidin kaplı PGLA cerrahi ipliği (11,68±0,58mm) ikinci olarak ise *N. muscorum* kaplı PGLA cerrahi ipliği (11,18±0,54mm) oluşturmuştur. *S. aureus* bakterisine karşı en düşük inhibisyon zonunu *H. pluvialis* kaplı PDO cerrahi ipliği (6,01±0,58mm) oluşturmuştur.

*E. coli*’ye karşı en yüksek inhibisyon zonunu *N. muscorum* kaplı PGLA cerrahi ipliği (10,68±0,58mm) ikinci olarak ise klorheksidin kaplı PGLA cerrahi ipliği (10,52±0,58mm) oluşturmuştur. *E. coli* bakterisine karşı en düşük inhibisyon zonunu *H. pluvialis* kaplı PDO cerrahi ipliği (5,01±0,58mm) oluşturmuştur.

Çalışma sırasında multifilament iplik yapısına sahip olan PGLA ipliklerinde zon çaplarının monofilament iplik yapısına sahip PDO cerrahi ipliğine göre daha büyük olması beklenmiştir. Elde edilen verilerde bazılarında küçük farklar olsa da bu hipotezi doğrulamış bulunmaktadır. Örneğin; *S. aureus* bakterisine karşı *S. platensis* ekstraktı kaplı PGLA cerrahi ipliği 9,52±1,15 mm zon oluştururken, *S. platensis* ekstraktı kaplı PDO cerrahi ipliği 8,84±0,58 mm zon oluşturmuştur. Aynı şekilde *E. coli* bakterisine karşı *C. minutissima* ekstraktı kaplı PGLA cerrahi ipliği 6,52±0,58 mm zon oluştururken, *C. minutissima* ekstraktı kaplı PDO cerrahi ipliği 5,51±0,58mm zon oluşturmuştur. PGLA iplikleri PDO ipliklerine göre multifilament yapıya sahip olduğundan kaplama sırasında iplikler tarafından emilen miktar daha fazla olacağından zon çaplarının daha büyük olduğu görülmüştür.

Çizelge 4-3 Kaplanan cerrahi ipliklerin inhibisyon zon boyutları(mm)

<b>KAPLAMA</b>	<b>CERRAHİ İPLİK</b>	<b>BAKTERİ</b>	<b>ZON (mm)</b>
Kaplamasız PGLA	PGLA	<i>E. coli</i>	0,0
	PGLA	<i>S. aureus</i>	0,0
Kaplamasız PDO	PDO	<i>E. coli</i>	0,0
	PDO	<i>S. aureus</i>	0,0
Klorheksidin	PGLA	<i>E. coli</i>	10,52±0,58
	PGLA	<i>S. aureus</i>	11,68±0,58
	PDO	<i>E. coli</i>	9,37±0,58
	PDO	<i>S. aureus</i>	10,37±0,58
<i>S. platensis</i> ekstraktı	PGLA	<i>E. coli</i>	8,02±0,58
	PGLA	<i>S. aureus</i>	9,52±1,15
	PDO	<i>E. coli</i>	6,01±0,58
	PDO	<i>S. aureus</i>	8,84±0,58
<i>H. pluvialis</i> ekstraktı	PGLA	<i>E. coli</i>	8,52±0,56
	PGLA	<i>S. aureus</i>	9,18±1,15
	PDO	<i>E. coli</i>	5,01±0,58
	PDO	<i>S. aureus</i>	6,01±0,58
<i>C. minutissima</i> ekstraktı	PGLA	<i>E. coli</i>	6,52±1,53
	PGLA	<i>S. aureus</i>	8,18±1,15
	PDO	<i>E. coli</i>	5,51±0,58
	PDO	<i>S. aureus</i>	7,84±0,58
<i>B. braunii</i> ekstraktı	PGLA	<i>E. coli</i>	6,18±1,15
	PGLA	<i>S. aureus</i>	8,18±1,15
	PDO	<i>E. coli</i>	6,34±0,58
	PDO	<i>S. aureus</i>	8,84±1,53
<i>N. muscorum</i> ekstraktı	PGLA	<i>E. coli</i>	10,68±0,58
	PGLA	<i>S. aureus</i>	11,18±0,54
	PDO	<i>E. coli</i>	6,34±0,58
	PDO	<i>S. aureus</i>	7,51±0,58

Oluşan cerrahi iplik zonları ve ekstrakt emdirilmiş disk zonları karşılaştırıldığında *S. aureus*' da disklerde en yüksek zon çapını oluşturan *S. platensis* ekstraktıyken ( $20,7\pm 1,15\text{mm}$ ) cerrahi iplik kaplama işlemiyle elde edilen zonlardaki en yüksek zon çapı *N. muscorum* ekstraktı kaplı PGLA cerrahi ipliğinde ( $11,68\pm 0,54\text{mm}$ ) görülmüştür. Aynı şekilde *E. coli* 'de disklerde en yüksek zon çapını oluşturan *S. platensis* ekstraktıyken ( $28,7\pm 1,15\text{mm}$ ) cerrahi iplik kaplama işlemiyle elde edilen zonlardaki en yüksek zon çapına *N. muscorum* ekstraktı ile kaplı PGLA cerrahi ipliği ( $10,68\pm 0,58\text{mm}$ ) sahiptir. Bu farklılık disklere emdirilen mikroalg ekstrakt miktarlarının sabit ( $20\ \mu\text{l}$ ) olması ancak cerrahi ipliklerin emdiği mikroalg ekstraktı miktarının farklı olması ile açıklanabilir (Çizelge 4-2). Kaplanan cerrahi ipliklerden *N. muscorum* kaplı PGLA cerrahi ipliğinin ekstrakt miktarının yaklaşık olarak  $0,00923\ \text{mg}$ , *S. platensis* kaplı PGLA cerrahi ipliğinin ekstrakt miktarının yaklaşık olarak  $0,00812\ \text{mg}$  olması *N. muscorum* ekstraktı kaplı cerrahi iplik zonunun *S. platensis* ekstraktı kaplı cerrahi iplik zonundan fazla olması ile ilişkilendirilebilir.

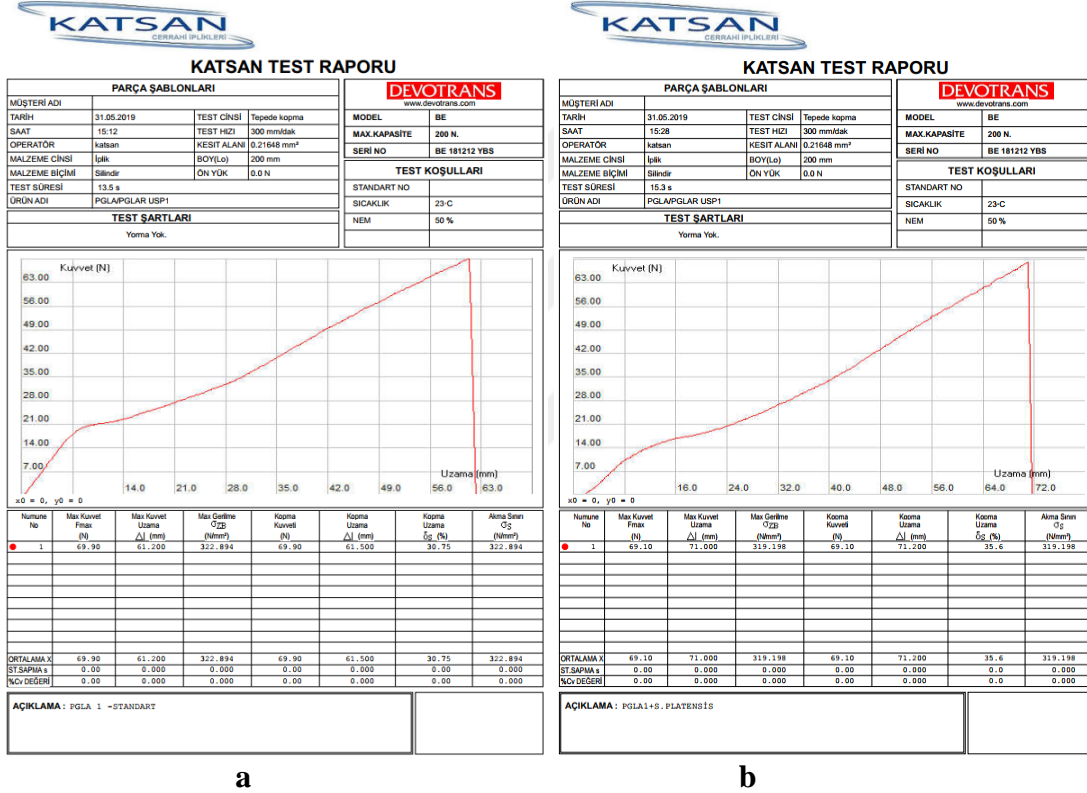
### 4.3. Cerrahi iplik Çap ve Maksimum Dayanım Kuvveti Ölçüm Sonuçları

5 farklı mikroalg ekstraktı ile kaplanan PGLA ve PDO cerrahi ipliklerinin çapları ölçüldüğünde Amerika Birleşik Devletleri Farmakope standardını sağladığı görülmüştür (Çizelge 4-4). Standarda göre PGLA USP 1 cerrahi ipliğinin çap aralığı 0,4-0,499 mm arasında, PDO USP 1 cerrahi ipliğinin çap aralığı ise 0,5-0,57 mm arasında olmalıdır. Her iki cerrahi iplik için de maksimum dayanım kuvveti 50,8 Newton'dan eşit veya büyük olmalıdır (European Pharmacopoeia-8<sup>th</sup> Edition).

Çizelge 4-4 Kaplanan cerrahi ipliklerin çap ve düğüm kopma mukavemeti değerleri

Cerrahi iplik tipi	Mikroalg	Çap (0,4-0,499) (mm)	Maksimum Dayanım Kuvveti (>50,8) (Newton)
PGLA USP 1	<i>S. platensis</i>	0,46	69,1
	<i>H. pluvialis</i>	0,46	70,4
	<i>C.minutissima</i>	0,46	64,95
	<i>B. braunii</i>	0,46	64,85
	<i>N. muscorum</i>	0,46	66,8
	Kontrol	0,45	69,9
Cerrahi iplik tipi	Mikroalg	Çap (0,5-0,57) (mm)	Maksimum Dayanım Kuvveti (>50,8) (Newton)
PDO USP 1	<i>S. platensis</i>	0,53	58,2
	<i>H. pluvialis</i>	0,53	58,55
	<i>C.minutissima</i>	0,53	57,32
	<i>B. braunii</i>	0,53	56,5
	<i>N. muscorum</i>	0,53	56,7
	Kontrol	0,52	59,45

Maksimum dayanım kuvveti ölçümleri sonucuna test cihazı tarafından Şekil 4-8 raporu ve grafiği elde edilmiştir. Kaplanan cerrahi ipliklerin mukavemeti etkilemediği görülmektedir. Çap ve düğüm mukavemetindeki değişimler kaplamasız cerrahi ipliklerin testlerinde de meydana geldiği için elde edilen değerlerdeki farklılıklar göz ardı edilebilir.

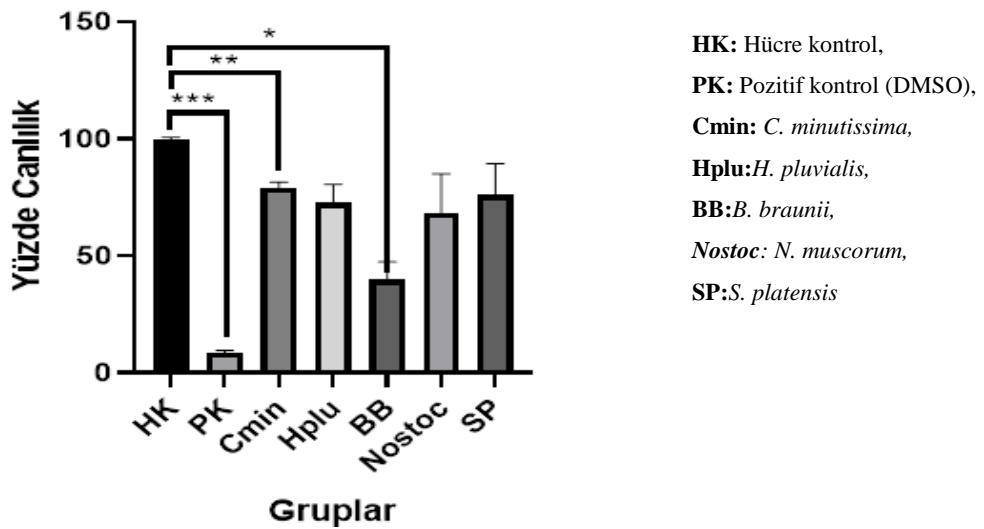


Şekil 4-8 Maksimum dayanım kuvveti testi sonucu PGLA (a) ve *S. platensis* ekstraktı kaplı PGLA cerrahi ipliği (b) raporu

#### 4.4. Sitotoksisite testi sonuçları

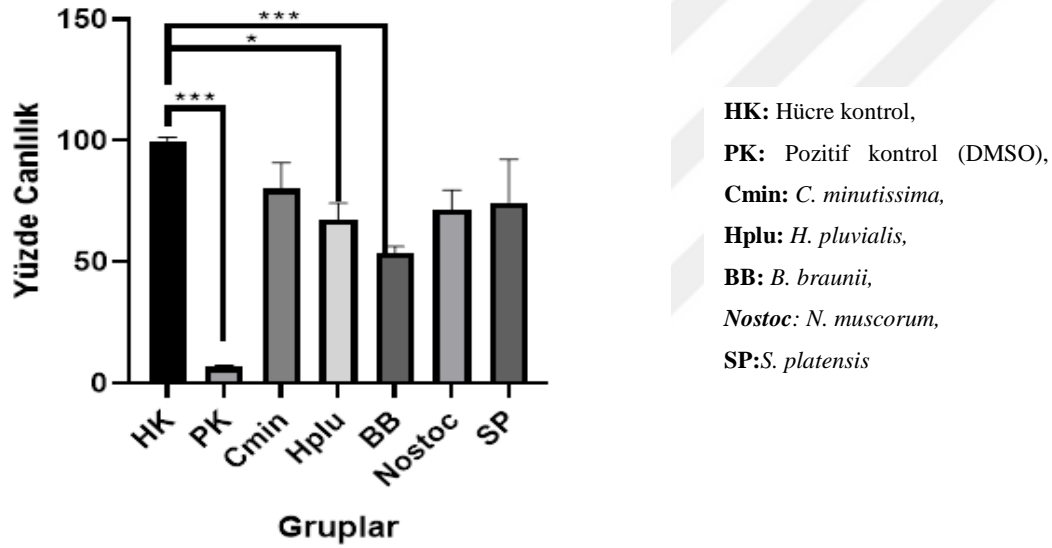
Test materyalleri ile hazırlanan ekstraktlar kullanılarak yapılan MTT testi ile L929 hücre kültürlerinin canlılıkları tespit edilmiş ve materyal ekstsitotoksisiteleri belirlenmiştir. Materyal ekstraktı kullanılarak yapılan bu MTT testleri, kolorimetrik spektrofotometrede 570 ve 690 nm absorbans değerinde ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar istatistiksel veriler haline getirilerek grafiklerle gösterilmiştir. (Şekil 4-9-10). ISO 10993- 5'e göre test edilen malzemelerin, yüzde canlılığı hücre kontrol grubuna göre %70 veya daha altına indirmesi o malzemenin sitotoksik potansiyeline işaret eder. Bu sebepten dolayı grafiklerde yüzde canlılıklardaki istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler, sadece canlılığın 70%'in altına düştüğü durumlarda yıldızlarla belirtilmiştir.

PDO malzemenin L929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisini incelemek üzere elde edilmiş hücre canlılığı grafiği ile 24 saat sonunda tüm grupların hücre kontrol (HK) grubuna göre canlılığı bir miktar düşürdüğü görülmektedir (Şekil 4-9). Ancak üç gruptaki bu düşüşün toksik olmadığı kabul edilebilir. Bunun yanında PDO/Cmin grubundaki canlılığın %70 in biraz altında olduğu göz ardı edilmemekle birlikte PDO/BB grubunun toksik olduğu sonucuna varılmıştır. (\* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ , \*\*\*\* $p \leq 0.0001$ )



Şekil 4-9 5 farklı mikroalg ekstraktı ile kaplanan PDO cerrahi ipliği L929-MTT (24.saat) grafiği

PGLA malzemenin L929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisini incelemek üzere elde edilmiş hücre canlılığı grafiği ile 24 saat sonunda her grupta canlılıkta bir miktar düşüş gözlemlendiği görülmektedir (Şekil 4-9). Üç grupta toksik etkiye rastlanmamıştır bunun yanı sıra PGLA/Hplu'daki canlılığın %70'in biraz altında olduğu görülmüştür ancak PGLA/BB grubunda toksik etkiye rastlanmıştır. (\* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ , \*\*\*\* $p \leq 0.0001$ )



Şekil 4-10 5 farklı mikroalg ekstraktı ile kaplanan PGLA cerrahi ipliği L929-MTT (24.saat) grafiği

Sonuç olarak, MTT testinden elde edilen veriler incelendiğinde; PDO ve PGLA malzemelerle, L929 hücre hattında yapılan testlerde 24 saat sonunda oluşturulan beş tip grupta da *B. braunii* grubunun iki tip malzeme için de toksik olduğu tespit edilmiştir. Her iki cerrahi iplik tipi için de sitotoksik etki göstermeyen kaplamaların *S. platensis* ve *N. muscorum* mikroalg ekstraktları olduğu belirlenmiştir.

Üretim ve hasat koşulları, antibakteriyel etki boyutu ve sitotoksosite sonuçları değerlendirildiğinde *S. platensis* mikroalginin metanol ekstraktının cerrahi iplikle ilişkili cerrahi alan enfeksiyonlarını azaltmak için kullanımını gelecek çalışmalar için umut vadetmektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında cerrahi alan enfeksiyonlarını önlemek için cerrahi ipliklerin literatürde antibakteriyel aktiviteleri kanıtlanan *S. platensis* (metanol), *H. pluvialis* (kloroform), *C. minutissima* (etanol), *B. braunii* (etil asetat) ve *N. muscorum* (etanol) mikroalglerinin ekstraktlarıyla kaplanarak antimikrobiyal etkinin sağlanması amaçlanmıştır. Mikroalglerin içerdikleri metabolitler ile antioksidan ve antimikrobiyal özellik gösteren maddelere sahiptir. Bu metabolitlerin özelliklerinin ve üretim yöntemlerinin laboratuvar çalışmaları ile belirlenmesi sonucunda oluşacak bilgi birikimi üniversite ve sanayi iş birliği yeni, yüksek katma değerli ürünlerin ekonomiye kazandırılabilmesine olanak sağlayabilecektir.

Sonuçlar, bazı mikroalglerin faydalı ikincil metabolitler içerdiğini ve kitle kültüründe nispeten kolay bir şekilde büyüdüklerinden farmasötik endüstrilerinde potansiyel uygulamaya sahip bir biyolojik malzeme kaynağı sağladığını göstermektedir.

Bu çalışma ile mikroalglerin sadece ham ekstraktları incelenmiştir. Bu nedenle, sonuçlar antibakteriyel maddeyi göstermemekte veya tanımlamamaktadır. Ancak elde edilen sonuçlar, *S. platensis*, *H. pluvialis*, *C. minutissima*, *B. braunii* ve *N. muscorum* geleneksel kullanımlarının bir kısmına destek sağlayan bir antibakteriyel aktivite spektrumunu ve mikroalglerin antibakteriyel cerrahi iplik eldesinde potansiyel kullanım taşıdığını göstermektedir. Mikroalgler, ümit vaat eden yüksek değerli ürünler kaynağıdır ve bunların antimikrobiyal ajan olarak kullanılması sadece başlangıç aşamasındadır.

Bu tez kapsamında mikroalg ekstraktlarının cerrahi cerrahi ipliklerde bakteri üremesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Antibakteriyel etki gösteren mikroalg cerrahi iplik ekstraktları ile kaplanan cerrahi iplikler, cerrahi ipliklerle ilgili cerrahi alan enfeksiyonlarının önlenmesi ve kontrolü için olası bir alternatif olarak düşünülebilir.

Bu çalışma, daha detaylı çalışmaların yapılıp üzerinde yoğunlaşılması gereken bazı mikroalgleri de tespit etmiştir. Özellikle *S. platensis* mikroalginin cerrahi ipliklerde antibakteriyel etki sağlayıcı ajan olarak sanayi ihtiyacını karşılaması umut vadedicidir.



**KAYNAKLAR DİZİNİ**

- Adam, F., Abert-Vian, M., Peltier, G., & Chemat, F. (2012). Solvent-free• ultrasound-assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: A green, clean and scalable process. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.096>
- Al-Saif, S. S. A., Abdel-Raouf, N., El-Wazanani, H. A., & Aref, I. A. (2014). Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21(1), 57–64. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2013.06.001>
- Alexander, J. W., Solomkin, J. S., & Edwards, M. J. (2011). Updated recommendations for control of surgical site infections. *Annals of Surgery*, 253(6), 1082–1093. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31821175f8>
- Amaro, H. M., Guedes, A. C., & Malcata, F. X. (2011). Antimicrobial activities of microalgae: an invited review. In “Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances” *Méndez-Vilas A. (ed) Formatex*. 1272–1280.
- Anshuman, S., Deepika, M., Govindasamy, S., & Muthukumar, C. (2013). Effect of glucose and phytohaemagglutinin (PHA) rich *Phaseolus vulgaris* extract on growth and protein synthesis of pharmaceutically important cyanobacteria *Nostoc ellipsosporum* NCIM 2786. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2013.04.002>
- Aremu, A. O., Masondo, N. A., Molnár, Z., Stirk, W. A., Ördög, V., & Van Staden, J. (2016). Changes in phytochemical content and pharmacological activities of three *Chlorella* strains grown in different nitrogen conditions. *Journal of Applied Phycology*, 28(1), 149–159. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0568-7>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Arévalo-Gallegos, A., Garcia-Perez, J. S., Carrillo-Nieves, D., Ramirez-Mendoza, R. A., Iqbal, H. M. N., & Parra-Saldívar, R. (2018). Botryococcus braunii as a bioreactor for the production of nanoparticles with antimicrobial potentialities. *International Journal of Nanomedicine*, *13*, 5591–5604. <https://doi.org/10.2147/IJN.S174205>
- Ba, F., Ursu, A. V., Laroche, C., & Djelveh, G. (2016). Haematococcus pluvialis soluble proteins: Extraction, characterization, concentration/fractionation and emulsifying properties. *Bioresource Technology*, *200*, 147–152. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.10.012>
- Banerjee, A., Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2002). Botryococcus braunii: A renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Critical Reviews in Biotechnology*, *22*(3), 245–279. <https://doi.org/10.1080/07388550290789513>
- Bhagavathy, S., Sumathi, P., & Jancy Sherene Bell, I. (2011). Green algae Chlorococcum humicola- a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *1*(SUPPL. 1), S1. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60111-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60111-1)
- Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters. *Progress in Industrial Microbiology*, *35*(C), 313–321. [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(99\)80123-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(99)80123-4)
- Boussiba, S. (2000). Carotenogenesis in the green alga Haematococcus pluvialis: Cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantarum*, *108*(2), 111–117. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bozic, D. D., Milenkovic, M., Ivkovic, B., & Cirkovic, I. (2014). *Newly-synthesized chalcones-inhibition of adherence and biofilm formation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Retrieved from [www.sbmicrobiologia.org.br](http://www.sbmicrobiologia.org.br)
- Catarina Guedes, A., Barbosa, C. R., Amaro, H. M., Pereira, C. I., & Xavier Malcata, F. (2011). Microalgal and cyanobacterial cell extracts for use as natural antibacterial additives against food pathogens. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(4), 862–870. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02567.x>
- Chang, W. K., Srinivasa, S., Morton, R., & Hill, A. G. (2012). Triclosan-impregnated sutures to decrease surgical site infections: Systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Annals of Surgery*, 255(5), 854–859. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31824e7005>
- Chen, X., Hou, D., Wang, L., Zhang, Q., Zou, J., & Sun, G. (2015). Antibacterial Surgical Silk Sutures Using a High-Performance Slow-Release Carrier Coating System. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 7(40), 22394–22403. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b06239>
- Chen, X., Zhang, Q., Hou, D., Lin, J., Gao, J., & Wang, L. (2018). Fabrication and characterization of novel antibacterial silk sutures with different braiding parameters. *Journal of Natural Fibers*, 00(00), 1–11. <https://doi.org/10.1080/15440478.2018.1441087>
- Chisti, Y. (2017). Biodiesel from microalgae. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End-Products*, 25, 235–258. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00010-8>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ciraldo, F. E., Schnepf, K., Goldmann, W. H., & Boccaccini, A. R. (2019). Development and characterization of bioactive glass containing composite coatings with ion releasing function for antibiotic-free antibacterial surgical sutures. *Materials*, *12*(3), 1–9. <https://doi.org/10.3390/ma12030423>
- Colla, L. M., Muccillo-Baisch, A. L., & Vieira Costa, J. A. (2008). *Spirulina platensis* effects on the levels of total cholesterol, HDL and triacylglycerols in rabbits fed with a hypercholesterolemic diet. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *51*(2), 405–411. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000200022>
- Colla, L. M., Oliveira Reinehr, C., Reichert, C., & Costa, J. A. V. (2007). Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, *98*(7), 1489–1493. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.09.030>
- Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). molecules Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, *15*, 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Dayananda, C., Sarada, R., Bhattacharya, S., & Ravishankar, G. A. (2005). Effect of media and culture conditions on growth and hydrocarbon production by *Botryococcus braunii*. *Process Biochemistry*, *40*(9), 3125–3131. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.03.006>
- Dennis, C., Sethu, S., Nayak, S., Mohan, L., Morsi, Y., & Manivasagam, G. (2016). Suture materials - Current and emerging trends. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, *104*(6), 1544–1559. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35683>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Desbois, A. P., Lebl, T., Yan, L., & Smith, V. J. (2008). Isolation and structural characterisation of two antibacterial free fatty acids from the marine diatom, *Phaeodactylum tricornutum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *81*(4), 755–764. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1714-9>
- Desbois, A. P., Mearns-Spragg, A., & Smith, V. J. (2009). A fatty acid from the diatom *Phaeodactylum tricornutum* is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Marine Biotechnology*, *11*(1), 45–52. <https://doi.org/10.1007/s10126-008-9118-5>
- Edmiston, C. E., Krepel, C. J., Marks, R. M., Rossi, P. J., Sanger, J., Goldblatt, M., ... Seabrook, G. R. (2013). Microbiology of Explanted Suture Segments from Infected and Noninfected Surgical Patients. <https://doi.org/10.1128/JCM.02442-12>
- Edmiston, C. E., Seabrook, G. R., Goheen, M. P., Krepel, C. J., Johnson, C. P., Lewis, B. D., ... Towne, J. B. (2006). Bacterial Adherence to Surgical Sutures: Can Antibacterial-Coated Sutures Reduce the Risk of Microbial Contamination? <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2006.06.026>
- El Smary, N. A. (2011). The characterisation of bioactive compounds from an Egyptian *Leptolyngbya* sp. strain. *Annals of Microbiology*, *62*(1), 55–59. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0226-5>
- Elcik, H., & Çakmakçı, M. (2017). Mikroalg üretimi ve mikroalglerden biyoyakıt eldesi. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, *32*, 795–820. <https://doi.org/10.17341/gazimmfd.337627>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Eloka-Eboka, A. C., & Inambao, F. L. (2017). Effects of CO<sub>2</sub> sequestration on lipid and biomass productivity in microalgal biomass production. *Applied Energy*, 195(November), 1100–1111. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.03.071>
- Ercan, U. K., İbiş, F., Dikyol, C., Horzum, N., Karaman, O., Yıldırım, Ç., ... Demirci, E. A. (2018). Prevention of bacterial colonization on nonthermal atmospheric plasma treated surgical sutures for control and prevention of surgical site infections. *PLoS ONE*, 13(9), 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202703>
- Falaise, C., François, C., Travers, M. A., Morga, B., Haure, J., Tremblay, R., ... Mouget, J. L. (2016). Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. *Marine Drugs*, 14(9), 1–27. <https://doi.org/10.3390/md14090159>
- Grigoras, R. I., Copotou, C., Cosarca, A., Fulop, E., & Mare, A. (2016). In vitro Study About Bacterial Adhesion to the Surface of Suture Materials Used in Oro-maxillo-facial Surgery Retrieved from <http://www.revmaterialeplastice.ro>
- Hammed, A. M., Jaswir, I., Amid, A., Alam, Z., Monsur Hammed, A., Tope Asiyambi-H, T., & Ramli, N. (2013). Food Reviews International Enzymatic Hydrolysis of Plants and Algae for Extraction of Bioactive Compounds Enzymatic Hydrolysis of Plants and Algae for Extraction of Bioactive Compounds. *Food Reviews International*, 29, 352–370. <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.818012>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Harun, R., Singh, M., Forde, G. M., & Danquah, M. K. (2010). Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(3), 1037–1047. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.11.004>

Herrero, M., Ibáñez, E., Cifuentes, A., Reglero, G., & Santoyo, S. (2006). Dunaliella salina microalga pressurized liquid extracts as potential antimicrobials. *Journal of Food Protection*, 69(10), 2471–2477. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17066930>

Htun, H. L., Hon, P. Y., Holden, M. T. G., Ang, B., & Chow, A. (2019). Chlorhexidine and octenidine use, carriage of qac genes, and reduced antiseptic susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a healthcare network. *Clinical Microbiology and Infection*, (xxxx). <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.12.036>

Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2013). Benefits of using algae as natural sources of functional ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 703–709. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6023>

Identification, T., & Alga, M. P. (1967). Marine Planktonic Alga *Isochrysis galbana*. *Test*, 293–298.

John, D. M., Whitton, B. A., & Brook, A. J. (2002). The Flora is dedicated to John W . G . Lund FRS. Retrieved from [www.cambridge.org](http://www.cambridge.org)

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Justinger, C., Moussavian, M. R., Schlueter, C., Kopp, B., Kollmar, O., & Schilling, M. K. (2009). Antibiotic coating of abdominal closure sutures and wound infection. *Surgery*. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2008.11.007>
- Katz, S., Izhar, M., & Mirelman, D. (1981). Bacterial Adherence to Surgical Sutures A Possible Factor in Suture Induced Infection. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1345192/pdf/annsurg00209-0047.pdf>
- Kaushik, P., & Chauhan, A. (2008). In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Microbiology*, 48(3), 348–352. <https://doi.org/10.1007/s12088-008-0043-0>
- Kjaergard, H. K. (2001). *Suture support: Is it advantageous?*, *The American Journal of Surgery* 182 (2001) 15S–20S
- Li, Y., Kumar, K. N., Dabkowski, J. M., Corrigan, M., Scott, R. W., Nü, K., & Tew, G. N. (2012). New Bactericidal Surgical Suture Coating. <https://doi.org/10.1021/la302732w>
- Lupi, F. M., Fernandes, H. M. L., Si-Correial, I., & Novais', J. M. (1991). Temperature profiles of cellular growth and exopolysaccharide synthesis by *Botryococcus braunii* Kfitz. UC 58. In *Journal of Applied Phycology* (Vol. 3). Retrieved from <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F00003917.pdf>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Markou, G., & Nerantzis, E. (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1532–1542. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011>
- Marzo, G., Loffredi, R., Marchetti, E., Di Martino, S., Di Pietro, C., & Marinelli, G. (2008). *IN VITRO ANTIBACTERIAL EFFICACY OF VICRYL PLUS SUTURE (COATED POLYGLACTIN 910 WITH TRICLOSAN) USING ZONE OF INIBITION ASSAYS* (Vol. 1). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3476502/pdf/oai-43-48.pdf>
- Masini, B. D., Stinner, D. J., Waterman, S. M., & Wenke, J. C. (2011). Bacterial Adherence to Suture Materials. *Journal of Surgical Education*, 68(2), 101–104. <https://doi.org/10.1016/j.jsurg.2010.09.015>
- Mayer, A. M. S., Rodríguez, A. D., Tagliatalata-Scafati, O., & Fusetani, N. (2013). Marine pharmacology in 2009-2011: Marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of . *Marine Drugs*, 11(7), 2510–2573. <https://doi.org/10.3390/md11072510>
- Mccourt, A. E. A., Editor, C., & Roy, H. (2013). *Antimicrobial agents*. 2(1), 1–5.
- Mendiola, J. A., Torres, C. F., Toré, A., Martín-Álvarez, P. J., Santoyo, S., Arredondo, B. O., ... Ibáñez, E. (n.d.). *Use of supercritical CO 2 to obtain extracts with antimicrobial activity from Chaetoceros muelleri microalga. A correlation with their lipidic content. Authors.* <https://doi.org/10.1007/s00217->

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Mobin, S., & Alam, F. (2017). Some Promising Microalgal Species for Commercial Applications: A review. *Energy Procedia*, 110(December 2016), 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.177>
- Morais, M. G., Vaz, B. da S., de Moraes, E. G., & Costa, J. A. V. (2015). Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. *BioMed Research International*, 2015, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/835761>
- Mudimu, O., Rybalka, N., Bauersachs, T., Born, J., Friedl, T., & Schulz, R. (2014). Biotechnological Screening of Microalgal and Cyanobacterial Strains for Biogas Production and Antibacterial and Antifungal Effects. *Metabolites*, 4(2), 373–393. <https://doi.org/10.3390/metabo4020373>
- Najdenski, H. M., Gigova, L. G., Iliev, I. I., Pilarski, P. S., Lukavský, J., Tsvetkova, I. V., ... Kussovski, V. K. (2013). Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(7), 1533–1540. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12122>
- Obermeier, A., Schneider, J., Föhr, P., Wehner, S., Kühn, K. D., Stemberger, A., ... Burgkart, R. (2015). In vitro evaluation of novel antimicrobial coatings for surgical sutures using octenidine. *BMC Microbiology*, 15(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0523-4>
- Obermeier, Andreas, Schneider, J., Wehner, S., Matl, F. D., Schieker, M., Von Eisenhart-Rothe, R., ... Burgkart, R. (2014). Novel high efficient coatings for anti-microbial surgical sutures using chlorhexidine in fatty acid slow-release carrier systems. *PLoS ONE*, 9(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101426>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ohta, S., Shiomi, Y., Kawashima, A., Aozasa, O., Nakao, T., Nagate, T., ... Miyata, H. (1995). *Dunaliella primolecta* on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Phycology*, 121–127.
- Oliveira, M., Dias, R., & Pomba, C. (2014). *Biofilm and fluoroquinolone resistance of canine Escherichia coli uropathogenic isolates* (Vol. 7). <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-499>
- Ördög, V., Stirk, W. A., Bálint, P., van Staden, J., & Lovász, C. (2012). Changes in lipid, protein and pigment concentrations in nitrogen-stressed *Chlorella minutissima* cultures. *Journal of Applied Phycology*, 24(4), 907–914. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9711-2>
- Ördög, V., Stirk, W. A., R., L., M., B., M., S., J., S., ... L., N. (2004). Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *Journal of Applied Phycology*, 16(May 2004), 309–314. <https://doi.org/10.1023/b>
- Ozdemir, G., Conk Dalay, M., & Demirel, Z. (2004). Antibacterial Activity of Volatile Component and Various Extracts of *Porphyridium cruentum*. *Microbiology*, 757(June), 27853–27853.
- Parniakov, O., Barba, F. J., Grimi, N., Marchal, L., Jubeau, S., Lebovka, N., & Vorobiev, E. (2015). Pulsed electric field assisted extraction of nutritionally valuable compounds from microalgae *Nannochloropsis* spp. using the binary mixture of organic solvents and water. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27, 79–85. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2014.11.002>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Pina-Pérez, M. C., Rivas, A., Martínez, A., & Rodrigo, D. (2017). Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food Chemistry*, 235, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.033>
- Priyadarshani, I., & Rath, B. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae – A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(4), 89–100. Retrieved from <http://jalgalbiomass.com/paper14vol3no4.pdf>
- Quan, Y., Yang, S., Wan, J., Su, T., Zhang, J., & Wang, Z. (2015). Optimization for the extraction of polysaccharides from *Nostoc commune* and its antioxidant and antibacterial activities. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 52, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.02.004>
- Rao, A. Ranga, Reddy, A. H., & Aradhya, S. M. (2010). Antibacterial properties of *Spirulina platensis*, *Haematococcus pluvialis*, *Botryococcus braunii* micro algal extracts. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 4(3), 809–819.
- Rao, Ambati Ranga, Sarada, R., Baskaran, V., & Ravishankar, G. A. (2006). Antioxidant activity of *Botryococcus braunii* extract elucidated in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4593–4599. <https://doi.org/10.1021/jf060799j>
- Rashid, N., Ur Rehman, M. S., Sadiq, M., Mahmood, T., & Han, J. I. (2014). Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 40, 760–778. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.104>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Rastogi, R. P., & Sinha, R. P. (2009). Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, Vol. 27, pp. 521–539. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.04.009>
- Razzak, S. A., Ali, S. A. M., Hossain, M. M., & deLasa, H. (2017). Biological CO<sub>2</sub> fixation with production of microalgae in wastewater – A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 76, 379–390. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2017.02.038>
- Rees Clayton, E. M., Todd, M., Dowd, J. B., & Aiello, A. E. (2011). The impact of bisphenol A and triclosan on immune parameters in the U.S. population, NHANES 2003-2006. *Environmental Health Perspectives*, 119(3), 390–396. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002883>
- Rodríguez-Meizoso, I., Jaime, L., Santoyo, S., Señoráns, F. J., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2010). Subcritical water extraction and characterization of bioactive compounds from *Haematococcus pluvialis* microalga. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 456–463. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.03.014>
- Rothenburger, S., Spangler, D., Bhende, S., & Burkley, D. (2002). *In Vitro* Antimicrobial Evaluation of Coated VICRYL\* Plus Antibacterial Suture (Coated Polyglactin 910 with Triclosan) using Zone of Inhibition Assays. *Surgical Infections*, 3(s1), s79–s87. <https://doi.org/10.1089/sur.2002.3.s1-79>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Rouhollahi, F., Hosseini, S. A., Alihosseini, F., Allafchian, A., & Haghghat, F. (2018). Investigation on the Biodegradability and Antibacterial Properties of Nanohybrid Suture Based on Silver Incorporated PGA-PLGA Nanofibers. *Fibers and Polymers*, 19(10), 2056–2065. <https://doi.org/10.1007/s12221-018-8316-7>
- Salama, E. S., Hwang, J. H., El-Dalatony, M. M., Kurade, M. B., Kabra, A. N., Abou-Shanab, R. A. I., ... Jeon, B. H. (2018). Enhancement of microalgal growth and biocomponent-based transformations for improved biofuel recovery: A review. *Bioresource Technology*, 258(December 2017), 365–375. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.006>
- SANCHEZ, I. R., SWAIM, S. F., NUSBAUM, K. E., HALE, A. S., HENDERSON, R. A., & McGUIRE, J. A. (1988). Effects of Chlorhexidine Diacetate and Povidone-Iodine on Wound Healing in Dogs. *Veterinary Surgery*, 17(6), 291–295. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.1988.tb01019.x>
- Shannon, E., & Abu-Ghannam, N. (2016). Antibacterial derivatives of marine algae: An overview of pharmacological mechanisms and applications. *Marine Drugs*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/md14040081>
- Singh, S. P., & Singh, P. (2014). Effect of CO<sub>2</sub> concentration on algal growth: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.05.043>
- Smith, V. J., Desbois, A. P., & Dyrinda, E. A. (2010). Conventional and unconventional antimicrobials from fish, marine invertebrates and micro-algae. *Marine Drugs*, 8(4), 1213–1262. <https://doi.org/10.3390/md8041213>

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tandon, P., & Jin, Q. (2017). Microalgae culture enhancement through key microbial approaches. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 80(July 2016), 1089–1099. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.260>
- Temina, M., Rezankova, H., Rezanka, T., & Dembitsky, V. M. (2007). Diversity of the fatty acids of the Nostoc species and their statistical analysis. *Microbiological Research*, 162, 308–321. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.01.010>
- Volk, R. B. (2008). A newly developed assay for the quantitative determination of antimicrobial (anticyanobacterial) activity of both hydrophilic and lipophilic test compounds without any restriction. *Microbiological Research*, 163(2), 161–167. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.03.015>
- Walter, A. L. S. (2016). *Coesite Discovered in Tektites Published by: American Association for the Advancement of Science Stable URL: <http://www.jstor.org/stable/1715232> REFERENCES Linked references are available on JSTOR for this article: You may need to log in to JSTOR to ac.* 147(3661), 1029–1032.
- Yang, Y., Yang, S. B., Wang, Y. G., Zhang, S. H., Yu, Z. F., & Tang, T. T. (2017). Bacterial inhibition potential of quaternised chitosan-coated VICRYL absorbable suture: An in vitro and in vivo study. *Journal of Orthopaedic Translation*. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2016.10.001>
- Yazdankhah, S. P., Scheie, A. A., Høiby, E. A., Lunestad, B.-T., Heir, E., Fotland, T. Ø., ... Kruse, H. (2006). Triclosan and Antimicrobial Resistance in Bacteria: An Overview. *Microbial Drug Resistance*, 12(2), 83–90. <https://doi.org/10.1089/mdr.2006.12.83>

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

Zhao, B., Zhang, Y., Xiong, K., Zhang, Z., Hao, X., & Liu, T. (2011). Effect of cultivation mode on microalgal growth and CO<sub>2</sub> fixation. *Chemical Engineering Research and Design*, 89(9), 1758–1762. <https://doi.org/10.1016/J.CHERD.2011.02.018>

Zhu, L. D., Hiltunen, E., Antila, E., Zhong, J. J., Yuan, Z. H., & Wang, Z. M. (2013). *Microalgal biofuels: Flexible bioenergies for sustainable development*. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.11.003>

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarımda bana destek olan, akademik alanda çeőitli kazanımlar elde etmemi sağlayan tez danıőmanım Doç. Dr. Suphi Ő. ÖNCEL'e, değerli bilgilerini paylaőan, laboratuvarını kullanımıma ačan ve gerekli malzemeleri kullanmama olanak sağlayan Prof. Dr. E. Esin HAMEŐ TUNA'ya, teknik destek ve yardımlarda bulunan Özgün GERMİYAN, Neriman SAFA ve Ayőegül İNAM'a, Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Mikroalgal Proses Laboratuvarı çalıőma arkadaşlarıma ve çalıőmalarım sırasında malzeme tedarikiğini sağlayan Katsan Katgüt San. ve Tic A.Ő.'ye ve EGERT firmasına teőekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans eđitimim de dahil olmak üzere tüm öğrenim sürecim boyunca desteklerini benden esirgemeyen, benimle birlikte tüm güzelliikleri ve zorlukları paylaőan aileme de çok teşekkür ederim.

26.08.2019

Merve TOKGÖZ



## ÖZGEÇMİŞ

**1. Adı Soyadı:** Merve TOKGÖZ

**Mesleği:** Biyomühendis, Üretim ve Üretim Planlama Mühendisi

### İletişim Bilgileri

Adres: KATSAN Katgüt San. ve Tic. A.Ş AOSB 10041 sok. No: 22  
Çiğli/İZMİR

Telefon: 0506 755 1720

Mail:merveetokgoz@gmail.com

**2. Doğum Tarihi ve Yeri:**27.05.1991- Aydın

### 3. Öğrenim Durumu:

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisan: 3,22	Biyomühendislik	Ege Üniversitesi	2010-2015
Yüksek Lisans	Biyomühendislik	Ege Üniversitesi	2015-...

#### **4. Projeler**

2014-2015: TÜBİTAK 2241-A (2209-B) Sanayi Odaklı Lisans Bitirme Tezi Projesi

#### **5. Tezler**

##### Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Suphi Ş. Öncel, Devam Ediyor.

##### Lisans Tezi

#### **6. Eserler**

##### A.Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

A1. A.Köse, Ş.D.Çetmi, E.T.Duman, Y.Öz, T.Mutaf, E.Canbay, F.Can, İ.Özkan, A.İnam, M.Tokgöz, S.S.Öncel, 2. Alg Teknolojisi Sempozyumu dahilinde, "Özet Kitapçığı", bildiri kitapçığındaki " Mikroalgal Mimari ve Estetik ", 67s., İzmir, Türkiye, 24-27 Mayıs 2016, Poster Sunumu.

#### **7. İş Deneyimi**

Haziran, 2017-...: Üretim ve Üretim Planlama Mühendisi, KATSAN Katgüt San ve Tic. A.Ş, İzmir

Ağustos, 2014: Zorunlu Staj (Sayan Tıbbi, İzmir)

## 8. Etkinlikler

Kasım 2017: '5S Prensipleri' Semineri, Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi (Manisa/Türkiye)

Ekim, 2017: 'Kuruluş İçi Kalite Denetçisi' Semineri, Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi (Manisa/Türkiye)

Ekim, 2017: 'TS-EN ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi' Semineri, Ümmehan Elginkan Mesleki ve Teknik Eğitim Merkezi (Manisa/Türkiye)

Ekim, 2015: Loopege Lisansüstü Öğrencileri Oryantasyon Programı, Ege Üniversitesi EBİLTEM-TTO, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mühendislik Fakültesi (İzmir/Türkiye)

Mayıs, 2015: 12. Biyomühendislik Günleri, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü (İzmir/Türkiye): Poster Sunumu

Mart, 2014: 2.Biyomühendislik Öğrenci Kongresi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü (İzmir/ Türkiye)