



# PVC Kan Torbalarının Antimikrobiyal Özelliklerinin ve Biyoyumluluğunun Fiziksel Adsorpsiyon Tekniği ile Artırılması

Gülşah Arslan<sup>1</sup>, Fikret K. Karademir<sup>2</sup>, Fatma Ayhan<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilimdalı, Biyokimya&Biyomalzemeler Araştırma Grubu (BIOMATREG), Muğla, Türkiye. (ORCID: 0000-0002-4362-2112), [gulsah.arslan@outlook.com](mailto:gulsah.arslan@outlook.com)

<sup>2</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Marmaris, Muğla, Türkiye. (ORCID: 0000-0003-0523-8221), [fkademir@mu.edu.tr](mailto:fkademir@mu.edu.tr)

<sup>3</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilimdalı, Biyokimya&Biyomalzemeler Araştırma Grubu (BIOMATREG), Muğla, Türkiye (ORCID: 0000-0003-2220-4496), [fayhan@mu.edu.tr](mailto:fayhan@mu.edu.tr)

(İlk Geliş Tarihi 26 Kasım 2022 ve Kabul Tarihi 22 Mayıs 2023)

(DOI: 10.31590/ejosat.1210393)

**ATIF/REFERENCE:** G. Arslan, F.K. Karademir, F. Ayhan. (2023). Fiziksel Adsorpsiyon Tekniğiyle Kan Torbası Malzemelerine Antimikrobiyal Özellik ve Biyoyumluluk Kazandırılması. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (51), 48-62.

## Öz

Tek kullanımlık kan torbaları içine alınan kan dondurulmadan en fazla 1 hafta dayanıklıdır. Kan torbalarının içinde antikoagülan olarak sodyum sitrat bulunur. Dondurulduktan sonra çözülerek hastalara verilen kan vücut tarafından etkin şekilde değerlendirilememektedir. Hasta vücutlarının verilen kanı daha etkin bir şekilde kullanabilmesi adına ve kanın daha uzun süre dayanım kazanması ve dondurulup-çözülen kanın şekilli kan hücrelerinde bozulmaları engellemek amacıyla kan torbası iç yüzeyinde bazı yüzey modifikasyon işlemleri yapılmıştır. Dondurulmadan verilecek kanın hastanın iyileşme sürecine etkisinin daha büyük olacağı açıktır. Ticari kan torbalarının biyoyumluluğun artırılması ve antibakteriyel özellik kazanımı için yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, Medikal özellikli Polivinil klorürden (medical grade PVC) üretilmiş tek kullanımlık kan torbalarının kan ile temas halinde olan yüzeylerinin özelliklerinin değiştirilmesinde fiziksel adsorpsiyon yöntemi kullanılmıştır. Konvansiyonel kimyasal adsorpsiyon yöntemleri ile gelen safsızlıkların ve toksisite faktörlerinin azaltılması ve yüzey adsorpsiyon kapasitesinin artırılması amacıyla bu yöntem seçilmiştir. Sonraki yüzey modifikasyon işlemlerinde fiziksel adsorpsiyon kullanılmıştır. Bu bağlamda kan torbalarının iç yüzeyleri üç farklı yöntem ile modifiye edilmiştir. Fiziksel adsorpsiyon yönteminde biyomalzeme yüzeyleri PEG, AgNP ve PEG+AgNP olmak üzere üç farklı şekilde modifiye edilmişlerdir. Araştırmada Muğla yöresi *Liquidambar orientalis* Mill. (Sığıla ağacı) bitkisinin yaprak özütü kullanılarak gümüş nanoparçacık sentezi gerçekleştirilmiştir. FTIR spektrumları ile yüzeyde oluşan fonksiyonel grup değişimleri belirlenmiş, biyoyumlu malzeme olan PEG'in de biyomalzeme yüzeyindeki varlığı benzer şekilde fonksiyonel gruplar ile doğrulanmıştır. Modifiye edilen yüzeylerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacı ile nazokomyal mikroorganizmaların üremeleri Disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bakteriler (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Metisilin dirençli S. aureus*) Nutrient besi ortamında, *C. albicans* ise Saboraud dekstroz besi ortamında aktifleştirildikten sonra Muller Hinton agar bulunan Petri kutularına ekilmişlerdir. Yüzey özellikleri değiştirilen ve belli büyüklükte hazırlanan biyomalzemeler 2 cm aralıklarla besiyerine yerleştirilip inkübasyona bırakılarak süre sonunda inhibisyon zonları ölçülmüştür. İşlem görmemiş yüzeylerde antimikrobiyal aktivite %50 iken Fiziksel adsorpsiyon denemelerinde bu değer %89'a ulaşmıştır. Sonuç olarak önerilen Fiziksel adsorpsiyon yöntemi ile nazokomyal mikroorganizma türlerine karşı antimikrobiyal aktivite kazandırmak için kullanılabileceği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** PVC Kan Torbası, Yüzey Modifikasyonu, Adsorpsiyon, Poli(etilen glikol) (PEG), Gümüş Nanopartikül, Antimikrobiyal Aktivite, Biyoyumluluk.

\* Sorumlu Yazar: [fayhan@mu.edu.tr](mailto:fayhan@mu.edu.tr)

# Enhancement of Antimicrobial Properties and Biocompatibility of PVC Blood Bags by Physical Adsorption Technique

## Abstract

The blood taken to single use blood bags can be stored up to one week without freezing. Blood bags contain sodium citrate as anticoagulant. The use of defrozed blood in patients can not be beneficial effectively by body. The inner surface of the disposable blood bags was modified with several methods in order to be more effective when used in patient, make blood to stored for longer period, and to prevent the lysis of the blood cells after frozen and defrozed processes. It is clear the the use of blood without freezing will be more effective in healing time of patients. The surface of the commercial blood bags was modified in order to increase the biocompatibility and gain antibacterial property. For this purpose, physical adsorption method wase used to change the single use blood bag's surface made from medical grade polyvinyl chloride (PVC) that contact with blood. Physical adsorption was selected due to trace materials and toxicity factors coming from conventional chemical adsorption methods and to increase the adsorption capacity. Hence, surface modification processes were conducted with physical adsorption method. In this context, the inner surface of single use blood bags was modified by using three methods. Biomaterial surfaces were modified with physical adsorption method with three different types of arrangements which are selected as PEG, AgNP ve PEG+AgNP. The silver nanoparticles (AgNPs) synthesized with green chemistry approach in our group to attain antibacterial properties. The AgNPs synthesis was performed by liquid leave broth of Muğla region *Liquidambar orientalis* Mill. (Siğla ağacı) plant. The change in functional groups were determined by FTIR spectrums, the presence of biocompatible material, PEG was also conformed by ith functional groups on biomaterial surface. In order to determine the antimicrobial activities of modified surfaces, the growth of nosocomial microorganisms was estimated by Disk diffusion method. The culturing in Muller Hinton agar containing petri dishes were performed after the activation of bacteria (*E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Metisilin dirençli S. aureus*) in Nutrient broth, and *C. albicans* in Saboraud dextrose. Biomaterials with different surface properties were cutted at predetermined size were placed on growth media to incubate and the inhibition zones formed after incubation time were measured. Antimicrobial activity on untreated surfaces was about 50 % while it was calculated. This ratio reached to 89 % in physical adsorption tests. In conclusion, the proposed methods can be used to add antimicrobial activity on biomaterial surfaces againts nosocomial microorganism types.

**Keywords:** PVC Blood Bag, Surface Modification, Adsorption, Poly(ethylene glycol) (PEG), Silver Nanoparticles, Antimicrobial Activity, Biocompatibility.

## 1. Giriş

Kanın insan hayatı içi önemi oldukça büyüktür. Kan içerisinde tüm doku, organ ve sistemleri besleyebilecek biyolojik materyalleri barındırır. Kan damarlar içerisinde sürekli hareket halinde olan Canlı bir sıvıdır. Bu sıvı iki temel kısımdan oluşmaktadır Plazma ve Hücreler. Plazma kısmı büyük oranda sudan meydana gelir ve içerisinde besin maddeleri, proteinler ve metabolitler gibi birçok katı maddeyi barındırmakta ve bunların dokulara naklini sağlamaktadır. Normal bir insanda 5000-6000 mL (5-6 litre) kadar kan bulunmaktadır. Kanın % 50-60'ı sıvı kısım olan plazmadan ve %40-50'si ise hücrelerden meydana gelmektedir. Plazmanın % 90'ı sudur. Kalan %10 ise katı maddeleri içerir. Bunların % 8'i proteinler, % 2'si ise diğer çözülmüş maddelerdir. Kanın temel Protein içeriği Albumin % 60, Globulinler % 36, Fibrinojen % 4. Şekli elemanlar (Hücreler) ise Eritrositler, Lökositler, Parçalı Lökositler (Granulositler, PMNL), Nötrofiller, Bazofiller, Eozinofiller, Parçalı Olmayan, Lökositler (Agranulositler, MNL), Lenfositler, Monositler, Trombositler (Platletler)dir.

Modern tıp uygulamaları içerisinde vazgeçilmez araçlardan biri olan kan ile teması olan biyomalzemeler belirli amaçlarla uzun süre kullanılabilir. Bu geniş amaçlı, yararlı kullanımlarıyla kan ile teması olan biyomalzemeler, hastalar için büyük yararlar sağlamakla birlikte; gerek mekanik gerekse enfeksiyöz komplikasyonlar sebebiyle önemli derecede mortalite ve morbiditeye neden olurlar. Uzun süreli kalıcı biyomalzeme kullanımının en önemli komplikasyonları trombüs oluşumu ve enfeksiyondur. Özellikle *S.aureus* gibi biyofilm tabaka oluşturan ve virülanları yüksek bakterilerin osteomyelit ve endokardit gibi sistemik enfeksiyon yapma ve erken rekürrens sıklığı daha yüksektir. Kan ile teması olan biyomalzemelerin kolonizasyonunun en sık karşılaşılan etkenleri koagulaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida* türleri gibi biofilm oluşturabilen mikrobiyal organizmalardır. Söz konusu enfeksiyonlar kan ile teması olan biyomalzemelerin yüzeylerinde oluşan biyofilm tabakası ile ilişkilidir. Biyomalzeme yerleştirildikten sonra üç gün içinde **kolonizasyon** ve **biyofilm** oluşur. On günden kısa sürelerde biyofilm biyomalzemenin dış yüzünde oluşurken, 30 günden uzun sürelerde iç yüzeyinde de oluştuğu gösterilmiştir.

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

Polietilen glikol (PEG), polimer-protein konjugatların hazırlanmasında kullanılan alternatif polimerdir. Tekrarlayan etilen oksit monomerleri içerirler ve birkaç türde bu monomerler birleştirilebilir. PEG küçük veya büyük bir PEG molekülü olarak veya 2 PEG

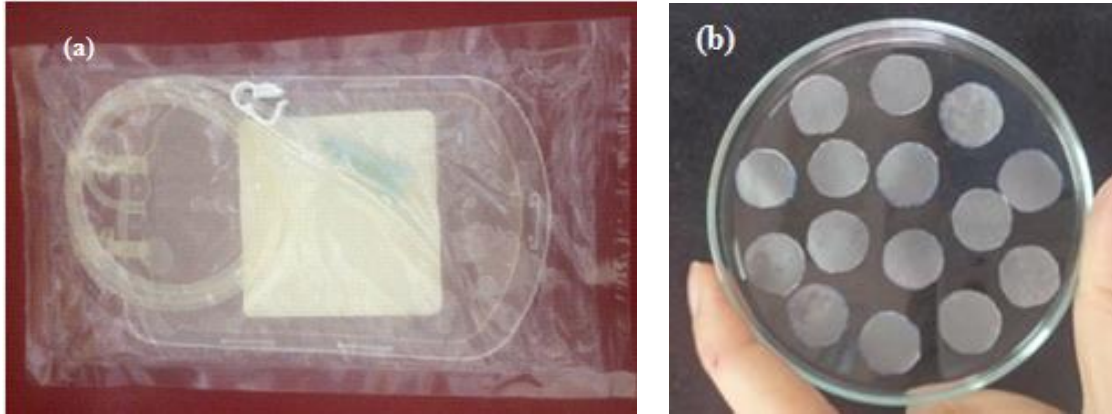
molekölü olarak tek bir noktaya veya çok sayıda küçük zincirler olarak ilişkili proteinin yapısına yapıştırılabilir. PEG'in avantajları: Yüksüz, çözünür, nontoksik ve nonimmunojenik oluşudur ve bu nedenle de aktif biyomolekülleri korumak için ideal bir malzemedir.

Nanopartikül (NP) üretiminde maliyetin engelleyici bir unsur olması ve boyutları nedeniyle risklerinin engellenememesi, aynı zamanda bu risklerin tam olarak bilinmemesi nedeniyle son yıllarda mikroplar, mantarlar ve çeşitli bitki özütleri kullanılarak yeni üretim metotları denenmeye başlanmıştır. Bu yöntemler biyosentez tanımını altında canlı organizmalardaki kimyasal süreçleri belirten terimdir ve enerji kullanılarak gerçekleştirilen bu süreçler basit yapıdaki maddelerden daha karmaşık ürünler elde edilmesini sağlar. Biyosentezin basit ve ekonomik oluşu, toksik madde kullanımı gerektirmemesi, farmakolojik ve biyomedikal uygulamalara uygun, geniş yelpazede ticari üretime elverişli olması gibi avantajlarından dolayı günümüzde sıkça kullanılan bir yöntem haline gelmiştir. Ayrıca yeşil kimya açısından da sentez için seçilen çözünücü ortamı, çevre açısından tehlikesiz indirgeme ajanının seçimi ve nanoparçacıkların sabitlenmesi için zehirli olmayan bir maddenin seçimi yönleri ile de biyolojik yöntemler önem kazanmaktadır.

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

## 2. Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan biyomalzeme (kan torbası) ticari olarak satılan bir (Medical Grade PVC) Polivinil Klorür malzemedir. Satın alma yoluyla temin edilen polimerik PVC biyomalzemenin görüntüsü Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. (a) Araştırmada Kullanılan PVC Kan Torbası; (b) Deneylerde Kullanılan PVC Biyomalzeme Örnekleri. ((a) PVC Blood Bag Used in Research; (b) Samples of PVC Biomaterials Used in Experiments.)

### 2.1. AgNP Sentezi (Çevreci yaklaşımla)

Eylül ayında toplanmış, yıkanmış, kurutulmuş sığla yapraklarından 0.15 g tartılarak kaynama noktasına erişmiş 150 ml bidistile saf suyun içine atıldıktan sonra manyetik ısıtıcıda 100°C'de 20 dakika kaynatılmıştır. Çözelti oda sıcaklığında soğutulduktan sonra kaba filtre yardımıyla süzülmüştür. İkinci aşamada 10 ml özüte 1 ml gümüş nitrat ve 89 ml ultra saf su konularak 100 ml'lik çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti 1,5 µl'lik eppendorf tüplerde soğutmalı santrifüjde 14000 rpm/20000 g'de 1 saat santrifüj edilmiştir. Eppendorf tüplerden süpernatantları alınmış çökeklere 500 µl ultra saf su ilave edilerek ve 5 saat süreyle sonikasyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen 500ml'lik gümüş nanopartikül çözeltisine gravimetrik analiz uygulanarak miktar tayini yapılmış, AgNP çözeltisinin derişimi 1 mg/ml olarak belirlenmiştir. Karakterizasyon amacıyla AgNP'lerin TEM görüntüsü, boyut analizi elde edilmiştir.

### 2.2. Fiziksel Adsorbsiyon Yöntemiyle Yüzey Modifikasyonu

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

#### 2.2.1. Biyomalzeme Yüzeylerine PEG Adsorpsiyonu

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

fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Fiksasyon sonrasında örnekler steril poşetlere azot atmosferinde alınarak mikrobiyolojik analiz için +4°C’de muhafaza edilmiştir.

### 2.2.2. Biyomalzeme Yüzeylerine AgNP Adsorpsiyonu

Çapı 1 cm, yüzey alanı 3.14 cm<sup>2</sup> olan Medical Grade PVC yüzeylerden 15 adet steril petriye alınmıştır. Biyomalzeme yüzeyine (Medical Grade PVC) derişimi 1 mg/ml olarak ölçülen AgNP çözeltisinden 5 ml damlatılmıştır. Kuru çalkalamalı banyoda 30 cpm’de 3 saat boyunca çalkalanmıştır. 3 saat sonunda steril poşetlere alınan örnekler azot ortamında +4 C’de mikrobiyolojik analiz için saklanmıştır.

### 2.2.3. PEG Kaplı Biyomalzeme Yüzeylerine AgNP Adsorpsiyonu

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

## 2.3. Modifiye yüzeylerin karakterizasyonu

### 2.3.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile karakterizasyon

Sentezlenen hidrojellerin yapısal olarak karakterizasyonunda Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) kullanılmıştır. ATR-FTIR ile karakterizasyon için modifikasyonu yapılan yüzeyler ATR aparatı kullanılarak ölçüm alınarak yapısal karakterizasyonu yapılmıştır.

### 2.3.2. Scanning Electron Microscope (SEM) (Taramalı Elektron Mikroskobu) ile karakterizasyon

Modifikasyonu yapılan yüzeylerin yapısal karakterizasyonunda Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu, SEM) ile görüntüleri alınmıştır. SEM ile karakterizasyonda görüntü almak için öncelikle yüzeyler ince film halinde altın kaplama yapılmıştır. Altın ile kaplanan yüzeyler SEM cihazı ile görüntülenmiştir. Alınan görüntüler incelenerek yapısal karakterizasyonu yapılmıştır.

## 2.4. Biyomalzemenin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

Nazokomial mikroorganizmalar olarak da bilinen *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Metisilin Dirençli Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* türleri ile çalışılmıştır. Bu mikroorganizmalar en sık karşılaşılan patojen mikroorganizmalardır. Yukarıda sözü edilen yöntemler ile yüzey özellikleri değiştirildikten sonra steril koşullarda poşetlere azot atmosferinde alınmış ve +4°C’de muhafaza edilmiş biyomalzeme örneklerin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacı ile disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite ölçümleri fiziksel adsorpsiyon yöntemleri ile elde edilmiş yüzeylerde ekimler yapılmıştır.

Mikrobiyolojik ekim yöntemleriyle toplam 6 mikroorganizma ve uygun besi yeri kullanılarak 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriler nutrient besi ortamında, maya sabouraud dekstroz besi ortamında sırasıyla 37°C ve 25°C’ta 24 saat aktifleştirildikten sonra muller hinton agar bulunan petri kutularına ekilmiştir. Yüzey özellikleri değiştirilen 1 cm çaplı polimerik biyomalzeme örnekleri 2 cm aralıklarla besiyerine yerleştirilerek inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, metisilin dirençli *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayasının oluşturduğu inhibisyon bölge çapları ölçülmüştür. Yapılan ekimler sonucunda *Staphylococcus aureus* mikroorganizması dışında tüm mikroorganizmalarda zon çapı oluşmuştur. Çapın büyüklüğü antimikrobiyal aktivitenin ne kadar etkin olduğunu gösterir. Kullanılan örnekler 10 mm çapındadır. Tablo 1’deki değerler çaptan ortalama uzaklığa göre hesaplanmıştır.

Tablo 1. Nazokomial Mikroorganizmalar ve Özellikleri. (Nasocomial microorganisms and their properties.)

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

## 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma



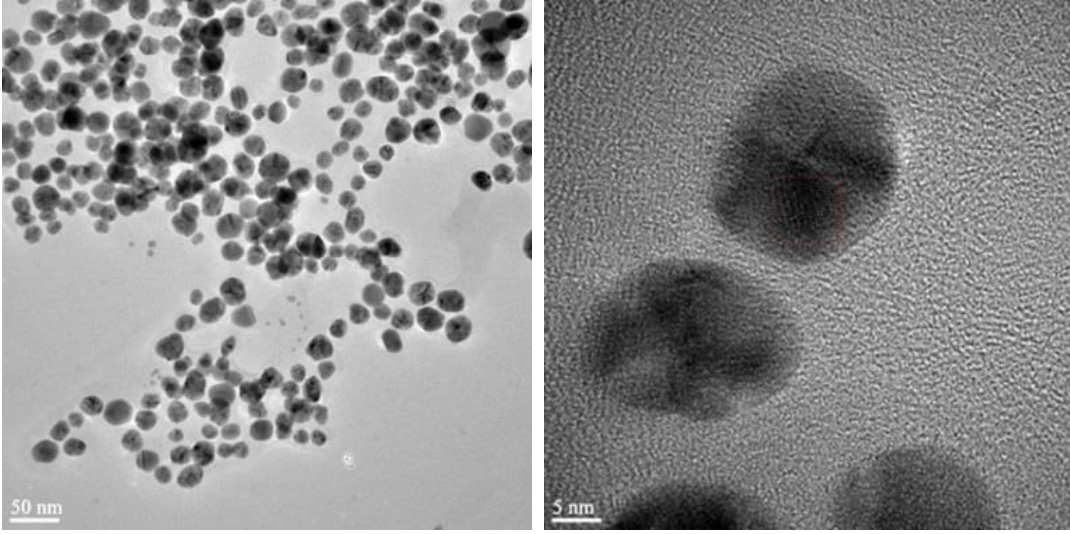
Araştırma kapsamında kan ile temas halinde polimerik bir biyomalzeme olan Medical Grade PVC kan torbalarının, hastane enfeksiyonu olarak da bilinen seçilmiş altı tip nazokomial mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliğinin yüzeye fiziksel adsorpsiyon yöntemiyle yüzey immobilizasyonu sağlanmıştır.

Yüzey adsorpsiyon için biyobozunur bir malzeme olan PEG 2000 ve antimikrobiyal etkinliği bilinen gümüş nanopartiküllerden yararlanılmıştır. Gümüş nanopartikül Yeşil Sentez yöntemi ile yöresel bir bitki olan sığla yapraklarından tarafımızca sentezlenmiştir. Yöntemde Doğrudan adsorpsiyon çalışılmıştır.

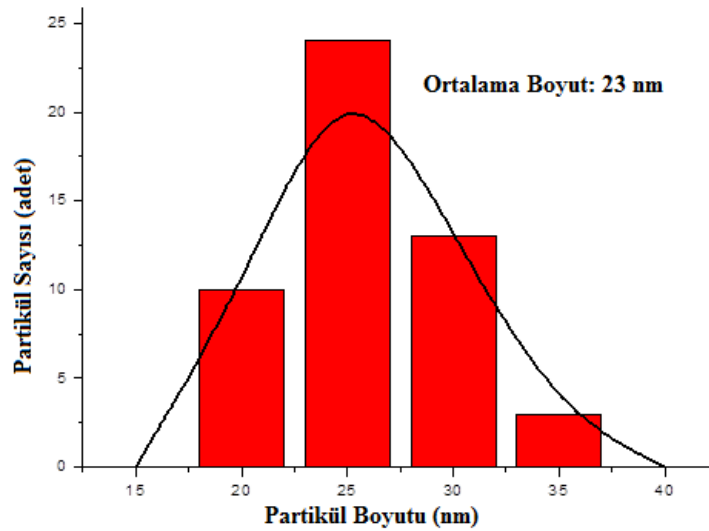
Yüzey modifikasyon işlemleri sonrasında antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Toplamda çalışılan altı tip mikroorganizma suşunun (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, Metisilin Dirençli *S.aureus*, *C. albicans*) her bir yüzey modifikasyonuna parametrelerine duyarlılığı farklı sonuçlar vermiştir. Sentez sırası ve sonrasında elde edilen bulgular ve sonuçlar aşağıda irdelenmiştir.

### 3.1. AgNP Sentezi (Çevreci yaklaşımla)

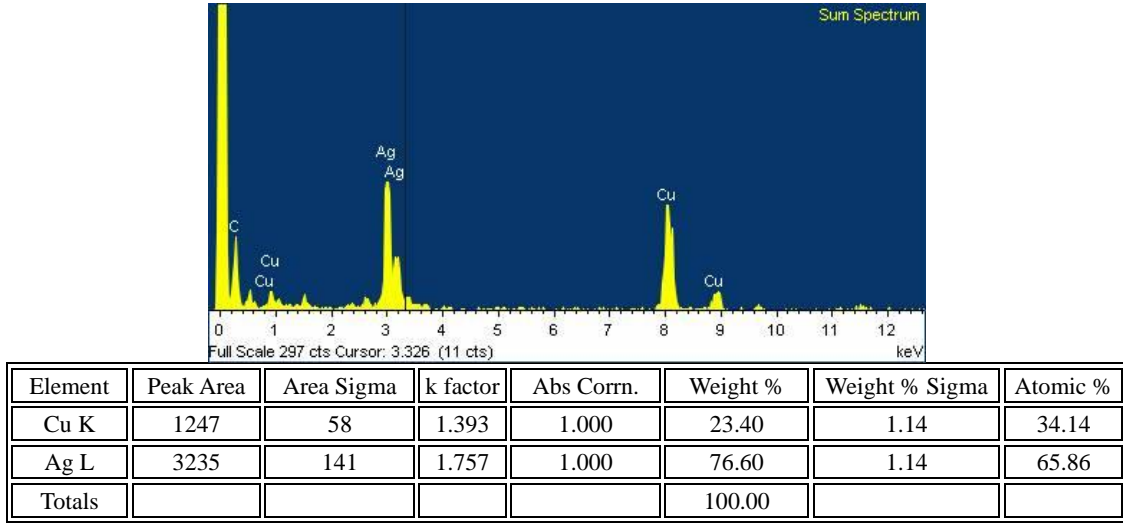
Araştırmada elde edilen bulgular aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir. Çevreci sentez yaklaşımı doğrultusunda yöresel bitki yaprak özütü ile sentezlenen AgNP ait TEM görüntüsü Şekil 2’de verilmiştir. AgNP’lerin parçacık boy dağılımı ise Şekil 3’de yer almaktadır. Verilen sentez koşullarında AgNP 20-35 nm boy dağılımında ve 23 nm ortalama çapa sahip oldukları belirlenmiştir. Sentezlenen AgNP’lerin EDS Analizi Şekil 4’de ve AgNP’lerin FT-IR spektrumu Şekil 5’de verilmiştir.



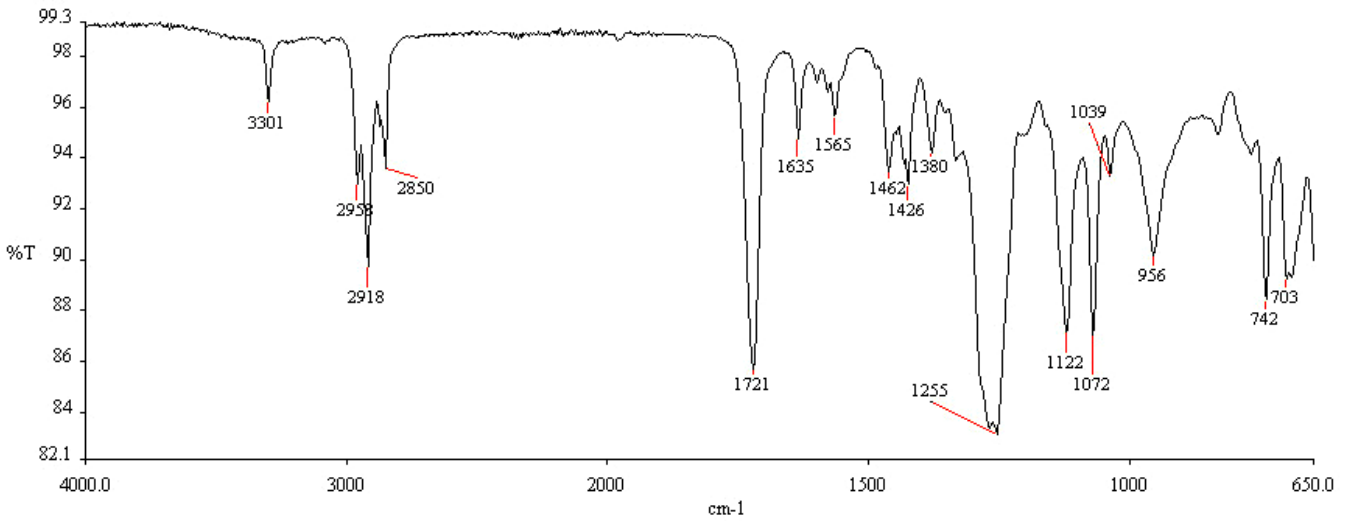
Şekil 2. Sentezlenen AgNP’lerin TEM Fotoğrafları. (TEM Photos of Synthesized AgNPs.)



Şekil 3. Sentezlenen AgNP’lerin Parçacık Boy Dağılımı. (Particle Size Distribution of Synthesized AgNPs.)



Şekil 4. Sentezlenen AgNP'lerin EDS Analizi. (EDS Analysis of Synthesized AgNPs.)



Şekil 5. Sentezlenen AgNP'lerin FT-IR spektrumu. (The FT-IR spectrum of the synthesized AgNPs.)

### 3.2. Fiziksel Adsorpsiyon Yöntemiyle Yüzey Modifikasyonu ve ATR-FTIR ile karakterizasyonu

Bu bölümde yüzeylere Adsorpsiyon yöntemi kullanılarak yüzey özelliklerinin değiştirilmesi sağlanmıştır. Bunun için ilk olarak PEG adsorpsiyon işlemi PEG çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. İkinci yüzey modifikasyonu işlemi için sadece AgNP adsorbe edilmiştir. Üçüncü ve son yöntemde ise PEG ve ardından AgNP adsorpsiyonu ardışık olarak gerçekleştirilmiştir. İşlem Görmemiş Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin ATR-FT-IR Spektrumu Şekil 6'da sunulmuştur.

#### 3.2.1. Biyomalzeme Yüzeylerine PEG Adsorpsiyonu ve ATR-FTIR ile karakterizasyonu

PVC biyomalzeme yüzey özellikleri ilk olarak PEG adsorpsiyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Bu çalışmada PEG 2000 kullanılmıştır. Polivinil klorür yüzeylerine polietilen glikol adsorplandırılmıştır. Polietilen glikol molekülünde bulunan -OH grupları, polivinil klorür yüzeyinde bulunan -Cl'lardan bağlanmıştır.

Şekil 7'deki spektrum polietilen glikol adsorbe edilmiş biyomalzemeye aittir. Gerilme titreşimlerindeki değişimler açıkça görülmektedir. Spektrum incelendiğinde, 3200-3600  $\text{cm}^{-1}$  bölgesindeki O-H gerilmesi, 1255  $\text{cm}^{-1}$  de C-O gerilmesi, 1720 ve 1300-1462  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu arasındaki gerilme pikleri PEG'in yüzeye yerleştiğini göstermektedir.

#### 3.2.2. Biyomalzeme Yüzeylerine AgNP Adsorpsiyonu ve ATR-FTIR ile karakterizasyonu

PVC biyomalzemenin yüzey özellikleri ikinci aşamada AgNP adsorpsiyonu yapılarak modifiye edilmiştir. Çalışmada Yeşil Sentez yolu ile tarafımızca sentezlenmiş AgNP'lerin, polivinil klorür yüzeyine adsorpsiyonu sağlanmıştır. Gümüş nanopartikül çözeltisinde bulunan Ag yüksüz iyonları, polivinil klorür yüzeyine bağlanmıştır.

Şekil 8'deki spektrum gümüş nanopartikül ile adsorbe edilmiş biyomalzemeye aittir. Spektrumdan görüleceği üzere AgNP kaplı yüzeylerin spektrumlarında, PEG yapısında bulunan -OH gerilme titreşiminin iyice azaldığını göstermektedir. Buradan PEG yapısında olan -OH gruplarındaki oksijen ile AgNP arasında bağ oluşumu olabileceğini göstermektedir.

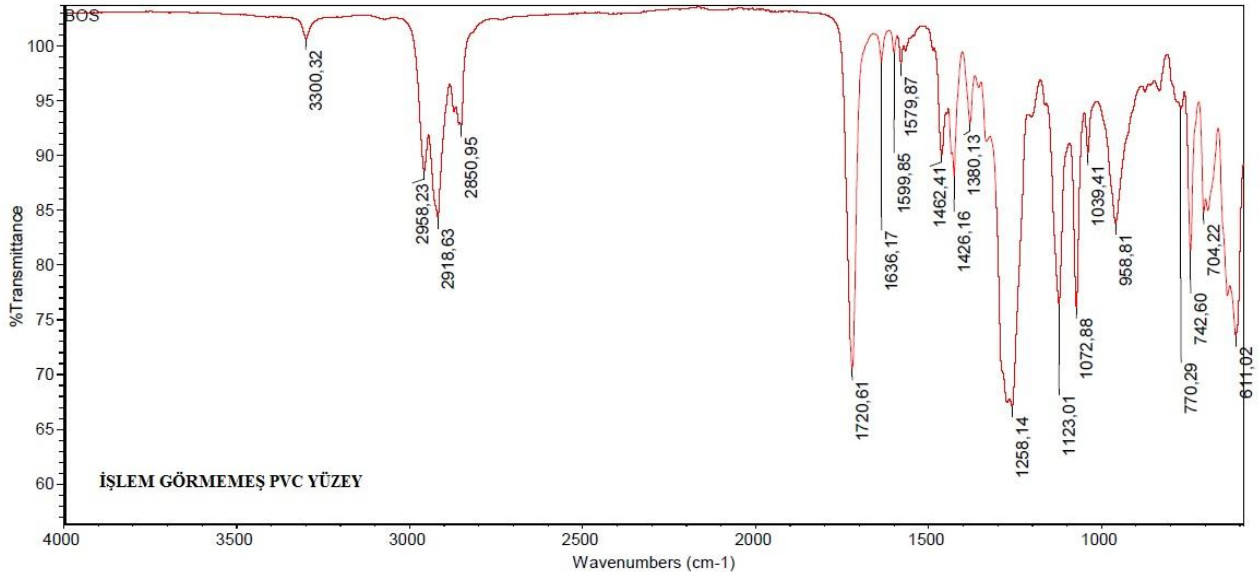
#### 3.2.2. PEG Kaplı Biyomalzeme Yüzeylerine AgNP Adsorpsiyonu ve ATR-FTIR ile karakterizasyonu

Çalışma kapsamında adsorpsiyonun üçüncü uygulaması PVC biyomalzeme yüzeylere PEG+AgNP adsorpsiyonu yapılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 9'daki spektrum Polietilen glikol + Gümüş nanopartikül ile ardışık adsorbe edilmiş biyomalzemeye aittir.

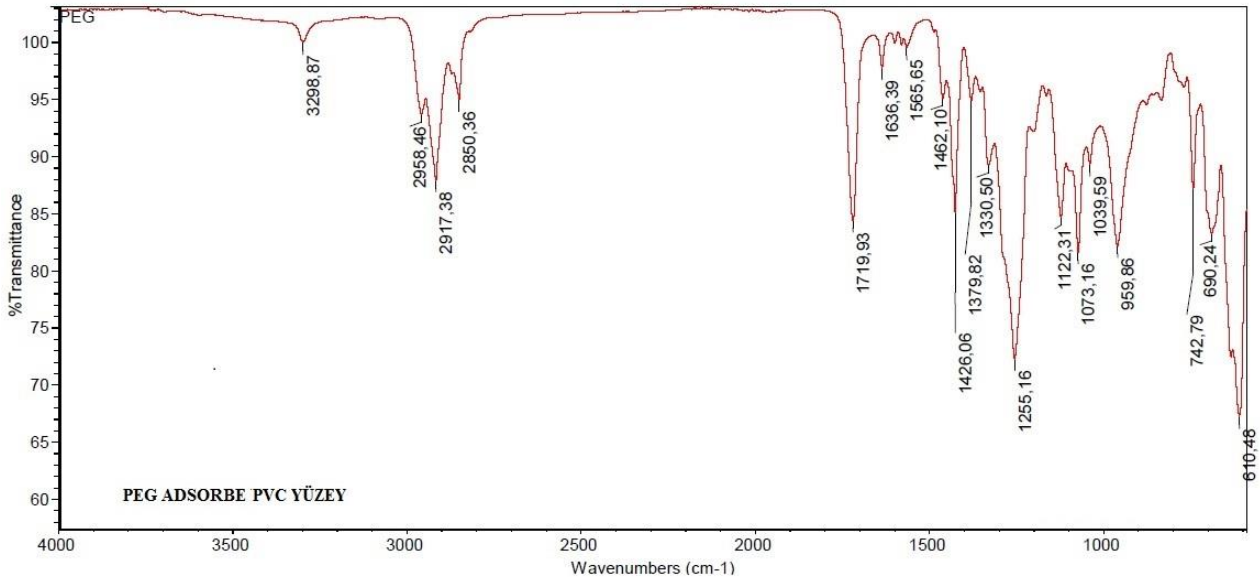
Polietilen glikol ile etkinleştirilmiş örnekler daha sonra gümüş nanopartiküllerle etkinleştirilmiştir. Polietilen glikol kaplanmış yüzeyler üzerinde -OH gruplarına bağlı oksijen ile gümüş nanopartikül çözeltisi içerisinde bulunan Ag iyonları adsorbe edilmiştir. Spektrumda da görüldüğü gibi transmittans değerleri, sadece AgNP adsorpsiyonuna göre düşük, sadece PEG adsorpsiyonuna göre ise yüksektir.

3600-2800  $\text{cm}^{-1}$ 'de -OH gerilme aralığında AgNP ve PEG-AgNP adsorpsiyonlarında çok küçük bir fark görülürken, özellikle 700-800  $\text{cm}^{-1}$ 'de -Cl spektrumunda transmittans farkları ortaya çıkmaktadır.

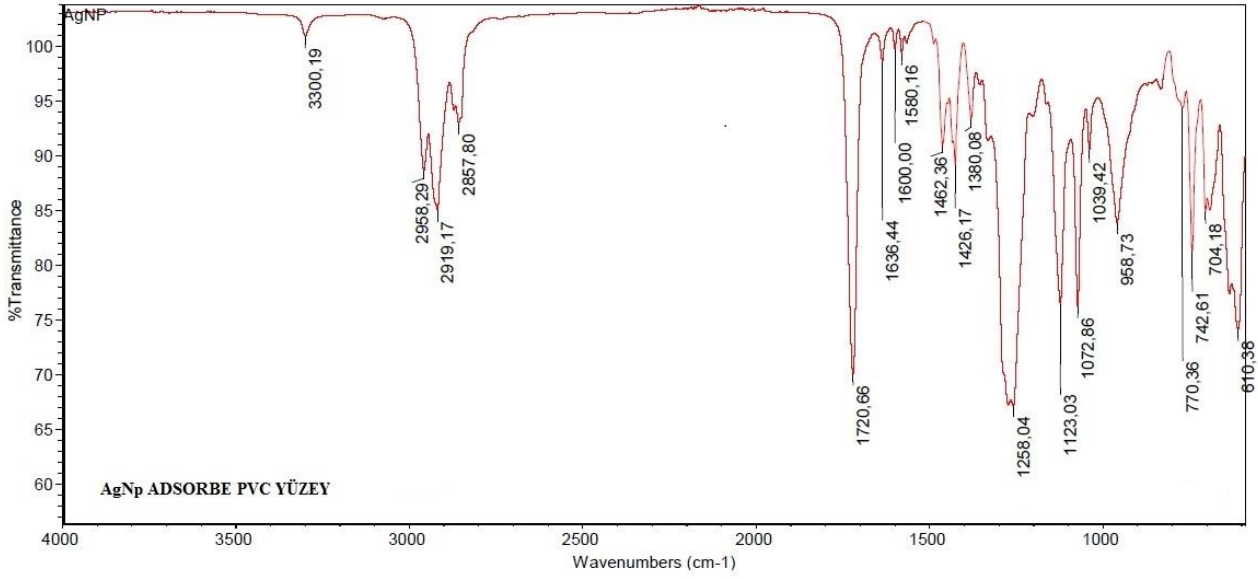
1100-900  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde bulunan C-O bağlarının farklılığı da görülmektedir. Yine spektrumdan görüleceği üzere PEG+AgNP kaplı yüzeylerin spektrumlarından, PEG yapısında bulunan -OH gerilme titreşiminin iyice azaldığını göstermektedir. ATR-FT-IR spektrumlarının analizi bize yüzeyde son katman olarak AgNP adsorpsiyonunun başarı ile gerçekleştirildiği konusunda bilgi vermiştir.



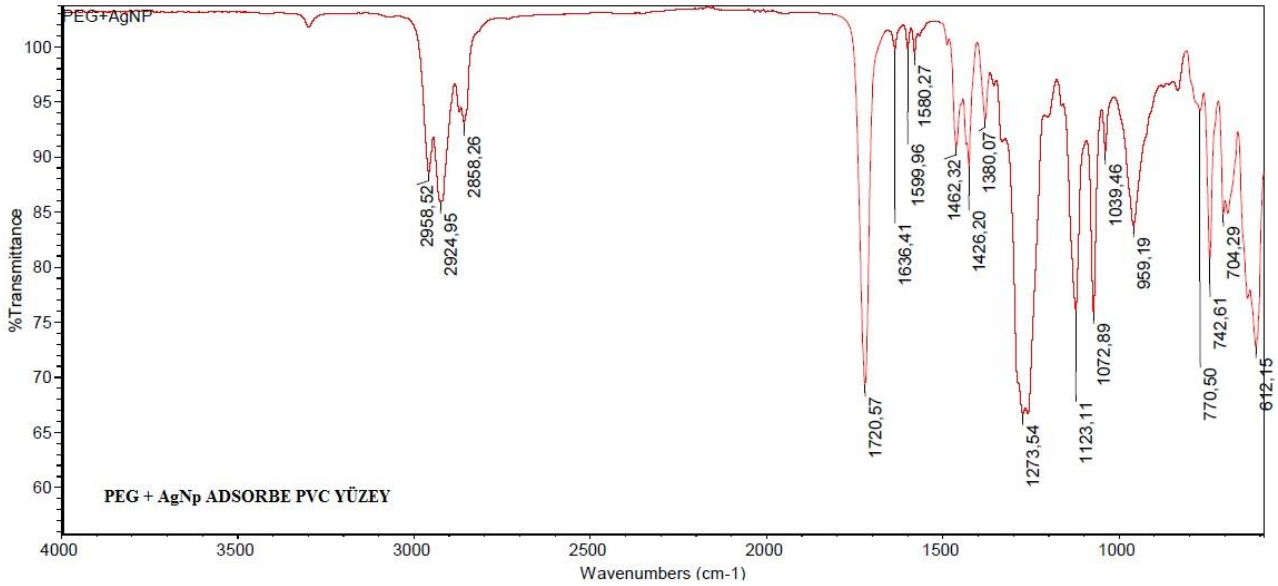
Şekil 6. İşlem Görmemiş Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin ATR-FT-IR Spektrumu. (ATR-FT-IR Spectrum of Untreated Medical PVC Biomaterial Surface.)



Şekil 7. PEG Adsorbe Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin ATR-FT-IR Spektrumu. (ATR-FT-IR Spectrum of PEG Adsorbed Medical PVC Biomaterial Surface.)



Şekil 8. AgNP Adsorbe Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin ATR-FT-IR Spektrumu. (ATR-FT-IR Spectrum of AgNP Adsorbed Medical PVC Biomaterial Surface.)



Şekil 9. PEG + AgNP Adsorbe Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin ATR-FT-IR Spektrumu. (ATR-FT-IR Spectrum of PEG+AgNP Adsorbed Medical PVC Biomaterial Surface.)

### 3.3. Scanning Electron Microscope (SEM) (Taramalı Elektron Mikroskobu) ile karakterizasyon

Bu kapsamda işlem görmemiş PVC yüzeylerin ve PEG, AgNP ve PEG+AgNP adsorpsiyonu yapılmış yüzeylerin farklı büyütmelerde alınan SEM görüntüleri değerlendirilmiştir.

Şekil 10'da İşlem Görmemiş Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin SEM Görüntüsü verilmektedir.

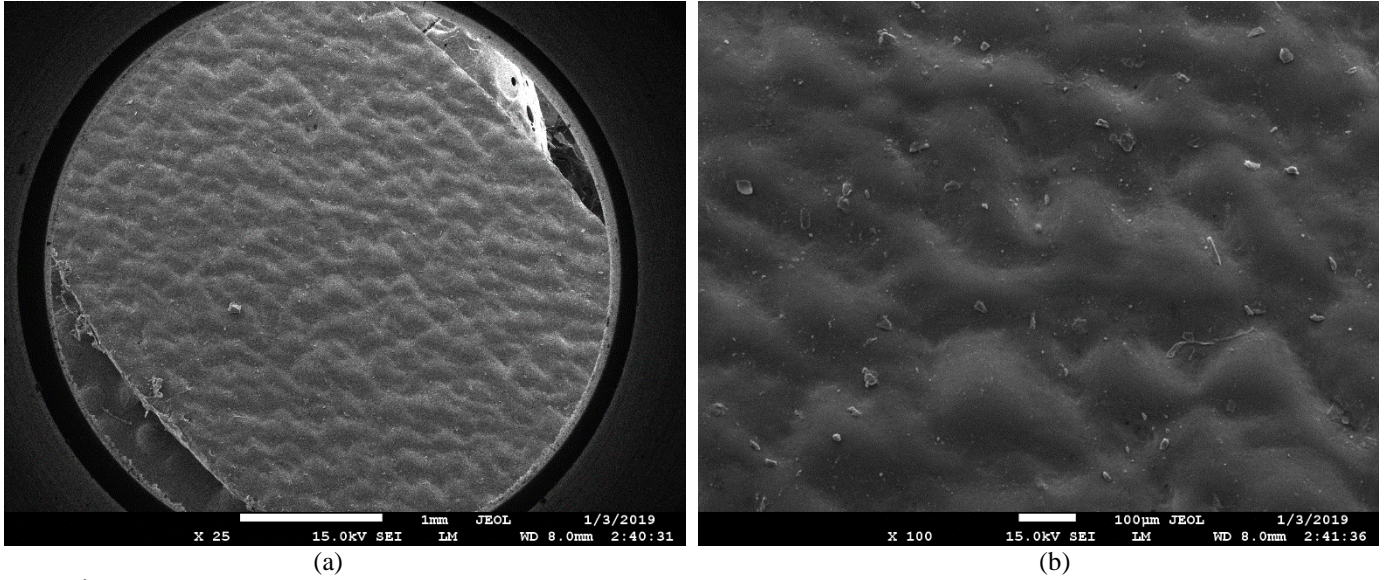
Şekil 11'de PEG adsorpsiyon işlemi sonrası yüzeyler görülmektedir. Şekilden görüleceği gibi yüzey tamamen kaplanmış ve yüzey farklı bir görünüm kazanmıştır.

Şekil 12'de ise AgNP adsorbe Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin SEM Görüntüsü verilmektedir. Burada yüzeyde yeni değişimler gözlenmiştir. Bu yüzeylerde AgNP'lerin yüzeye adsorbe olduğu gözlenmiştir.

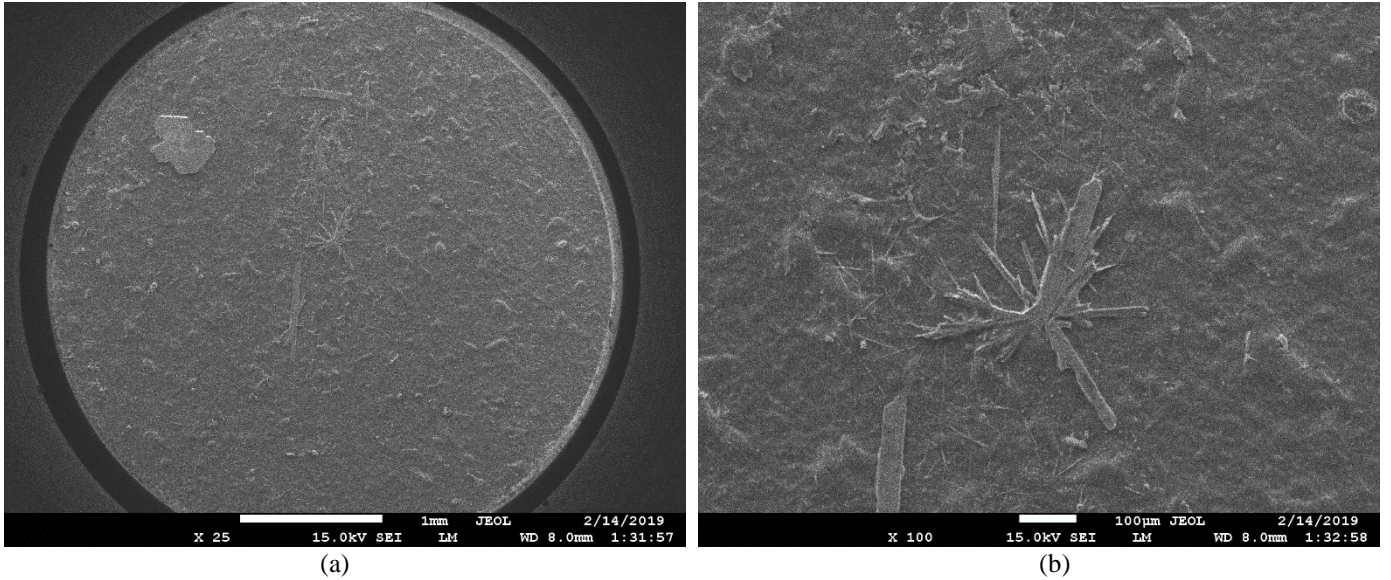
Son olarak Şekil 13'de önceden PEG adsorbe edilmiş yüzeylere AgNP adsorpsiyonu çalışılmıştır. Bu yüzeylerde de adsorpsiyon işleminin başarı ile gerçekleştiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak SEM karakterizasyonu ile de çalışma kapsamında yüzey modifikasyonu yapılan tüm yüzeylerde adsorpsiyon işlemlerinin başarı ile gerçekleştirildiği sonucuna varılmıştır.

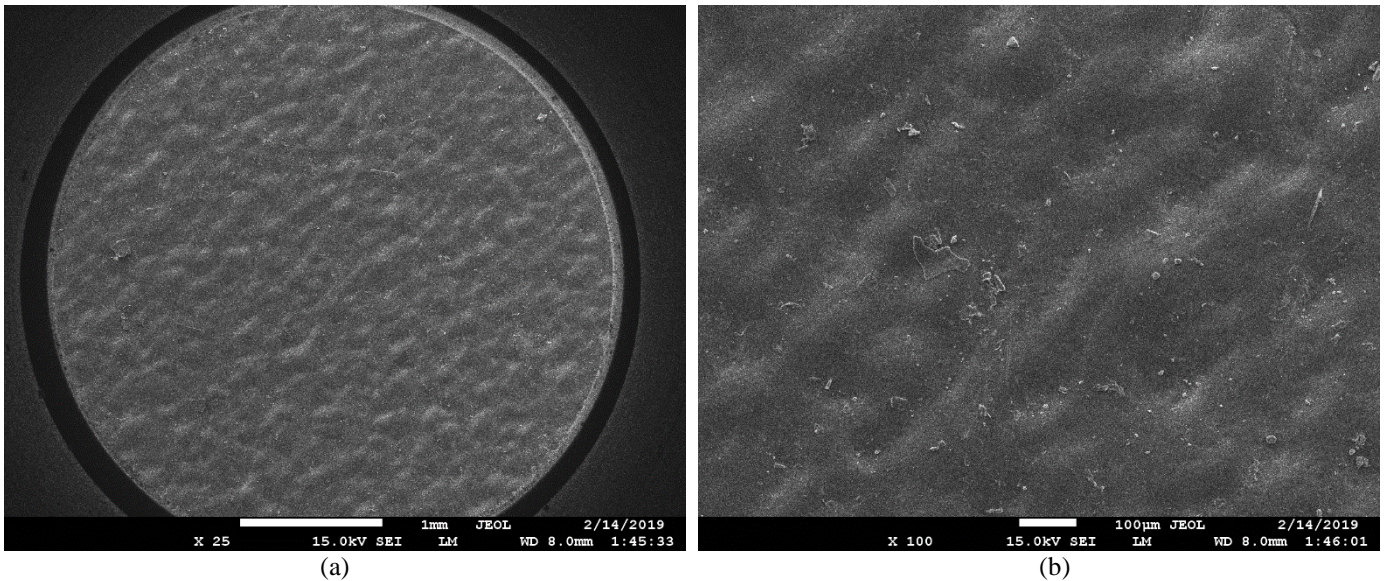




Şekil 10. İşlem Görmemiş Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin SEM Görüntüsü; a) x25; b) x100 büyütme. (SEM Image of Untreated Medical PVC Biomaterial Surface; a) x25; b) x100 magnification.)

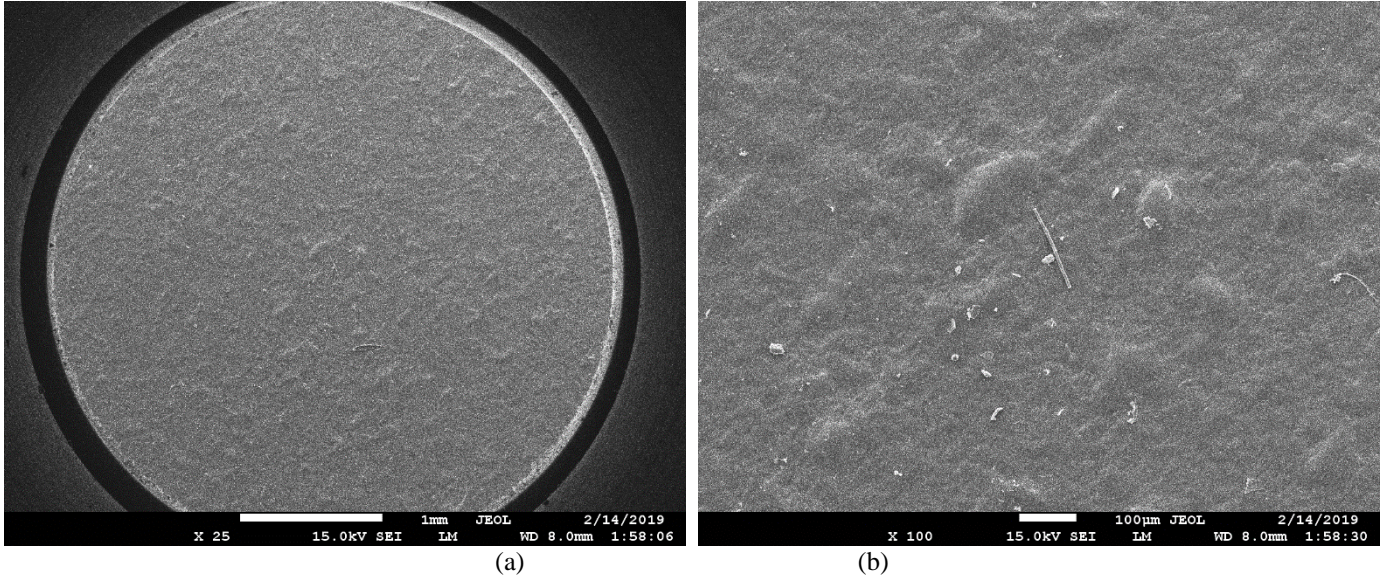


Şekil 11. PEG Adsorbe Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin SEM Görüntüsü; a) x25; b) x100 büyütme. (SEM Image of PEG Adsorbed Medical PVC Biomaterial Surface; a) x25; b) x100 magnification.)



Şekil 12. AgNP Adsorbe Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin SEM Görüntüsü; a) x25; b) x100 büyütme. (SEM Image of AgNP Adsorbed Medical PVC Biomaterial Surface; a) x25; b) x100 magnification.)





Şekil 13. PEG + AgNP Adsorbe Medikal PVC Biyomalzeme Yüzeyinin SEM Görüntüsü; a) x25; b) x100 büyütme. (SEM Image of PEG+AgNP Adsorbed Medical PVC Biomaterial Surface; a) x25; b) x100 magnification.)

### 3.4. PVC Biyomalzemelerin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi

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

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

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

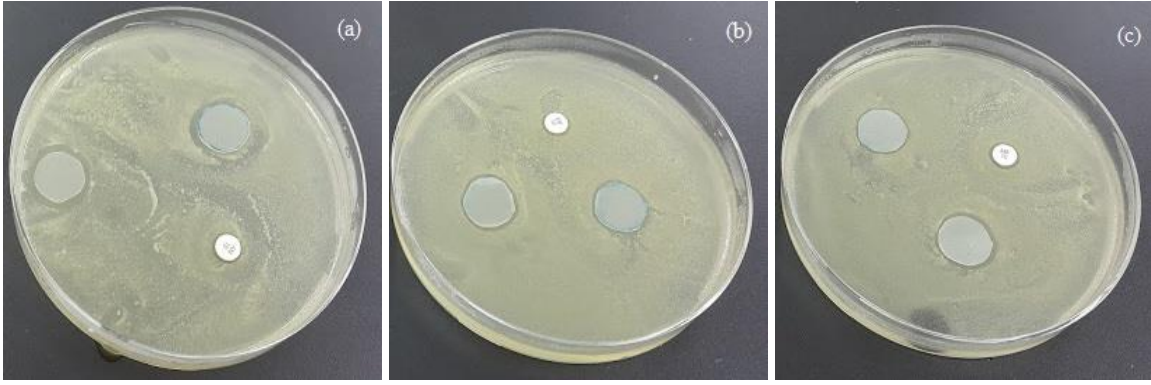
*E. coli* ile yapılan antimikrobiyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 14’de verilmiştir. *E. coli* hızlı bir şekilde üreme performansı gösteren Gram-negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şekilli koliform bir bakteridir, AgNP varlığında 18.5 mm ile tüm çalışmadaki en büyük inhibisyon zonunun elde edilmiş olması ile en anlamlı antimikrobiyal aktiviteye ulaşılmıştır.

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

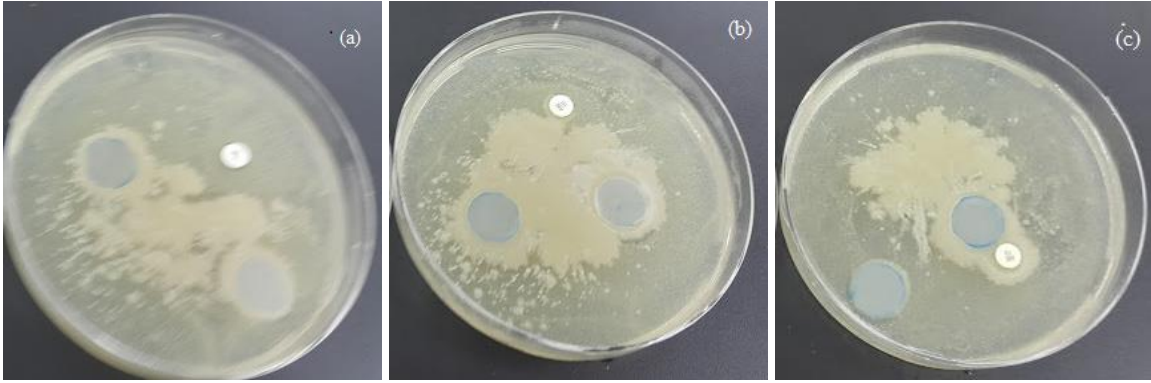
Fakültatif anaerob bakteri olan *E.coli*, bakteristatik etmenlere yani PEG varlığına direnç göstererek üremeye devam edecektir. Bu nedenle bakteriosidal bir etki gösteren AgNP adsorbe yüzeyde oluşturduğu inhibisyon çapı en fazladır. Belli bir yüzey üzerinde örneğin çalışmakta olduğumuz medikal özellikli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

*Klebsiella pneumoniae* Gram negatif, hareketsiz, kapsüllü, fermantasyon yapabilen bir bakteri türüdür. PEG adsorbe ortamda 12.0 mm, AgNP adsorbe ortamda 12.0 mm ve PEG+AgNP ardışık adsorbe ortamda 13.0 mm inhibisyon zon değerleri, bu bakteri için şartıtcı değildir. *Klebsiella pneumoniae* ile yapılan antimikrobiyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 15’de verilmiştir. Standart koşullar altında PEG+AgNP ile işlem görmüş yüzeylerde etkinliğin PEG ve AgNP ile işlem görmüş yüzeylere göre daha yüksek olmasını beklemek normaldir. Burada hem bakteristatik hem de bakteriosidal etki bir arada bulunmaktadır. Kendiliğinden hareket edemeyen bir mikroorganizmanın gümüş iyonlarından kaçamayacağı açıktır. Ayrıca yüzeyde PEG varlığı da üremeyi engelleyici bir bariyer oluşturduğu için, gümüş iyonları ile de birleşerek kapsül içerisindeki fermantasyonu engellemektedir. Bu sayede inhibisyon çaplarında kapsüllü yapıdan kaynaklandığı tahmin edilen 2 ila 3 mm’lik yaklaşımlar görülmektedir. *E.coli*’deki gibi 18 mm ya da *P. aeruginosa*’da görülen 17 mm inhibisyon zon değerlerini kapsül içerisinde ve hareketsiz yapıya sahip oluşu nedeniyle görülemediği şeklinde yorumlanmıştır.

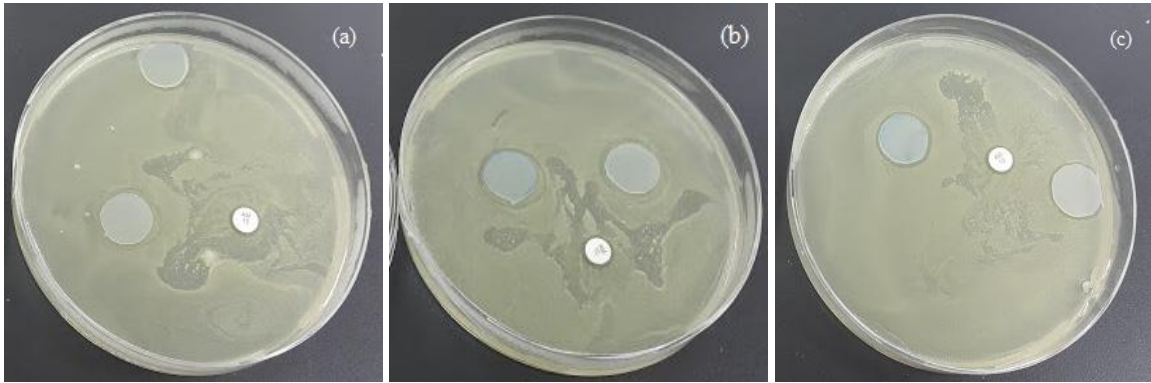
*P. aeruginosa* +4°C’de gelişebilen, Gram negatif, çubuk sitrat-katalaz ve oksidaz pozitif bir bakteri olup, PEG adsorbe ortamında 17.0 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. *P. aeruginosa* PEG üzerine AgNP adsorplandırılmış ortamda 15 mm inhibisyon zonu ile 5 mm’ye kadar yaklaşabilmiş ve AgNP varlığında 14.5 mm inhibisyon zonu ile 4.5 mm yaklaşabilmiştir. Bu değerler *P. aeruginosa*’nın *E. coli*’nin aksine AgNP’ye duyarlılığının PEG’e göre daha az olduğu şeklinde yorumlanmıştır. *P. aeruginosa* ile yapılan antimikrobiyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 16’da verilmiştir. *P. aeruginosa* biyofilm oluşturmak isteyen bir üreme stiline sahip olduğu için bakteristatik yöntemin daha etkin olduğu düşünülmektedir. Bu bakteri sitrat, katalaz ve oksidaz pozitif olması itibarıyla toprak, hava ve su bulunan ortamlarda yaşama kabiliyetini arttırmıştır. Bu nedenle statik etkiye daha hassas bir hale gelmiştir. İnhibisyon zonları da bu yorumu doğrular niteliktedir.



Şekil 14. *E. coli* ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler. (Results of antimicrobial analysis with *E. coli*. (a) AgNP adsorbed; (b) PEG adsorbed; (c) PEG+AgNP adsorbed surfaces.)



Şekil 15. *K. pneumoniae* ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler. (Results of antimicrobial analysis with *K. pneumoniae* (a) AgNP adsorbed; (b) PEG adsorbed; (c) PEG+AgNP adsorbed surfaces.)



Şekil 16. *P. aeruginosa* ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler. (Results of antimicrobial analysis with *P. aeruginosa* (a) AgNP adsorbed; (b) PEG adsorbed; (c) PEG+AgNP adsorbed surfaces.)

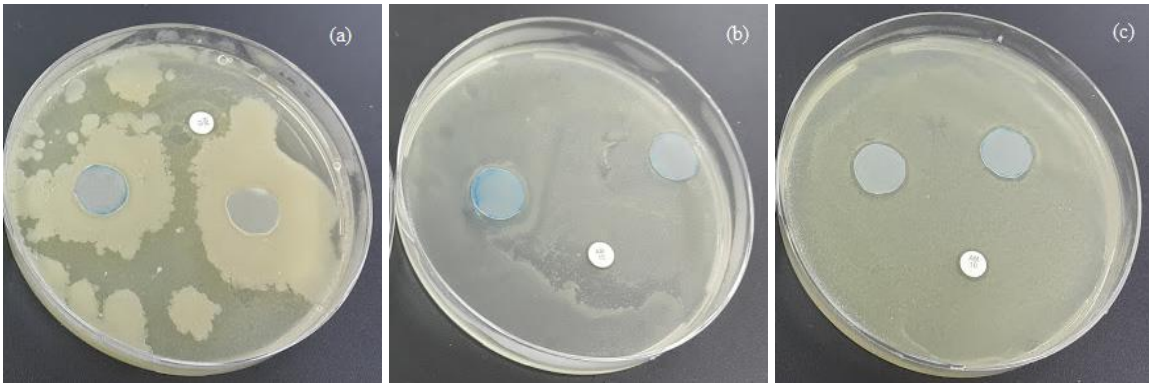


Şekil 17. *S. aureus* ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler. (Results of antimicrobial analysis with *S. aureus* (a) AgNP adsorbed; (b) PEG adsorbed; (c) PEG+AgNP adsorbed surfaces.)





Şekil 18. Metisilin Dirençli *S. aureus* ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler. (Results of antimicrobial analysis with Methicillin Resistant *S. aureus* (a) AgNP adsorbed; (b) PEG adsorbed; (c) PEG+AgNP adsorbed surfaces.)



Şekil 19. *C. albicans* ile antimikrobiyal analiz sonuçları. (a) AgNP adsorbe; (b) PEG adsorbe; (c) PEG+AgNP adsorbe yüzeyler. (Results of antimicrobial analysis with *C. albicans* (a) AgNP adsorbed; (b) PEG adsorbed; (c) PEG+AgNP adsorbed surfaces.)

*S. aureus* Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz bakterilerdir. PEG adsorbe ortamda 10.0 mm, AgNP adsorbe ortamda 13,5 mm ve PEG+AgNP adsorbe ortamda 14.0 mm inhibisyon zon değerleri toksin üretme kabiliyeti olan bu suşun bakteriostatik etmenler karşısında duyarsızlığını kanıtlar niteliktedir. Yüzeyde PEG varlığı stabilizatör etki sağladığı için bakterinin sidal etkiye ihtiyacı olduğu tablodan da saptanmıştır. Bakterinin hareketsiz oluşu inhibisyon çapı değerlerini 17.0 mm'lere ulaşmasını engellemiştir. Gümüşün solunum mekanizmasına verdiği hasar sayesinde AgNP varlığında 13,5 mm ve PEG+AgNP varlığında 14.0 mm inhibisyon zon değerleri rahatlıkla ölçülebilmektedir. *S. aureus* ile yapılan antimikroyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 17'de verilmiştir.

Gram pozitif hücre duvarı bakterinin savunma gücünü arttırmaktadır. Gram pozitif bakterilerde mevcut olan oldukça kalın hücre duvarları sayesinde birçok bakteriostatik ajana karşı direnç gösterebilmelerini sağlamaktadır. Hücre duvarında bulunan polisakkaritler molekül ağırlığı gümüş iyonlarına göre oldukça yüksek olan polietilen glikolün, çeperlerden içeri nüfuz etmesini engellemektedir. Bu nedenle kalın hücre duvarının tahribatı 23 nm seviyelerine kadar indirgenmiş nanopartiküller sayesinde sağlanmıştır.

Tüm bu açıklamalar yeşil sentez ile elde ettiğimiz gümüş nanopartiküllerin neden tek başına yüzeye adsorplandırıldığını ve niçin polietilen glikol üzerine adsorplandırıldığını kanıtlar niteliktedir. *S. aureus* türleri için adsorpsiyon yönteminde PEG varlığı yeterli olmamaktadır. **Metisilin Dirençli *S. aureus*** oksasiline dirençli olup olmadığına göre sınıflandırılır. Oksasiline dirençli ise Metisilin dirençli *S. aureus* adını alır.

Yatay gen transferi ve doğal seleksiyon ile beta-laktam antibiyotiklere çoklu ilaç direnci yoluyla gelişen *S. aureus* suşudur. B-laktam antibiyotikler, penisilin ve oksasilin gibi penisilin türevleri ve sefalosporinler gibi kefepleri içeren geniş bir spektrum grubuna karşı dirençlidir.

Gram pozitif, katalaz pozitif, fakültatif anaerob ve hareketsiz olan bu bakterinin PEG adsorbe ortamda 10.0 mm, AgNP adsorbe ortamda 10.0 mm ve PEG+AgNP adsorbe ortamda 10.0 mm inhibisyon zon değerleri işlemler arasında bir farkın olmadığını göstermektedir. **Metisilin Dirençli *S. aureus*** ile yapılan antimikroyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 18'de verilmiştir.

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

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



göstermektedir. *Candida albicans*, eşeyli çoğalan, diploit bir fungus olup PEG adsorbe ve AgNP adsorbe yüzeylerin aksine, PEG üzerine AgNP adsorplandırılmış yüzeylerde 14.5 mm değerine ulaşmıştır. Yapılan bu çalışmada mikroorganizmaların her biri ayrı direnç seviyelerine sahip oldukları için birini etkileyen bir işlemin diğerini etkilemediği sonucuna varılmıştır.

Mikroorganizma işlem görmüş yüzeyin hemen yakınına kadar üreme kabiliyeti göstermiş olup, inhibisyon zonu oluşturmayarak yapılan çalışmanın aslında antimikrobiyal yetkinliğinin olduğunu ancak bu özelliğin, örneğin kapladığı alan ile sınırlı kaldığını göstermektedir. *Candida albicans*, eşeyli çoğalan, diploit bir fungus olup PEG adsorbe ve AgNP adsorbe yüzeylerin aksine, PEG üzerine AgNP adsorplandırılmış yüzeylerde 14.5 mm değerine ulaşmıştır. Yapılan bu çalışmada mikroorganizmaların her biri ayrı direnç seviyelerine sahip oldukları için birini etkileyen bir işlemin diğerini etkilemediği sonucuna varılmıştır.

*Candida albicans* eşeyli üreme kabiliyetine sahip olduğu için inhibisyon için daha zorlu şartlara tabi tutulmalıdır. Adsorpsiyon sonrası antimikrobiyal-antifungal aktivite incelendiğinde, PEG'in durdurucu ve AgNP'nin öldürücü etkisinin bir arada olması ile antifungal bir sonuç elde edilebilmiştir. Bunun sebebinin mikroorganizmanın üreme alışkanlıkları ile ilgili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Diploit yapının haploit yapıya göre bağışıklığı daha yüksektir. Gümüş iyonları bakteri, virüs ve funguslarda solunum sistemine zarar vererek sidal bir etki sağlamaktadır. Hazırlanan AgNP çözeltisi içerisinde bulunan gümüşün öncelikle besiyeri ortamına ekilmiş ve yakın çevresinde bulunan *Candida albicans* funguslarını öldürdüğünü daha sonra PEG'in durdurucu etkiyi sağlayarak zon çapı oluşturduğu yorumu yapılabilmektedir.

Buradaki durum antimikrobiyal aktivite açısından oldukça önem arz etmektedir. Çünkü sadece AgNP ile işlem gördükten sonra elde edilen 6,5 mm değeri fungusun solunum sistemi problemini çözebildiğini ya da tek başına gümüşün, yüzeyde ilerlemesini, konakçı olarak yaşamasını engellemediğini göstermektedir. Bu sonuç da PEG adsorbe yüzey üzerine neden gümüş iyonlarının adsorbe edildiğini açıklamaktadır. *Candida albicans* ile yapılan antimikroyal aktivite testlerinin görsel sonuçları Şekil 19'da verilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları kapsamında elde edilen sonuçlar toplu olarak Çizelge 2'de verilmektedir.

Çizelge 2. Adsorpsiyon yöntemi ile üç farklı yüzey özelliği kazandırılan PVC biyomalzeme yüzeylerinin antimikrobiyal aktiviteleri. (Antimicrobial activities of PVC biomaterial surfaces, which are given three different surface properties by adsorption method.)

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

## 4. Sonuç

Yüzeyin PEG adsorbsiyonu sonrası AgNP ile kaplanması PEG'in polimerik stabilizör olarak da işlev görmesine yardımcı olduğu düşünülmüştür. Biyomalzeme olarak kullanılan medikal özellikli PVC polimerik yapının yüzey özelliğinin yapılan işlemler sonucu değiştirildiği ATR-FT-IR spektrumları ile doğrulanmıştır.

Kan ile temas halinde olan tıbbi malzemenin yüzey özellikleri AgNP, PEG ve PEG+AgNP adsorbsiyonu şeklinde değiştirilip hastane enfeksiyonlarına karşı etkisinin pozitif yönde olduğu, mikrobiyal bulaşmanın bu yöntemle daha az seviyelere çekilebileceği görülmüştür.

Biyoyumlu malzeme olan PEG'in varlığı yüzey fonksiyonel grup karakterizasyonu ile belirlenmiştir. Böylelikle PVC biyomalzemeye biyoyumluluk kazandırılmıştır.

İşlemsiz medikal özellikli PVC polimerik yüzeylerde inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. İşlemsiz yüzeylerde antimikrobiyal aktivitenin %50 oranında olduğu hesaplanmıştır.

Fiziksel adsorbsiyon yöntemiyle yüzey modifikasyonu işlemlerinde oluşan inhibisyon zonu ile antimikrobiyal aktivitenin % 89 gibi yüksek bir orana ulaştığı hesaplanmıştır.

## 5. Teşekkür

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, BAP Birimine (16/042 BAP Projesi) desteklerinden dolayı ve Prof. Dr. Hakan AYHAN'a bilimsel katkıları için teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Ahmed S, Ahmad M, Swami BL, Ikram S. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. J Adv Res 7, 17–28, 2016.
- Arslan P, Tayyar A.E, Tekstil Alanında Kullanılan Antimikrobiyal Maddeler, Çalışma Mekanizmaları, Uygulamaları ve Antimikrobiyal Etkinlik Değerlendirme Yöntemleri, Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4 935-966, 2016.

- Aytav E.G, Cebeci M.D, Küçükönder H, Hastane Enfeksiyonlarına Neden Olan Mikroorganizmalar Ve Bunların Antimikrobiyal Ajanlara Gelişen Dirençlilik Paterninin Araştırılması.
- Awwad AM, Salem NM, Abdeen AO. Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its antibacterial activity. *Int J Ind Chem.* 4: 29, 2013.
- Bahrami N, Bayliss D, Chope G, Penson S, Pehinec T, Fisk ID, Cold Plasma: A New Technology to Modify Wheat Flour Functionality. *Food Chemistry* 202: 247-253, 2016.
- Baysal T, İçier F, Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler. Nobel Yayıncılık, Ankara, 2012.
- Beveridge TJ. Structures of Gram-Negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles *J Bacteriol.* 4725–4733, 1999.
- Bilgili B, Karademir F, Bozacı E, Özdoğan E, Ayhan H, Ayhan F, Liquidambar Orientalis Mill. Leaf Aqueous Extract For The Synthesis Of Silver Nanoparticles And Immobilization On Textile Fabrics For Biomedical Applications, *Tekstil Ve Konfeksiyon* 2016.
- Bozacı E. Antimikrobiyal Tekstil Yüzeylerinin Oluşturulabilirliğinin Araştırılması. PhD Thesis, Ege University, Faculty of Engineering, Department of Textile Engineering, İzmir, Turkey; 2013.
- Bulut E, Özacar M. Rapid, Facile Synthesis of Silver Nanostructure Using Hydrolyzable Tannin. *Ind Eng Chem Res.* 48: 5686– 5690, 2009.
- Demir E, Yalçın H, Adsorbentler: Sınıflandırma, Özellikler, Kullanım Ve Öngörüler, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 7 (2): 70-79, 2014.
- Deng S, Ruan R, Mok CK, Huang G, Lin X, Chen P, Inactivation of Escherichia coli on Almonds Using Nonthermal Plasma. *Food Microbiology and Safety* 72(2): 62-66, 2007.
- Haris, J.E. Introduction: factors influencing corneal hydration. *Invest Ophthalmol*, Vol 1(2), pp 151–7, 1962.
- Haris, J.M. (Ed.), *Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*, 1992.
- Helmenstine A, *Lightning And Plasma Photo Gallery PRINT Lightning Photograph*, 2017.
- Kasım Karahocagil M, Yaman G, Gökteş U, Sünnetçioğlu M, Çıkman A, Bilici A, Yapıcı K, İrfan Baran A, Binici İ, Akdeniz H, Hastane Enfeksiyon Etkenlerinin Ve Direnç Profillerinin Belirlenmesi, *Cilt* (1) Pp: 18, 2011.
- Kefser E.K, Dıgırak M. Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyel ve Antifungal Aktiviteleri. *KSU J Sci Eng.*8(2), 2005.
- Kodera, Y, Matsushima, A, Hiroto, M, Nishimura, H, Ishii, A, Ueno, T, Inada, Y. “Pegylation of proteins and bioactive substances for medical and technical applications” *Prog. Polym. Sci.* 23, 1233–1271, 1998.
- Krihiga N, Rajalakshmi A, and Jayachitra A. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extracts of Clitoria ternatea and Solanum nigrum and Study of Its Antibacterial Effect against Common Nosocomial Pathogens. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Nanoscience Article ID 928204*, 8 pages, 2015.
- Moreau M, Orange N, Feuilloley M.G.J, *NonThermal Plasma Technologies: New Tools for BioDecontamination. Biotechnology Advances* 26: 610-617, 2008.
- Murat Y, Kim E, Temelleri B, *Biyomalzemeler Ve Biyoyapay Organ Teknolojileri*
- Özyol P, Özyol E, Karel F, *Biocompatibility Of İntraocular Lenses, Turk Oftalmoloji Dergisi* 2017.
- Perera S, Bhushan B, Bandara R, Rajapakse G, Rajapakse S, Bandara C. Morphological, antimicrobial, durability, and physical properties of untreated and treated textiles using silver-nanoparticles. *Colloid Surface. A.* 436, 975– 989, 2013.
- Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv* 27: 76–83, 2009.
- Ragaseema VM, Unnikrishnan S, Krishnan VK, Krishnan LK. The antithrombotic and antimicrobial properties of PEG-protected silver nanoparticle coated surfaces. *Biomaterials*, 33, 3083-3092, 2012.
- Ratner B.D, Surface modification of polymers: chemical, biological and surface analytical challenges, *Biosensors & Bioelectronics* 10 797-804 1995.
- Ricci A, Olejar KJ, Parpinello GP, Kilmartin PA, Versari A. Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in the Characterization of Tannins. *Appl Spectrosc Rev.* 50: 407–442, 2015.
- Gürmen S, Ebin B, Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri, İ.T.Ü., Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü.
- Saraç N, Şen B. Antioxidant, mutagenic, antimutagenic activities, and phenolic compounds of Liquidambar orientalis Mill. var. Orientalis. *Ind Crop Prod.* 53: 60– 64, 2014.
- Schlemm H, *Material Technology By New Plasma-And Ion Beam Techniques Research And Development For Thin Film Technology 1 Technique And Technology Development For Thin Film Processes With Plasma-And İon Sources.*
- Sezgin Bayindir Z, Yüksel N, Pegilasyon: Peg Konjugatlarının Hazırlanması Ve Uygulamaları Pegylation: Preparation And Application Of Peg Conjugates, Vol: 36 (364) Pp: 249-266, 2007.
- Sezer S, Peg Stabilize Kollajen-Kitosan Biyomalzeme Geliştirilmesi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, *Journal Article* 2011.
- Sivaraman SK, Elango I, Kumar S, Santhanam V. A green protocol for room temperature synthesis of silver nanoparticles in seconds. *Curr Sci.* 97:1055-59, 2009.
- Terzi E, Kartal SN, Ibáñez CM, Köse C, Arango R, Clausen CA, Green F. Biological performance of Liquidambar orientalis Mill. heartwood. *Int Biodeter Biodegr.* 75: 104-108, 2012.
- Temiz A. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, (3rd edition) Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, 2000.
- Tripathi A, Melo J.S, *Advances Bomaterials For Bomedical Applcatons Advances In Biomaterials For Biomedical Application S Editors (View Affiliations) Part Of The Advanced Structured Materials Book Series Structmat, Volume 66*
- Wang, Z. H., Choi, C. J. Kim, B. K., Kim J. C. and Zhang Z. D., Microstructure and magnetic property of Fe-Co nanoparticles prepared by chemical vapor condensation process, *J. of All. and Comp.*, 351, 319-323, 2003.
- Wang, Z. H., Choi, C. J. Kim, B. K., Kim J. C. and Zhang Z. D., Characterization of Fe-Co alloyed nanoparticles synthesized by chemical vapor condensation, *Materials Letters*, 57, 3560-3564, 2003.

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

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

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

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