

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM KUVÖZLERİNDE
GÖRÜNÜR IŞIĞA DUYARLI ANTİBAKTERİYEL
KAPLAMALARIN GELİŞTİRİLMESİ:
ENFEKSİYON KONTROLÜNDE YENİLİKÇİ BİR
YAKLAŞIM**

HAZIRLAYAN

MELİKE İREM MEHTER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA- 2025

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM KUVÖZLERİNDE
GÖRÜNÜR IŞIĞA DUYARLI ANTİBAKTERİYEL
KAPLAMALARIN GELİŞTİRİLMESİ:
ENFEKSİYON KONTROLÜNDE YENİLİKÇİ BİR
YAKLAŞIM**

HAZIRLAYAN

MELİKE İREM MEHTER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. ULVİYE BUNYATOVA

ANKARA- 2025

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Melike İrem Mehter tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18 / 08 / 2025

Tez Adı: Yenidoğan Yoğun Bakım Kuvözlerinde Görünür Işığa Duyarlı Antibakteriyel Kaplamaların Geliştirilmesi: Enfeksiyon Kontrolünde Yenilikçi Bir Yaklaşım

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı – Soyadı, Kurumu)		İmza
Doç.Dr. Gülcihan Gülseren	Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi	
Prof. Dr. İsmail Cengiz Koçum	Başkent Üniversitesi	
Prof. Dr. Ulviye Bunyatova (Danışman)	Başkent Üniversitesi	

ONAY

Prof. Dr. Dilek ÇÖKELİLER SERDAROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Tarih: 18 /08 / 2025

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 18 / 08 / 2025

Öğrencinin Adı, Soyadı: Melike İrem Mehter

Öğrencinin Numarası: 22220283

Anabilim Dalı: Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Programı: Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı: Prof. Dr. Ulviye BUNYATOVA

Tez Başlığı: Yenidoğan Yoğun Bakım Kuvözlerinde Görünür Işığa Duyarlı Antibakteriyel

Kaplamaların Geliştirilmesi: Enfeksiyon Kontrolünde Yenilikçi Bir Yaklaşım

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan toplam 98 sayfalık kısmına ilişkin, 16/08/2025 tarihinde tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %5'tir. Uygulanan filtrelemeler:

1.Kaynakça hariç

2.Alıntılar hariç

3.Beş (5) kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:

ONAY

Tarih: 18/08/2025

Öğrenci Danışmanı:

Prof. Dr. Ulviye BUNYATOVA

Ceyda, Kerem ve tüm minik savaşçılara ithafen.

Melike İrem MEHTER

Ankara- 2025

TEŞEKKÜR

Akademik yolculuğumun en kıymetli rehberi, bilgi ve deneyimiyle sadece bir danışman değil, aynı zamanda ilham kaynağım olan değerli hocam Prof. Dr. Ulviye Bunyatova 'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Emeğiniz, desteğiniz ve bana olan güveniniz için minnettarım.

Tez sürecimin her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle yolumu aydınlatan, değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Kübra Erkan Türkmen'e, Öğr. Gör. Dr. Ebru Erdal'a gönülden teşekkür ederim.

Tez jürimde yer alarak değerli bilgi ve tecrübeleriyle çalışmama katkıda bulunan Doç. Dr. Gülcihan Gülseren ve Prof. Dr. İsmail Cengiz Koçum'a, akademik yolculuğuma sağladıkları rehberlik ve yönlendirmeleri için içtenlikle teşekkür ederim.

Mesleki gelişimime katkıları ve yol göstericiliği için Sayın Erhan Çınar'a, desteği için müdürüm Meltem Gamze Tıraş'a ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum Novos Tıbbi Cihazlar San. Tic. İth. ve İhr. Ltd. Şti. ekibine teşekkür ederim.

Bu süreçte yanımda olan, desteğini ve dostluğunu her daim hissettiren canım arkadaşım Ayda Okan'a gönülden teşekkür ederim.

Sevgili annem ve babam, Özlem ve Altan Yılmaz; karşılıksız sevgi ve desteğiniz, attığım her adımın ardındaki en kıymetli güç oldu.

Sevgili kardeşlerim Ceyda ve Kerem Yılmaz, bu çalışmanın en büyük ilham kaynağı siz oldunuz. Sizlere sonsuz teşekkürlerimi sunarım. İyi ki sizin ablanızım; sizin gibi güçlü ve azimli kardeşlere sahip olmak benim bu hayattaki en büyük şansım.

Yüksek lisans yolculuğum boyunca, en karanlık anlarda bile ışığım olan, sabrıyla yüreğime huzur, sevgisiyle ruhuma güç katan can yoldaşım, hayat arkadaşım, sevgili eşim Egemen Mehter'e sonsuz şükranlarımı sunarım. Varlığı, yalnızca bu akademik süreci değil, hayatımı da güzelleştirdi. Her adımında bana inanan, düşerken elimi tutan ve başarımın en hakiki ortağı olan kalbine minnetle...

ÖZET

Melike İrem MEHTER

YENİDOĞAN YOĞUN BAKIM KUVÖZLERİNDE GÖRÜNÜR IŞIĞA DUYARLI ANTİBAKTERİYEL KAPLAMALARIN GELİŞTİRİLMESİ: ENFEKSİYON KONTROLÜNDE YENİLİKÇİ BİR YAKLAŞIM

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

2025

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre her yıl 550.000’den fazla yenidoğanın ölümüne neden olan yenidoğan enfeksiyonlarının önemli bir kısmı, anne rahminde veya doğum sırasında değil, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde (YYBÜ) gelişmektedir. Bu durumun kesin nedeni bilinmemekle birlikte, kuvözlerde termal homeostazı sağlamak amacıyla oluşturulan yüksek nem ve sıcaklık koşullarının, mikrobiyal kontaminasyon ve biyofilm oluşumu için uygun mikroçevre oluşturduğu bilinmektedir. Özellikle Gram pozitif bakterilerin nemli ortamlarda hızlı çoğalma kapasitesi, uzun süreli yüzey kolonizasyonu ve dezenfektanlara karşı direnç gelişimi, enfeksiyon insidansını belirgin ölçüde artırmaktadır. Literatürdeki önceki çalışmalar, standart hastane dezenfeksiyon protokollerinin uygulanmasına rağmen, kuvözlerin yüzeylerinde bakteriyel biyofilm formasyonunun gelişebildiğini ortaya koymuştur. Bu biyofilmler, ekstrasellüler polimerik matriks (EPS) yapıları sayesinde dezenfektanlara karşı belirgin direnç sergileyerek mikrobiyal persistanlığa zemin hazırlar. Biyofilme bağlı bu direnç mekanizmaları, patojenlerin uzun süreli kolonizasyonunu kolaylaştırmakta ve hastane kaynaklı enfeksiyon insidansında artışa neden olmaktadır. Bu çalışmada, kuvöz kanopi yüzeylerindeki mikrobiyal yükü azaltmak amacıyla, görünür ışık (450 nm) ile aktive edilebilen gümüş nanopartikül (AgNP) içeren kaplamalar geliştirilmiştir. Üç farklı biyouyumlu polimer matris formülasyonu sentezlenmiştir: (i) AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT, (ii) AgNP taşıyıcılı PVP/MA/ODA-MMT ve (iii) AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT. Kaplamalar, PMMA yüzeylerine *drop-casting* yöntemiyle uygulanmış ve SEM-EDS, UV-Vis ve XRD analizleri ile morfolojik, elementel ve yapısal özellikleri doğrulanmıştır. UV-Vis analizlerinde 391, 409, 441 nm aralığında gözlenen LSPR pikleri AgNP immobilizasyonunu kanıtlarken, XRD sonuçları 38,27° ve 44,42°’deki karakteristik fcc faz paternleri ile nanometrik kristalin AgNP oluşumunu ortaya koymuştur. Biyouyumluluk testlerinde, HaCaT hücre hattı

kullanılarak yapılan MTT analizi tüm kaplamaların ISO 10993-5 standardına göre sitotoksik olmadığını göstermiştir. Antibakteriyel değerlendirmeler, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yaygın görülen *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *E. faecalis* biyofilmleri üzerinde konfokal mikroskopi ve canlı/ölü boyama yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, kaplama konsantrasyonu arttıkça inhibisyon oranlarının yükseldiğini, *S. epidermidis*'in düşük dozlarda dahi yüksek inhibisyon gösterdiğini, yoğun EPS matriksine sahip *E. faecalis*'in ise en dirençli tür olduğunu ortaya koymuştur. Test edilen aralıkta en uygun doz olarak belirlenen 1,5 mg/ml, tüm nanokompozitlerde maksimum antibakteriyel inhibisyonu sağlamış ve kolloidal formlara kıyasla daha yüksek biyoyumluluk sunmuştur. Görünür ışıkla aktive edilebilen AgNP taşıyıcılı biyoyumlu nanokompozit kaplamalar, YYBÜ yüzeylerinde yüksek antibakteriyel etkinlik, biyofilm inhibisyonu ve kabul edilebilir biyoyumluluk profili sunmaktadır. Bu teknoloji, geleneksel dezenfeksiyon protokollerine kıyasla daha yüksek mikrobiyal kontrol kapasitesi sağlayarak hastane kaynaklı enfeksiyon riskini azaltma potansiyeline sahiptir. Gelecekte yapılacak uzun dönem dayanıklılık testleri, klinik etkinlik doğrulamaları ve maliyet analizleri, klinik uygulamalara entegrasyon sürecini destekleyecektir.

ANAHTAR KELİMELE: Yenidoğan Kuvüzü, Antibakteriyel Kaplama, Bakteriyel Kontaminasyon, Görünür Işığa Duyarlılık, AgNP taşıyıcılı biyoyumlu polimer matrisler

ABSTRACT

Melike İrem MEHTER

DEVELOPMENT OF VISIBLE LIGHT-RESPONSIVE ANTIBACTERIAL COATINGS ON NEONATAL INTENSIVE CARE INCUBATORS: AN INNOVATIVE APPROACH TO INFECTION CONTROL

Başkent University Institute of Science

Department of Biomedical Engineering

2025

According to World Health Organization (WHO) data, neonatal infections cause the deaths of over 550,000 newborns annually, with a significant proportion originating not in utero or during delivery but in neonatal intensive care units (NICUs). Incubators, designed to maintain thermal homeostasis through elevated humidity and temperature, inadvertently provide a favorable environment for microbial contamination and biofilm formation. Gram-positive bacteria are particularly capable of proliferating in moist environments, establishing long-term surface colonization, and developing resistance to disinfectants, thereby increasing infection incidence. Previous reports have shown that, despite standard hospital disinfection protocols, bacterial biofilms persist on incubator surfaces. These biofilms, through extracellular polymeric substances (EPS), demonstrate strong disinfectant resistance and promote microbial persistence, facilitating long-term colonization and increasing the risk of hospital-acquired infections. To address this, visible-light-activated (450 nm) silver nanoparticle (AgNP) coatings were developed to reduce microbial load on incubator canopy surfaces. Three biocompatible polymer matrix formulations were synthesized: (i) AgNP-loaded PVP/ODA-MMT, (ii) AgNP-loaded PVP/MA/ODA-MMT, and (iii) AgNP-loaded CMC/MA/ODA-MMT. The coatings were deposited onto PMMA substrates by *drop-casting* and characterized via SEM-EDS, UV-Vis, and XRD. UV-Vis spectra revealed localized surface plasmon resonance (LSPR) peaks at 391, 409, 441 nm, confirming AgNP immobilization. XRD patterns showed characteristic fcc crystalline AgNP phases at 38,27° and 44,42°. Biocompatibility was assessed using HaCaT cells in MTT assays, demonstrating that all coatings were non-cytotoxic according to ISO 10993-5 standards. Antibacterial activity against *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *E. faecalis* biofilms was investigated by confocal microscopy with live/dead staining. Inhibition efficiency increased with coating concentration. *S. epidermidis* was highly sensitive, showing strong inhibition even at low

doses, while *E. faecalis*, due to its dense EPS matrix, exhibited the highest resistance. The optimal dose was identified as 1,5 mg/ml, achieving maximum antibacterial inhibition across all formulations and showing superior biocompatibility compared to colloidal AgNPs. In conclusion, visible-light-activated AgNP-loaded nanocomposite coatings provide strong antibacterial effects, biofilm inhibition, and acceptable biocompatibility for NICU surfaces. This approach offers enhanced microbial control compared to conventional disinfection, with the potential to reduce hospital-acquired infection risks. Further durability studies, clinical validation, and cost analyses will support translation into clinical application.

KEYWORDS: Infant Incubator, Antibacterial Coating, Bacterial Contamination, Visible Photosensitivity, AgNP carrier biocompatible polymer matrices

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Güncelliği	4
1.2. Amaç ve Hedef	4
1.3. Çalışmanın Bilimsel Yeniliği.....	4
1.4. Araştırma Yöntemleri	5
1.5. Çalışmanın Pratik Önemi	5
1.6. Savunma İçin Hükümler	6
1.7. Araştırmacının Kişisel Katkısı	6
1.8. Diğer Araştırmacıların Katkısı.....	7
1.9. Çalışmanın Onaylanması	7
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Yenidoğan Dönemi Fizyolojisi	9
2.1.1. Solunum Sistemi Adaptasyonu.....	10
2.1.2. Kardiyovasküler Sistemi Adaptasyonu	10
2.1.3. Termoregülasyon Mekanizmaları.....	11
2.1.4. Metabolik Adaptasyonlar	12
2.1.5. Bağışıklık Sistemi ve Enfeksiyona Karşı Savunma	12
2.2. Yenidoğan Bakımı.....	12
2.2.1. Yenidoğan Kuvöz İhtiyacı	13
2.3. Yenidoğanlarda Hastane Kaynaklı Enfeksiyonlar ve Bulaş Mekanizmaları....	14
2.4. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde Mikrobiyal Kontaminasyon.....	15
2.5. Yenidoğan Yoğun Bakım Kuvözlerinde Mikrobiyal Kontaminasyon Riski.....	17
2.6.Yenidoğan Yoğun Bakım Kuvözlerinde En Sık Rastlanan Mikroorganizmalar..	21
2.6.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.6.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	22
2.6.3. <i>Enterococcus faecalis</i>	23

2.7. Tıbbi Cihaz Yüzeylerinde Bakteriyel Kolonizasyonun Oluşumu ve Önleyici Stratejiler.....	24
2.8. Biyofilm Gelişiminin Önlenmesine ve Kontrolüne Yönelik Yaklaşımlar	27
2.9. Nanopartikül Tabanlı Stratejiler	27
2.9.1. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etki Mekanizması	28
2.9.2. Gümüş Nanopartiküllerin Biyofilm İçerisinde Etkinliği	30
2.9.3. Polimer-Kil Tabanlı Gümüş Nanokompozitlerin Antibakteriyel Etkinliği.....	31
2.10. Görünür Işıkla Aktive Olan Antibakteriyel Gümüş Nanokompozit Kaplamalar	33
2.10.1. Tıbbi Cihazlarda Uygulanabilirlik	34
2.11. Gümüş Nanopartiküllerin MTT Yöntemi ile Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi.....	36
2.12. Canlı / Ölü Boyama Yöntemi ile Bakteriyel Canlılık Analizi	37
3. MATERYAL METHOD	39
3.1. DeneySEL Çalışmalar	39
3.1.1. Kullanılan Malzemeler.....	39
3.1.2. Örneklerin Hazırlık Aşaması	40
3.1.3. Sentez Metodolojisi.....	40
3.1.4. Örneklerin Dilüsyon ve Konsantrasyon Hesaplamaları.....	42
3.1.5. Kaplama Metodolojisi	43
3.2. Örneklerin Karakterizasyon Teknikleri.....	46
3.3. Örneklerin Keratinosit (HaCaT) Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri	47
3.4. Canlı/Ölü Hücre Boyama Yöntemi ile Antibakteriyel Etkinlik Analizi	48
3.5. Canlı/Ölü Hücre Analizlerinin MATLAB Görüntü İşleme Yöntemleriyle Değerlendirilmesi.....	49
3.6. İstatistiksel Analiz.....	51
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	52
4.1. Fotokimyasal Aktivasyon	53
4.2. Karakterizasyon Analizleri	58
4.2.1. SEM Analizi	58
4.2.1.1. Örnek 1 (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT)	58
4.2.1.2. Örnek 2 (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/ MA)	59
4.2.1.3. Örnek 3 (AgNP Taşıyıcılı- CMC/MA/ODA-MMT)	60

4.2.2. EDS Analizi	61
4.2.2.1. Örnek 1 (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT)	62
4.2.2.2. Örnek 2 (AgNP Taşıyıcılı PVP /ODA-MMT/ MA)	62
4.2.2.3. Örnek 3 (AgNP Taşıyıcılı- CMC/MA/ODA-MMT)	63
4.2.3. UV-Vis Analizi	64
4.2.4. XRD Analizi	67
4.3. Hücre Canlılık Testleri	69
4.3.1. AgNP Kolloidal Çözelti Örneklerinin Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi	69
4.3.2. MTT Yöntemi ile HaCaT Hücre Hattında Hücresel Canlılık Analizi.....	70
4.4. Canlı/Ölü Hücre Boyaması ile Kaplanmış Yüzeylerin Antibakteriyel Aktivitesinin Değerlendirilmesi	73
4.4.1. Kontrol Grubu Biyofilm Örneklerinde Canlı/Ölü Hücre Dağılımının Analiz Edilmesi.....	73
4.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213) Suşunun Biyofilm Örneklerinde Canlı/Ölü Hücre Dağılımı	75
4.4.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228) Suşunun Biyofilm Örneklerinde Canlı/Ölü Hücre Dağılımı	81
4.4.4. <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) Suşu Konfokal Mikroskop Analizi	86
4.4.5. Farklı Konsantrasyonlardaki AgNP Taşıyıcılı BiyouyumluNanokompozit Kaplamların Gram-pozitif Bakteri Biyofilmleri Üzerindeki Antibakteriyel Etkisi.....	92
5. SONUÇLAR.....	97
KAYNAKLAR.....	99
EKLER	

EK 1: Sentez Sürecinde Kullanılan Mavi LED'in Teknik Özellikleri

TABLÖLER LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Mikroorganizmaların hayatta kalma süreleri	16
Tablo 2.2 Kuru yüzeylerde mikroorganizmaların hayatta kalma oranları.....	17
Tablo 2.3 Invitrogent LIVE/DEAD BacLight Bakteriyel Canlılık Kiti spektral bilgi ve saklama koşulları	38
Tablo 4.1 Çalışmada kullanılan makromolekül yapılar.....	54
Tablo 4.2 AgNP taşıyıcılı biyouyumlu nanokompozitlerin kolloidal formdaki kompozitlerin hücre canlılığı	69
Tablo 4.3 AgNP taşıyıcılı biyouyumlu nanokompozitler ile kaplanan PMMA örneklerine ait sitotoksosite sonuçları.....	71
Tablo 4.4 Şekil 4.13'te görülen biyofilmlerin % canlı/ ölü hücre analizi	75
Tablo 4.5 Şekil 4.27'te görülen kaplama uygulanmış yüzeyler üzerinde oluşan biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi	79

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Biyofilm oluşum aşamaları	26
Şekil 2.2 Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) antibakteriyel mekanizması	29
Şekil 3.1 LED ışınlama öncesinde kolloid formdaki örnekler, sırasıyla Örnek 3 (AgNO ₃ katkılı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNO ₃ katkılı PVP/ ODA-MMT/MA) ve Örnek 1 (AgNO ₃ katkılı PVP/ODA-MMT)	41
Şekil 3.2 LED ışınlama sırasında, gümüş iyonlarının AgNP'lere dönüşmesi, sırasıyla Örnek 3 (AgNO ₃ katkılı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNO ₃ katkılı PVP/ODA-MMT/MA) ve Örnek 1 (AgNO ₃ katkılı PVP/ODA-MMT)	42
Şekil 3.3 Örnek 3; Mavi LED ile ışınlanmadan önce (a) (AgNO ₃ katkılı CMC/MA/ODA-MMT), mavi LED ile ışınlandıktan sonra (b) (AgNP Taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT)	42
Şekil 3.4 Örnek 3'ün (AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT) dilüsyon (seyretme) işlemi.....	43
Şekil 3.5 MMA numuneleri, sırasıyla a)AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT, b) PVP/ODA-MMT/MA ve CMC/ODA-MMT/MA şeklinde kodlanmış olup AgNP konsantrasyonları sırasıyla (1,5 mg/ml AgNP,075 mg/ml AgNP ve 0,375 mg/ml AgNP'dir.	44
Şekil 3.6 Kontrol grubu	44
Şekil 3.7 Örnek 3'e ait 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP içeren AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT nanokompozit kaplamaların PMMA yüzeylerinde oluşturduğu kalıntı yapılarının etüv işlemi öncesi (a) ve sonrası (b) görüntüleri.	45
Şekil 3.8 Örnek 2'ye ait 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP içeren AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA nanokompozit kaplamaların PMMA yüzeylerinde oluşturduğu kalıntı yapılarının etüv işlemi öncesi (a) ve sonrası (b) görüntüleri.	45
Şekil 3.9 Örnek 3'e ait 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP içeren AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT nanokompozit kaplamaların PMMA yüzeylerinde oluşturduğu kalıntı yapılarının etüv işlemi öncesi (a) ve sonrası (b) görüntüleri.	45
Şekil 3.10 Kaplama sonrası yüzeyde kalan polimer kalıntılarının pens yardımıyla dikkatlice uzaklaştırılması.	46
Şekil 3.11 Örnek 3'e ait deneysel tasarım	46

Şekil 3.12 Örnek 1'in (PMMA Yüzey üzerine kaplanan AgNP taşıyıcı PVP/ODA-MMT) yüzeye kaplanan üç farklı konsantrasyonu ve kontrol örneğinin sıvı besiyerinde inoküle edilmesi.....	49
Şekil 3.13 MATLAB ortamında lazer taramalı konfokal mikroskop görüntülerinden canlı/ölü hücre oranlarının hesaplanmasına yönelik görüntü işleme sürecini gösteren akış diyagramı.	50
Şekil 4.1 Tez kapsamında yapılan çalışmaların grafiksel özeti.....	53
Şekil 4.2 MA-AgNO ₃ kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu:a) LED ışık kaynağı uygulanmadan önce, fiziksel karışım halinde olup yapı içerisinde yalnızca fragmanlar bulunmakta, b) LED ışık kaynağı uygulandıktan sonra ise, fiziksel karışım içerisindeki bileşenler kimyasal bağlar oluşturarak kararlı yapıya dönüşümü	54
Şekil 4.3 PVP/AgNO ₃ kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu. (a)LED ışık kaynağı uygulanmadan önce, fiziksel karışım halinde olup yapı içerisinde yalnızca serbest fragmanlar bulunmaktadır.(b)LED ışık kaynağı uygulandıktan sonra, fiziksel karışımındaki bileşenler kovalent bağlar aracılığıyla stabilize edilerek kararlı bir yapıya dönüşmektedir.	55
Şekil 4.4 MA-kil kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu; a) LED ışık kaynağı uygulanmadan önce yapı fiziksel karışım halinde olup, MMT yüzeyine bağlı serbest amin (-NH ₂) ve karboksil (-COOH) grupları bulunmaktadır. b) LED ışık kaynağı etkisiyle, amin ve karboksil grupları arasında amid bağları oluşarak yapı kovalent olarak stabilize edilmektedir.	55
Şekil 4.5 MMT-polisakkarit kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu; a) LED ışık kaynağı önce yapı fiziksel karışım halinde olup, yapıda serbest amin (-NH ₂) ve karboksil (-COOH) grupları ile Ag nanoparçacıkları bulunmaktadır ve b) LED ışık kaynağı sonrası amin ve karboksil grupları arasında amid bağları oluşarak yapı kovalent olarak stabilize edilmiştir	56
Şekil 4.6 CMC/MA kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu; a) LED ışık kaynağı önce yapı fiziksel karışım halinde olup, polimer zinciri üzerinde serbest karboksil (-COOH), hidroksil (-OH) ve amin (-NH ₂) grupları bulunmaktadır. b) LED ışık kaynağı sonrası karboksil grupları ile amin grupları arasında amid bağları, karboksil grupları ile hidroksil grupları arasında ise esterleşme yoluyla çapraz bağlanma oluşumu.....	56
Şekil 4.7 Örneklerin mavi LED ışınlama öncesi (sırasıyla Örnek 3 (AgNO ₃ katkılı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNO ₃ katkılı PVP/MA/ODA-MMT) ve Örnek 1 (AgNO ₃ katkılı PVP/ODA-MMT)).....	57
Şekil 4.8 Örneklerin mavi LED ışınlama sonrası (sırasıyla Örnek 3 (AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNP taşıyıcılı PVP/MA/ODA-MMT) ve Örnek 1 (AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT)).....	57

Şekil 4.9 a) Örnek 1'in SEM görüntüsü ve Örnek 1'in çekirdek-kabuk yapısı boyut dağılımı (nm) (PVP /ODA-MMT/AgNO ₃) 3 mg/ml AgNO ₃).....	59
Şekil 4.10 a) Örnek 2'in SEM görüntüsü ve Örnek 2'in çekirdek-kabuk yapısı boyutu (nm) dağılımı (PVP/ODA-MMT/MA/ AgNO ₃) 3 mg/mL AgNO ₃).....	60
Şekil 4.11 Örnek 3'ün (CMC / MA / ODA-MMT / AgNO ₃) SEM görüntüsü ve Örnek 3'ün (CMC / MA / ODA-MMT / AgNO ₃) çekirdek-kabuk yapısı boyutu (nm) dağılımı	61
Şekil 4.12 Örnek 1'in (PVP/ODA-MMT /AgNO ₃) EDS analizi (Toplam malzeme yüzdesi içerisindeki %1,0 miktardaki Ag oranı).....	62
Şekil 4.13 Örnek 2'in (PVP/ODA-MMT/ MA / AgNO ₃) EDS Analizi (Toplam malzeme yüzdesi içerisindeki %1,4 miktardaki Ag oranı)	63
Şekil 4.14 Örnek 3'ün (CMC / MA / ODA-MMT / AgNO ₃) EDS Analizi.....	63
Şekil 4.15 a) Örnek 1'in (AgNO ₃ içeren PVP/ODA-MMT) ışınlamasından önceki UV-Vis spektrumu, b) Mavi LED ışınlamasından sonra Örnek 1: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT, Örnek 2: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA ve Örnek 3: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT'nin UV spektrumları	65
Şekil 4.16 Örnek 1'in (Ag Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT) UV spektrumu (409 nm)	66
Şekil 4.17 Örnek 2'in (Ag Taşıyıcılı PVP/MA/ODA-MMT) UV spektrumu (441 nm).....	66
Şekil 4.18 Örnek 3'ün (Ag Taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT) UV spektrumu (391 nm) ..	66
Şekil 4.19 $2\theta \approx 38,27^\circ$ gözlenen XRD deseni	67
Şekil 4.20 $2\theta \approx 44,42^\circ$ gözlenen XRD deseni	68
Şekil 4.21 AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT (1-1: 1,50 mg/mL; 1-2 0,75 mg/mL AgNO ₃ , 1-3: 0,375 mg/mL AgNO ₃), AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA (2-1: 1,50 mg/mL; 2-2 0,75 mg/mL AgNO ₃ , 2-3: 0,375 mg/mL AgNO ₃) ve AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT (1-1: 1,50 mg/mL;1-2 0,75 mg/mL AgNO ₃ , 1-3: 0,375 mg/mL AgNO ₃) kolloid çözeltilerinin sitotoksikite analizleri.....	70
Şekil 4.22 PMMA'ya kaplanmış olan AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT (1-1:1,50 mg/ml; 1-2: 0,75 mg/ml; 1-3: 0,375 mg/ml AgNO ₃), AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA (2-1: 1,50 mg/ml; 2-2: 0,75 mg/ml; 2-3: 0,375 mg/ml AgNO ₃) ve AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT (3-1: 1,50 mg/ml; 3-2: 0,75 mg/ml; 3-3: 0,355 mg/ml AgNO ₃) örneklerin MTT Analizi	72
Şekil 4.23 Kontrol grubu örneklerinde; a) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213), b) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228) ve c) <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) suşlarına ait PMMA yüzeylerindeki biyofilmoluşumları	74

Şekil 4.24 Şekil 4.23 a’da görülen biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	74
Şekil 4.25 Şekil 4.23 b’de görülen biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi(MATLAB’da analiz edilmiştir.)	74
Şekil 4.26 Şekil 4.23 c’de görülen biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	75
Şekil 4.27 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213) biyofilmlerinde, farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplamaların 1,5 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücre dağılımının CLSM görüntüleri. a–c: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT; d–f: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA; g–ı: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplamalar.	76
Şekil 4.28 Şekil 4.27 a’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	77
Şekil 4.29 Şekil 4.27 b’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	77
Şekil 4.30 Şekil 4.27 c’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	77
Şekil 4.31 Şekil 4.27 d’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	78
Şekil 4.32 Şekil 4.27 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	78
Şekil 4.33 Şekil 4.27 f’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	78
Şekil 4.34 Şekil 4.27 g’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	78
Şekil 4.35 Şekil 4.27 h’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	79
Şekil 4.36 Şekil 4.27 ı’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	79
Şekil 4.37 <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228) biyofilmlerinde, farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplamaların 1,5 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücre dağılımının CLSM görüntüleri. a–c: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT; d–f: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA; g–ı: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplamalar.	82

Şekil 4.38 Şekil 4.37 a’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	82
Şekil 4.39 Şekil 4.37 b’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	83
Şekil 4.40 Şekil 4.37 c’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	83
Şekil 4.41 Şekil 4.37 d’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	83
Şekil 4.42 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	83
Şekil 4.43 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	84
Şekil 4.44 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	84
Şekil 4.45 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	84
Şekil 4.46 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)	84
Şekil 4.47 <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) kaplama yüzeylerine biyofilmlerinde, farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplamaların 1,5 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücre dağılımının CLSM görüntüleri. a–c: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT; d–f: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA; g–i: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ ODA-MMT kaplamalar.	87
Şekil 4.48 Şekil 4.47 a’da görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	88
Şekil 4.49 Şekil 4.47 b’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	88
Şekil 4.50 Şekil 4.47 c’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	88
Şekil 4.51 Şekil 4.47 d’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	89
Şekil 4.52 Şekil 4.47 e’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	89

Şekil 4.53 Şekil 4.47 f’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	89
Şekil 4.54 Şekil 4.47 g’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	89
Şekil 4.55 Şekil 4.47 h’da görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	90
Şekil 4.56 Şekil 4.47 h’da görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.).....	90
Şekil 4.57 1,5 mg/ml AgNP taşıyıcılı kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> ve <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc1).	92
Şekil 4.58 0,75 mg/ml AgNP taşıyıcılı kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> ve <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc2).	94
Şekil 4.59 0,375 mg/ml AgNP taşıyıcılı kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> ve <i>Enterococcus faecalis</i> biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc2).	95

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

C_{∞}	Sonsuz büyük (düz yüzeyli) parçacığın çözünürlüğü
C_r	Yarıçapı r olan parçacığın çözünürlüğü
R	Evrensel gaz sabiti
r	Parçacığın yarıçapı
T	Mutlak sıcaklık
V_m	Parçacığın molar hacmi ($\frac{m^3}{mol}$)
γ	Parçacığın yüzey gerilimi (yüzey enerjisi, $\frac{N}{m}$)
Ag	Gümüş
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
AgNP	Gümüş Nanopartikül
CMC	Sodyum karboksimetil selüloz
CoNS	<i>Koagülaz negatif stafilokoklar</i>
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EPS	Hücre dışı polimerik maddeler
HaCaT	İnsan Keratinosit Hücre Hattı
LED	Işık yayan diyot (Light Emitting Diode)
LSPR	Lokalize yüzey plazmon rezonansı
MA	Poli (akrilik ait-ko-maleik-asit) kopolimeri
MTT	(3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür)
ODA-MMT	Aminopropiltrietoksi silan ve oktadesil amin ile modifiye edilmiş nanokil
PMMA	Polimetilmetakrilat (PMMA)
PVP	<i>Poly(N-vinil pirolidon)</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. capitis</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
SPR	Yüzey plazmon rezonansı

1. GİRİŞ

Hastane enfeksiyonları her yaş grubunda görülse de özellikle yenidoğanlar için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre yenidoğan ölüm oranlarının büyük bir kısmı enfeksiyonlara bağlı olarak gerçekleşmektedir [1]. İmmün sistemlerinin immatür olması, mukozal bariyer fonksiyonlarının yetersizliği ve bu durum sınırlı maternal antikör transferi nedeniyle patojenlere karşı etkili bir bağışıklık yanıtı geliştirmeleri engellenmekte ve enfeksiyon kaynaklı morbidite ile mortalite riskini artırmaktadır [2], [3]. Anneden plasenta yoluyla fetüse geçen antikörler, belirli düzeyde koruma sağlasa da bu pasif bağışıklık enfeksiyonlarla mücadelede her zaman yeterli olmamaktadır [4]. Mevcut bilimsel kanıtlar, preterm bebeklerde immün yanıtın gebelik yaşı ve doğum ağırlığı ile doğru orantılı olduğunu ortaya koymaktadır [5]. Özellikle 1500 g altındaki yenidoğanlarda hastane enfeksiyonlarına yakalanma riski yaklaşık %33 iken, 1500 g üzerindeki yenidoğanlarda bu oran %10 civarındadır [6]. Ayrıca literatüre göre doğumdan sonra ilk 72 saatten sonra ortaya çıkan enfeksiyon vakalarının %78-80'ine hastane kaynaklı enfeksiyonlar neden olmaktadır ve *Koagülaz negatif stafilokoklar (CoNS)*, *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*) ve *Enterobacteriaceae* gibi çoklu ilaç dirençleri bakterileri içerir [7]. *S. aureus*, *Enterobacteriaceae* ve *Enterococcaceae*, yenidoğan enfeksiyonları, bakteriyemi ve ciddi salgınların en sık gözlemlenen patojenleri arasındadır [8], [9], [10], [11], [12]. Ayrıca, yenidoğan enfeksiyonları ve hastane kaynaklı salgınlar açısından kritik bir patojen olarak tanımlanan *Staphylococcus capitis* (*S. capitis*), yaygın antimikrobiyal direnç özellikleri nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde sık rastlanan patojenler arasındadır [13].

Yenidoğan yoğun bakım kuvözleri, termal homeostazı sağlamak ve metabolik stres yükünü azaltmak amacıyla kontrollü ısı ve nem seviyeleri sunan tıbbi cihazlardır. Ancak, bu cihazların kompleks tasarımları, çevresel hijyenin sürdürülmesi ve dekontaminasyon süreçlerinin etkin bir şekilde uygulanmasını zorlaştırmaktadır. Özellikle ortamdaki suyun varlığı, mikrobiyal kontaminasyon riskini arttırarak dekontaminasyon etkinliğini azaltmakta ve dezenfeksiyon protokollerini daha da zorlaştırmaktadır [14].

Kuvözlerin iç ve dış yüzeyleri, hastane kaynaklı enfeksiyon etkeni olan mikroorganizmalar için bir potansiyel üreme görevi görebilir ve bu patojenler, standart dezenfeksiyon protokollerine rağmen uzun süre ortamda varlıklarını sürdürebilirler [15], [16]. Özellikle sürekli nemlendirme işlemi, kuvözün iç yüzeylerinde mikrobiyal biyofilm

oluşumunu teşvik ederek, potansiyel patojenlerin %40 oranında kolonizasyonuna neden olmaktadır. Bu durum, hastane kaynaklı enfeksiyonların yayılma riskini arttırmaktadır [15].

Kuvöz yüzeyleriyle doğrudan temas eden yenidoğanlar (örneğin, kanopi yüzeyine temas edenler), çevresel bulaşma riskini artırmaktadır. Mikrobiyolojik analizler, hastalar ve kuvözler arasında aynı patojen klonlarının tespit edilmesiyle bu riski doğrulamakta ve hastane ortamında mikroorganizma yayılımının kuvöz yüzeyleri aracılığıyla gerçekleşebileceğini göstermektedir [17].

Yenidoğan yoğun bakım kuvözlerinin dekontaminasyonu, çevresel patojenlerin bulaşma riskini azaltmak için kritik öneme sahiptir. Ancak, bu süreç, dekontaminasyon gerektiren çok sayıda teknik parametrenin ve farklı yüzeylerin varlığı nedeniyle oldukça zordur. Üreticiler tarafından genellikle daldırma yöntemi önerilse de özellikle suya daldırılmayan yüzeylerde mikroorganizmaların dekontaminasyon sonrasında da varlığını sürdürebildiği gözlemlenmiştir [7]. Alternatif olarak, kuvözlerin dekontaminasyonunda üretici firmaların önerdiği dezenfektanlar ve dezenfektan içerikli mendiller kullanılmakta, ancak bu yöntemlerin patojenleri tamamen elimine etmede yetersiz kaldığı görülmektedir [16]. Hitaka et al., alkol bazlı dezenfektanların prematüre bebeklerde sistemik alkol maruziyetine neden olduğunu ve kan örneklerinde alkol birikimi tespit edildiğini göstermektedir [18]. Ayrıca, mevcut dezenfeksiyon yöntemlerinin etkinliği; uygulama sırasında karşılaşılan altyapı eksiklikleri, kullanım sıklığı ve operatör bağımlılığı nedeniyle sınırlıdır. Bu durum, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde daha güvenli, uygulanabilir ve yüksek etkinlik gösteren dekontaminasyon yöntemlerine duyulan ihtiyacı ortaya koymaktadır [16].

Mikrobiyal kontaminasyonu önlemek ve cihaz kaynaklı enfeksiyonları azaltmak amacıyla, tıbbi cihaz yüzeylerinin antimikrobiyal kaplamalarla modifiye edilmesi en etkili yöntemlerden biri olarak öne çıkmaktadır [19]. Literatür araştırmaları, tıbbi cihaz yüzeylerinin antimikrobiyal kaplamalarla modifikasyonunun, mikrobiyal kontaminasyonu önleyerek cihaz kaynaklı enfeksiyonları azaltmada etkili bir strateji olduğunu ortaya koymaktadır [20]. Bu yaklaşım, sekonder bakteriyel kontaminasyonu engelleyerek hasta güvenliğini artırırken, gereksiz antibiyotik kullanımını azaltarak ilaca dirençli patojenlerin yayılımını sınırlandırmaktadır.

Yukarıdaki literatür bilgileri doğrultusunda şu an mevcutta bulunan yenidoğan kuvözlerinde dekontaminasyon açısından güvenli bir protokol mevcut değildir. Bunun doğrultusunda, bu tez çalışmasında yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki kuvöz kanopilerini mikroorganizma kolonizasyonuna karşı korumak amacıyla, yeni bir yaklaşım

kullanılarak görünür ışıkla aktive olabilen antibakteriyel kaplama teknolojisi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Kuvöz kanopilerinde mikroorganizma birikimini önlemek amacıyla geliştirilen nanokompozit yapı, içerdiği görünür ışığa duyarlı aktif madde sayesinde antimikrobiyal etki göstermeyi hedeflemektedir.

Tasarlanan nanokompozit örneklerin SEM görüntüleri yapının çekirdek-kabuk (core-shell) şeklinde olduğunu göstermektedir. Kabuk olarak 3 farklı biyoyumlu nanokompozit matris kullanılmış, her kabuğun içerisinde AgNP çekirdeği bulunmaktadır. Bu çekirdek-kabuk yapısının görünür ışık altında etkin bir şekilde patojenleri inaktive etme özelliği, hastane kaynaklı enfeksiyonların azaltılması konusunda önemli bir adım teşkil etmektedir. Kabuk biyoyumluluğu sağlarken, AgNP çekirdek ise görünür ışığa duyarlılığıyla antibakteriyel özelliği sağlamaktadır.

Bu metodoloji, kuvöz yüzeylerinde mikrobiyal üreme ve biyofilm oluşumunun engellenmesine yardımcı olurken, aynı zamanda çevresel (nem, sıcaklık değişimleri vb.) faktörlerden kaynaklanan biyofilm oluşumunu sağlayan etkileri minimize etmeyi amaçlamaktadır.

Bu tez çalışmasında, gümüş oranları sabit tutularak gerçekleştirilen farklı yüzey kaplamalarının antibakteriyel etkinlikleri, sitotoksite oranları ve biyoyumluluk düzeyleri değerlendirilmiş ve örnekler birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Tüm örneklerde eşit miktarda gümüş içeriği bulunmasına rağmen, nanokompozit matris kabuğu içeriğinden dolayı belirgin farklılıklar göstermişlerdir. Bu farklılıklar nanokompozit matrisin fiziksel-kimyasal, optik özelliklerinin yanı sıra AgNP partiküllerin bu matrisin içerisindeki dağılımına ve boyutuna bağlıdır.

Benzer şekilde, literatürde de gümüş oranı sabit tutulduğunda, kaplama tekniği ve yüzey morfolojisindeki farklılıkların antibakteriyel etkinlik üzerinde belirleyici olduğu rapor edilmiştir. Xia et al. (2011) [21] , daha iyi film kalitesi ve düzgün dağılım sağlayan kaplamaların, aynı gümüş içeriğine rağmen daha yüksek bakterisidal etki gösterdiğini belirtmiştir.

Bizim çalışmamızda da alınan sonuçlara göre 3 farklı AgNP taşıyıcılı biyoyumlu nanokompozitte bulunan aynı miktarda bulunan AgNP aynı eğilimi göstermektedir. Geliştirilen görünür ışığa duyarlı antibakteriyel kaplamalar, özellikle yenidoğanların sağlığını koruma ve enfeksiyonların önlenmesinde büyük bir potansiyele sahiptir. Gelecekte yapılacak araştırmalar, bu teknolojinin daha geniş bir şekilde uygulanabilirliğini ve etkinliğini değerlendirerek, sağlık hizmetlerinde enfeksiyon kontrolü stratejilerinin güçlendirilmesine katkı sağlamayı hedeflemektedir.

Bu çalışmanın güncelliği, amacı ve hedefi, bilimsel yeniliği, kullanılan araştırma yöntemleri, pratikteki önemi, savunma için gerekli açıklamalar, araştırmacının katkıları ve çalışmanın onaylanması gibi önemli unsurlar aşağıdaki başlıklarda detaylı bir şekilde ele alınmıştır.

1.1. Çalışmanın Güncelliği

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde mikroorganizma kontaminasyonunun ve hastane kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi, günümüzde hala önemli bir sağlık problemi olarak öne çıkmaktadır. Özellikle prematüre bebeklerin ve düşük doğum ağırlıklı yenidoğanların daha hassas ve korunmasız olmaları, bu enfeksiyonların tedavisini ve önlenmesini daha zor hale getirmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre hastane enfeksiyonları, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde yenidoğan ölümlerinin önemli bir nedenidir. Bu durum, enfeksiyon kontrol stratejilerinin sürekli geliştirilmesini ve multidisipliner bir yaklaşımla ele alınmasını gerektirmektedir.

1.2. Amaç ve Hedef

Bu tez çalışmasının temel hedefi, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde kullanılan kuvöz kanopileri üzerinde mikrobiyal kolonizasyonu ve biyofilm oluşumunu önlemeye yönelik, dekontaminasyon açısından güvenli ve etkin bir uygulama protokolü geliştirmektir.

Bu doğrultuda bu hedefe ulaşmak için, görünür ışığa duyarlı, biyoyumlu ve antibakteriyel bir yüzey tasarlanması amaçlanmıştır.

1.3. Çalışmanın Bilimsel Yeniliği

Bu çalışmanın bilimsel yeniliği, mevcut literatürde çoğunlukla UV ışık kaynakları ile aktive edilen ve fototoksiste riski taşıyan antibakteriyel kaplamaların aksine, 450 nm dalga boyundaki görünür mavi ışıkla etkinleşebilen, çekirdek-kabuk yapısına sahip, AgNP içeren ve biyoyumlu polimer matris üzerine inşa edilmiş bir kaplama sisteminin geliştirilmiş olmasıdır. Literatür taramalarında rastlanan birçok çalışmada, AgNP bazlı kaplamaların etkinliği vurgulanmakla birlikte, kontrollü salınım mekanizmalarının yetersizliği ve uzun süreli biyolojik kararlılığın sağlanamaması, bu sistemlerin pratik kullanımı açısından önemli kısıtlayıcı faktörler olarak öne çıkmaktadır. Bu tez çalışmasında optimize edilmiş AgNP oranına sahip olan çekirdek-kabuk yapısı sayesinde hem kontrollü salınım hem de fotokatalitik aktivite başarılı biçimde entegre edilmiştir.

Ayrıca incelenen literatürdeki çalışmaların çoğunda antibakteriyel performans değerlendirilirken biyoyumluluk testlerinin sınırlı olduğu ya da yalnızca teorik

değerlendirmelerle sınırlı kaldığı görülmektedir. Bu çalışmada ise insan keratinosit hücre hattı (HaCaT) kullanılarak gerçekleştirilen MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi ile ISO 10993-5 standardına uygun sitotoksosite analizleri yapılmış, böylece geliştirilen sistemin yalnızca antimikrobiyal değil aynı zamanda hücresel düzeyde biyolojik güvenlik açısından da doğrulanabilir olduğu gösterilmiştir.

Ek olarak, kaplama sistemi *drop-casting* yöntemiyle düşük maliyetli ve uygulanabilir bir şekilde hazırlanmış; yüzey morfolojisi ve kimyasal bileşimi SEM, EDS, XRD ve UV-VIS spektroskopisi gibi ileri karakterizasyon teknikleriyle detaylı olarak analiz edilmiştir. Böylece bu çalışma hem klinik olarak uygulanabilirliği hem de fizikokimyasal ve biyolojik performansı bütüncül şekilde ortaya koyan, literatürdeki önemli boşlukları dolduran yenilikçi bir yüzey mühendisliği yaklaşımı sunmaktadır.

1.4. Araştırma Yöntemleri

Araştırma kapsamında, polimetilmetakrilat (PMMA) yüzeyler üzerine görünür ışıkla aktive olabilen AgNP içeren biyoyumlu polimer matris antibakteriyel kaplamalar geliştirilmiş ve bu kaplamaların fiziksel, kimyasal, optik ve biyolojik özellikleri sistematik olarak değerlendirilmiştir.

Kaplama işlemi *drop-casting* yöntemiyle uygulanmış, tüm örnekler 3 mg AgNO₃ eklenmiştir. Yüzey morfolojisi SEM ile incelenmiş, elementel bileşim SEM-EDS ile doğrulanmış; kristal yapı XRD analizleriyle, optik özellikler ise UV-VIS spektrofotometresi ile değerlendirilmiştir.

Antibakteriyel etkinlik, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* suşları kullanılarak, canlı/ölü hücre boyama yöntemi ile analiz edilmiştir.

Kaplamaların biyoyumluluğu, insan keratinosit hücre hattı (HaCaT) üzerinde gerçekleştirilen MTT testi ile değerlendirilmiş olup, sitotoksosite analizleri ISO 10993-5 standardı doğrultusunda yürütülmüştür.

1.5. Çalışmanın Pratik Önemi

Literatür araştırması yapıldığında, antibakteriyel kaplamaların tıbbi cihaz yüzeylerinde kullanımına yönelik çeşitli yaklaşımlar mevcut olmakla birlikte, bu sistemlerin uzun vadeli stabilitesi, biyoyumluluğu ve klinik uygulanabilirliği gibi kritik parametrelerin bütüncül olarak ele alındığı kapsamlı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın pratik önemi, görünür ışık altında sürekli aktif kalabilen, toksik

olmayan ve tıbbi cihaz yüzeylerine uygulanabilir nitelikte bir antibakteriyel kaplama çözümünün sunulmasında yatmaktadır. Hastane enfeksiyonlarının azaltılması, temizlik protokollerinin etkinliğinin desteklenmesi ve sağlık personelinin iş yükünün hafifletilmesi gibi çok boyutlu katkılarla, bu teknoloji yenidoğan yoğun bakım ortamlarında enfeksiyon kontrolü açısından yenilikçi ve uygulanabilir bir yaklaşım ortaya koymaktadır.

1.6. Savunma İçin Hükümler

- Üç farklı AgNP taşıyıcılı biyoyumlu polimer görünür ışık ile (450 nm mavi LED) başarıyla sentezlenmiştir.
- Mavi LED ışık (450 nm), AgNP'lerin LSPR piki ile uyumlu olduğu için fotokatalitik aktiviteyi ve gümüş iyonu salınımını maksimize ederek antibakteriyel etkinliği artırmaktadır.
- UV-Vis analizleri, 391–441 nm aralığında gözlenen belirgin LSPR bantları ile AgNP immobilizasyonunu doğrulamıştır.
- SEM analizleri, kaplamaların yüzey morfolojisini ve AgNP'lerin çekirdek-kabuk yapısının oluşumunu ortaya koymuştur. EDS elementel analizleri ise yüzeydeki gümüş varlığını doğrulamıştır.
- XRD sonuçları, 38,27° ve 44,42°'deki piklerle fcc yapıya sahip nanometrik kristalin AgNP oluşumunu doğrulamıştır.
- HaCaT hücre hattında yapılan MTT testleri, ISO 10993-5 standardına göre kaplamaların sitotoksik olmadığını göstermiştir.
- Antibakteriyel testlerde, *S. epidermidis* düşük konsantrasyonlarda bile yüksek inhibisyon gösterirken, *E. faecalis* yoğun EPS matriksi nedeniyle en dirençli tür olarak belirlenmiştir.
- Test edilen aralıkta 1,5 mg/mL konsantrasyon, tüm nanokompozitlerde maksimum antibakteriyel inhibisyon sağladığı için optimum doz olarak seçilmiştir.
- Geliştirilen kaplamalar, antibakteriyel etkinlik, biyofilm inhibisyonu ve biyoyumluluk özellikleriyle YYBÜ yüzeylerinde enfeksiyon kontrolünde kullanılmaya uygundur.

1.7. Araştırmacının Kişisel Katkısı

Literatür taraması, deney planlaması, kaplama yöntemi ve parametrelerinin belirlenmesi, numune hazırlığı gibi aşamalar doğrudan araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir. Tezin tüm yazım süreci, bulguların sistematik olarak düzenlenmesi,

şekil ve tablo oluşturulması, literatürle karşılaştırmalı analizleri yapılmıştır.

Analizlerin bir bölümü çeşitli üniversitelerin ilgili araştırma laboratuvarlarında hizmet karşılığı gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerin planlanması, örneklerin hazırlanması, alınan verilerin değerlendirilmesi danışman hocam ve çalışmaya katkıda bulunan değerli hocalarım ile koordinasyon şeklinde yapılmıştır.

Bu kapsamda tez çalışması, bilimsel araştırma etiğine uygun şekilde araştırmacının özgün katkılarını içermektedir.

Bu çalışma kapsamında, etik kurul izni alınması gerekliliği bulunmamaktadır.

1.8. Diğer Araştırmacıların Katkısı

Geliştirilen kaplamaların karakterizasyonu için yapılan SEM/SEM-EDS ve XRD analizleri, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı yoluyla yapılmıştır.

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Kübra Erkan Türkmen, UV-VIS spektrometre analizi ve antibakteriyel etkinlik testlerini Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kamil Özdağ Fen Fakültesi Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yürütmüştür.

Sayın Öğr. Gör. Dr. Ebru Erdal, hücre canlılık testlerini, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirmiştir.

1.9. Çalışmanın Onaylanması

Bu çalışmanın kısmi içeriği, 17-19 Ocak 2025 tarihlerinde Çanakkale'de düzenlenen IV. International Çanakkale Scientific Studies Congress'te, "Development of A Novel Cellulose-Based Nanocomposite Coating Applied to the Infant Incubator Canopy Surface And Biocompatibility Analysis on Keratinocyte Cell Line (HaCaT)" başlıklı tam metin, sözlü bildiri olarak kabul edilmiştir. (<https://kongreases.com/asescanakkalekongresi/>) ve konferans kitapçığında (<https://kongreases.com/wp-content/uploads/2025/02/CANAKKALE-KITAP.pdf>) yayınlanmıştır.

Bu çalışmanın kapsamlı bulguları, özgün bilimsel katkılar içermesi nedeniyle, tam metin olarak hakemli ve uluslararası indekslerde taranan bir akademik dergide makale formatında yayımlanması planlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Sunulan tezin bu bölümünde, yapılan çalışmalara bilimsel temel oluşturmak amacıyla literatür taramalarına yer verilmiş; 2000-2025 yılları arasındaki güncel akademik yayınlar ve akademik araştırmalar doğrultusunda tez konusu ile ilgili konu başlıkları detaylı bir biçimde incelenmiştir.

Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde kullanılan kuvöz kanopileri üzerinde mikrobiyal kolonizasyonu ve biyofilm oluşumunu engellemek, enfeksiyon kontrolüne yenilikçi bir yaklaşım getirmek amacıyla görünür ışığa duyarlı antibakteriyel kaplama metodolojisinin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda, genel bilgiler bölümünde hem klinik hem de materyal-bilimsel arka plan sunmak amacıyla multidisipliner bir bakış açısı oluşturulmuştur.

Bu kapsamda, öncelikle yenidoğan fizyolojisi ve bu döneme özgü solunum, kardiyovasküler, termal, metabolik ve bağışıklık sistem adaptasyonlarına yer verilmiştir. Yenidoğanların tam gelişmemiş bağışıklık sistemlerine sahip olmaları nedeniyle onların hastane ortamlarında enfeksiyonlara karşı son derece savunmasız hale getirmekte ve bu durum özellikle yoğun bakım ünitelerinde ciddi klinik riskler oluşturmaktadır.

Ardından, yenidoğan bakımında kullanılan yenidoğan kuvözlerinin klinik önemi, bu cihazların sağladığı çevresel kontrol ve termoregülasyon mekanizmalarına yer verilmiştir. Bununla birlikte kuvözlerin sürekli kullanımı, cihaz iç yüzeylerinde mikrobiyal kontaminasyon riskini arttırıp, hastane kaynaklı enfeksiyon risklerini de arttırmaktadır.

Literatür taraması sonucunda, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde en sık karşılaşılan mikroorganizmalar belirlenmiş; tez kapsamında deneysel çalışmalarda kullanılacak *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* türleri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Ayrıca, bu mikroorganizmaların kolonizasyon mekanizmaları, biyofilm oluşturma süreçleri ve dezenfeksiyon prosedürlerine karşı geliştirdikleri direnç mekanizmaları kapsamlı şekilde açıklanmıştır.

Bu çalışmada kaplama materyali (substrat) olarak tercih edilen ve kuvöz kanopilerinde kullanılan PMMA, cam malzemeye kıyasla daha hafif, kırılmaya daha dayanıklı ve işlenmesi daha kolay olduğu için seçilmiştir. Yüzey modifikasyonuna olanak tanıyan kimyasal yapısı, antibakteriyel kaplamalar açısından avantaj sağlamaktadır.

Antibakteriyel etkinlik sağlamak için kullanılan AgNP'ler literatürde sıklıkla yer verilen geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliklere sahiptir. AgNP'lerin görünür ışık altında fotokatalitik aktivite sergileyerek antibakteriyel etki sağladığı ve hücre zarı yıkımına neden

olduğu bilinmektedir. Bu sayede gün ışığı ya da ortam ışığı gibi aydınlatma koşullarında dahi antibakteriyel etki göstermektedir.

Çalışma kapsamında, 2000-2025 yılları arasında yayımlanmış özgün araştırmalar incelenerek, görünür ışığa duyarlı antibakteriyel kaplamalar, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde kuvöz dezenfeksiyon prosedürleri ve yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde sık rastlanan mikroorganizmalar ve enfeksiyon kontrolüne yönelik potansiyel uygulamalar araştırılmıştır. Literatür taraması; PubMed, Google Scholar ve Cochrane Library veri tabanları kullanılarak yürütülmüş olup son 25 yılı kapsayacak şekilde sınırlandırılmıştır.

Literatür taraması kapsamında, tez çalışmasının konu kapsamına doğrudan uygun olan araştırmalar seçilmiştir. Ön tarama aşamasında belirlenen yayınların tam metinlerine ulaşılmış, ardından materyal ve yöntemler, çalışma grupları, kullanılan test ve analiz teknikleri ile elde edilen sonuçlar ve yorumlar ayrıntılı şekilde değerlendirilmiştir.

Konuyla yeterince ilişkili olmayan, içeriği bilimsel nitelik taşımayan yayın türleri (örn. bir makale hakkında uzman görüşü, yorum), uygun olmayan metodoloji veya yeterince bilimsel veriye ulaşılmaması gibi makaleler dışlanmıştır. Tezin güvenilirliğini zedeleyebilecek önyargılı ve/veya taraflı değerlendirmeler hariç bırakılmıştır.

2.1. Yenidoğan Dönemi Fizyolojisi

Doğumdan sonraki ilk 28 gün, yenidoğan dönemi olarak tanımlanır. Bu süreç, bebeğin amniyotik sıvı ile çevrili sessiz, steril ve termal olarak kararlı ortamından, dış dünyadaki çevresel uyarıcılara ve patojenlere maruz kaldığı, termal olarak kararsız bir ortama geçişiyle başlar. Anne karnındaki korunaklı ortamdan ayrılan bebek, yeni çevre koşullarına uyum sağlamaya çalışırken, anatomik ve fizyolojik olarak önemli değişimlere uğrar. Özellikle solunum ve kardiyovasküler sistemlerde belirgin fizyolojik değişiklikler gözlemlenir. Fetüsün gaz alışverişi, dolaşımı ve atık yönetimi plasenta sayesinde gerçekleşirken, plasentanın ortadan kalkması, bebeğin dış dünyaya adaptasyonunu zorunlu kılar [22]. Bu adaptasyon dönemi, bebek için zorlu ve stresli bir dönemdir [23]. Erken doğum durumunda, bu adaptasyon süreci sekteye uğrayabilir ve beklenen fizyolojik değişiklikler tam olarak gerçekleşmeyebilir [22].

Sağlıklı bir yenidoğan, 38-42. gebelik haftasında doğmuş, doğum ağırlığı 2500-4000 gram arasında olan, doğumdan hemen sonra ağlayan ve doğum sonrası hayata kolaylıkla uyum sağlayabilen bebek olarak tanımlanır [24]. Ekstrauterin yaşama tüm sistemleriyle adapte olabilen bu bebekler, "term" ya da "miadında doğan" olarak bilinir [25]. Gebeliğin 20-36. haftaları arasında, vücut ağırlığına bakılmaksızın "prematüre" veya "preterm" doğum

olarak kabul edilir ve bu doğumların dünya görülme sıklığı giderek artmaktadır[26]. Dünya genelinde, her 10 bebekten biri prematüre olarak doğarken, her 40 saniyede bir prematüre bebek hayatını kaybetmektedir [27]. Prematüre doğum, yenidoğan ölümleri açısından en kritik faktörlerden biri olup, küresel çapta önemli bir halk sağlığı sorunu olarak değerlendirilmektedir. DSÖ'ye göre, prematüre doğumlar tüm yenidoğan ölümlerin yaklaşık %35'ini oluşturmakta ve uzun vadede çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilmektedir [28].

2.1.1. Solunum Sistemi Adaptasyonu

Doğum sonrası en önemli fizyolojik değişikliklerden biri, fetüsün plasenta aracılığıyla sağlanan gaz değişiminden bağımsız olarak solunum yapmaya başlamasıdır. Fetal akciğerler, gebeliğin erken dönemlerinden itibaren gelişmeye başlasa da doğumdan önceki süreçte sıvı ile doludur ve aktif gaz değişimi gerçekleşmez. Yenidoğanın solunum sistemi, dış ortama uyum sağlamak için akciğer sıvısının temizlenmesi, sürfaktan üretiminin yeterli düzeye ulaşması ve ilk nefesle birlikte solunum mekanizmasının çalışmaya başlamasıyla devreye girer [29].

Sağlıklı bir yenidoğanda, doğum sırasında göğüs kafesi sıkışır ve akciğer sıvısının bir kısmını dışarı atılır. Geride kalan sıvı ise doğumdan sonraki birkaç saat içinde lenfatik sistem tarafından emilir. Yenidoğanın ilk nefesiyle birlikte oksijen alımı başlar, bu durum pulmoner vasküler direnci düşürülerek fetal dolaşımın yenidoğan dolaşımına dönüşmesini sağlar [30].

Prematüre bebeklerde akciğer gelişimi ve sürfaktan üretimi yeterli seviyeye ulaşmadığından, solunum güçlükleri sık görülür. Akciğerlerin tam açılmasını sağlamak için eksojen sürfaktan tedavisi uygulanabilir. Ayrıca, solunum kaslarının zayıflığı ve solunum kontrol mekanizmalarının tam gelişmemiş olması nedeniyle prematüre bebekler solunum yetersizliğine ve apne ataklarına daha yatkındırlar. Bu nedenle, mekanik ventilasyon veya solunum desteği gerekebilir [30].

2.1.2. Kardiyovasküler Sistemi Adaptasyonu

Embriyonal dönemin üçüncü haftasının sonunda kalbin kasılmaya başlamasıyla birlikte dolaşım sistemi işlev kazanmaya başlar. Fetal hemoglobinin yüksek oksijen taşıma kapasitesi ve açık olan anatomik şantlar sayesinde, fetüs gaz değişimi için akciğerler yerine plesentayı kullanır [31]. Bu fizyolojik yapı, akciğer sıvısının doğum öncesinde uygun bir şekilde temizlenmesine, yüzey aktif maddelerin salgılanmasına ve doğum sonrası düzenli solunumun başlamasına olanak tanır [32]. Doğumla birlikte göbek kordonunun klemplenip kesilmesiyle fetüs ile plasenta arasındaki kan dolaşımı sona erer. Bu durum, umbilikal arterler

ve venlerin kısa sürede fonksiyonel kapanmasına ve zamanla bağ dokusuna dönüşmesine yol açar [33]. Ayrıca, umbilikal venden karaciğeri bypass ederek inferior vena cava'ya kan taşıyan duktus venozus, doğum sonrası ilk saatlerde fonksiyonel olarak kapanır [34]. Fetal dolaşımında sağ atriyumdan sol atriya kan geçişini sağlayan foramen ovale ise doğumla birlikte sol atriyum basıncının artmasıyla kapanır; bu süreç genellikle doğumdan sonraki ilk saatlerde fonksiyonel, birkaç ay içinde ise kalıcı anatomik kapanma şeklindedir. İlk nefesle birlikte alveoller hava ile dolar, pulmoner vasküler direnç azalır ve pulmoner kan akımı artar; Böylece sağ ventrikülden akciğerlere etkin kan pompalanması gerçekleşir [33]. Plasental dolaşımın kesilmesiyle birlikte sistemik vasküler direnç artar ve sol ventrikül sistemik dolaşımı destekleyecek şekilde uyum sağlar [35].

2.1.3. Termoregülasyon Mekanizmaları

Yenidoğanlarda termoregülasyon, yaşamın ilk saatlerinden itibaren vücut ısısının korunması açısından kritik fizyolojik bir süreçtir. Özellikle prematüre bebekler, doğum sonrası çevresel sıcaklık değişimlerine karşı oldukça hassastır ve vücut ısılarını hızla kaybederler [36]. Rahim içi yaşam süresince bebeğin vücut ısısı, plaseenta ve uterus yoluyla anneden sağlanan ısıyla korunur. Bu mekanizma sayesinde fetüsün vücut sıcaklığı, anneninkinden yaklaşık 0,3–0,5 °C daha yüksek seviyede kalır. Fakat doğum anıyla birlikte bebek, sıcak ve stabil rahim ortamından ayrılarak daha serin bir çevreyle karşılaşır. Bu ani geçiş, özellikle deri yüzeyindeki sıvıların buharlaşmasıyla önemli bir düzeyde ısı kaybına neden olur ve yenidoğanın vücut sıcaklığında hızlı bir düşüş yaşanır [37], [38]. Bu ani sıcaklık farkı, bebeğin vücudundan çeşitli yollarla ısı kaybına yol açar. Isı kaybı; doğrudan daha soğuk yüzeylerle temas (iletim), hava akımıyla çevreye ısı geçişi (konveksiyon), temas olmadan daha soğuk nesnelere doğru ısı yayılımı (radyasyon) ve bebeğin cildindeki ıslaklığın buharlaşması (evaporasyon) gibi mekanizmalarla gerçekleşir [39].

Bu durumların başlıca nedenleri vücut yüzey alanının kütleye oranla yüksek olması, kahverengi yağ dokusunun yetersizliği, terleme mekanizmasının olgunlaşmamış olması, titreme yoluyla ısı üretiminin sınırlı olması ve yaşamın ilk günlerinde cilt damar sistemlerinin otomatik termoregülatuar kontrolünün tam gelişmemiş olması yer alır [40]. Yenidoğanın dış dünyaya uyum sağlayabilmesi için, bu ısı kaybı nedenleri en aza indirilmelidir [41]. Yenidoğanlarda vücut ısısını normal seviyede tutmak, dışardan bir ısı desteği sağlanmadıkça oldukça zordur [42]. Çünkü ısı kaybı, vücudun ısı üretim kapasitesini hızlıca aşarak hipotermi gelişimine neden olur. Bu nedenle, yenidoğanlarda hipotermi önlenmesi için uygulanan tedbirler hem ısı kaybının minimize edilmesine hem de

gerektiğinde dış kaynaklardan ek ısı sağlanmasına odaklanır [36].

2.1.4. Metabolik Adaptasyonlar

Doğum sonrası yenidoğanın enerji metabolizması, sürekli olarak plesentadan glikoz alımından, daha değişken yağ bazlı bir enerji kullanım modeline geçiş yapmayı gerektirir. Miladında doğan bebekler, bu geçişi karmaşık ve uyumlu metabolik ile hormonal düzenlemeler sayesinde başarıyla gerçekleştirirler. Ancak prematüre veya intrauterin büyüme geriliği olan bebeklerde bu adaptasyon mekanizmaları farklılık gösterir ve bu gruplarda keton üretimini dengeleyen karşı düzenleyici süreçlerde bozulmalar görülebilir. Ayrıca yenidoğanda insülin salgısı ile kan glikoz düzeyleri arasındaki ilişki miladında doğan bebeklere kıyasla az belirgindir. Bu metabolik uyum süreçleri aynı zamanda yenidoğanın beslenme şekline göre değişkenlik gösterebilir [43].

2.1.5. Bağışıklık Sistemi ve Enfeksiyona Karşı Savunma

Enfeksiyona karşı doğuştan gelen savunmanın ilk hattı, patojenlerin girişini engelleyen veya geciktiren fiziksel bariyerdir [44]. Prematüre yenidoğanlar, cilt bariyerlerinin tam olarak gelişmemiş olması nedeniyle yüksek trans epidermal su kaybına yatkındır. Bu yenidoğanlarda verniks kazeoza genellikle bulunmaz, çünkü bu koruyucu tabaka esas olarak üçüncü trimesterde üretilmeye başlanır. Doğumdan sonra cilt bariyer fonksiyonunun tam olarak kazanılması belirli bir zaman gerektirir ve bu süreç doğum haftası ne kadar erken olursa o kadar uzun sürer. Prematüre bebeklerde stratum korneum daha ince olup, involukrin, albümin ve proinflamatuvar sitokinlerin daha yüksek oranlarda bulunması nedeniyle cilt bariyer fonksiyonu daha zayıftır [44]. Ciltleri elastik liflerden yoksundur ve jelatinöz bir yapıya sahiptir. Bu durum, trans epidermal su kaybının artmasına neden olarak sıvı dengesinin korunmasını zorlaştırır. Ayrıca, yüksek yüzey alanı/kütle oranı nedeniyle aşırı su kaybı vücut ısısının düzenlenmesini güçleştirir ve hipotermi riskini artırır. Epidermal bariyerin yetersiz gelişimi, prematüre bebekleri sistemik enfeksiyonlara ve cilt hasarına daha yatkın hale getirirken, aynı zamanda çevresel patojenlerin ve istenmeyen maddelerin perkütan emilimini kolaylaştırır [45].

2.2. Yenidoğan Bakımı

Her yıl dünyaya gelen yaklaşık 130 milyon bebeğin 3,7 milyonu yenidoğan döneminde hayatını kaybederken, 3,3 milyon bebek ölü doğmaktadır [46]. Ayrıca her yıl 500 bin anne, gebelikle ilişkili komplikasyonlar nedeniyle yaşamını yitirmektedir. Yenidoğan ölümlerinin üçte biri doğumdan sonraki ilk hafta içerisinde gerçekleşirken, en yüksek ölüm riski yaşamın

ilk günü ortaya çıkmaktadır [47]. Prematüre doğum ve buna bağlı morbidite dünya genelinde beş yaş altı çocuk ölümlerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Konjenital anomali ve yenidoğan bebeğin vücut ısını düzenleyememesi, prematüre bebek ölümlerinin yanı sıra kalıcı sakatlıkların da önde gelen nedenlerindendir. Her yıl 2,7 milyon bebek hayatını kaybederken, bu ölümlerin %47'si yenidoğan döneminde gerçekleşmektedir [48]. Bebeklerin yaklaşık %0,5'i, 20 ila 25. gebelik haftaları arasında doğmakta ve bu grup, en yüksek ölüm oranına sahip yenidoğanları temsil etmektedir [49]. 22. haftada doğan bebeklerin hayatta kalma şansı %6 iken, bu oran 23. haftada %26'ya, 24. haftada %55'e ve 25. haftada %72'ye yükselmektedir [50].

Gelir seviyesine göre prematüre bebeklerin hayatta kalma oranları da önemli ölçüde değişmektedir. Düşük gelirli ülkelerde, 32 hafta veya daha erken doğan bebeklerin yarısı, sıcaklık düzenlemesi, emzirme desteği, enfeksiyon yönetimi ve solunum desteği gibi temel bakımlardan yoksun kaldığı için hayatını kaybetmektedir. Yüksek gelirli ülkelerde ise bu bebeklerin büyük çoğunluğu hayatta kalırken, orta gelirli ülkelerde teknolojinin yetersiz kullanımı nedeniyle yenidoğan dönemini atlatan erken doğan bebeklerde engellilik oranı artmaktadır [48]. Yaşamın en savunmasız dönemlerinden biri olan yenidoğan döneminde, doğum ve yenidoğan bakımında kaliteli sağlık hizmetlerinin önemi bu nedenle giderek daha fazla vurgulanmaktadır.

Çoğu yenidoğan ve anne ölümü, gebelik sürecinde uygun doğum öncesi bakım, doğum sırasında deneyimli sağlık personeli tarafından güvenli bir doğum, doğum sonrası etkin bakım ve yenidoğan acil müdahaleleri ile önlenabilir. Bu ölümlerin önlenmesinde temel yenidoğan bakımının teşviki, düşük doğum ağırlıklı bebekler için kanguru anne bakımının uygulanması (ten tene temas ile ısı sağlama), termoregülasyonun sağlanması, erken ve sadece anne sütü ile beslenmenin desteklenmesi, yeterli beslenme ve demir ile folik asit takviyelerinin sağlanması büyük önem taşır. Ayrıca, ulusal rehberlere uygun bağışıklama programlarının uygulanması, doğumda nefes almayan bebekler için yenidoğan canlandırma müdahalelerinin yapılması ve göbek kordonu enfeksiyonlarını önlemek için klorheksidin ile temizlik gibi önlemler kritik rol oynamaktadır [51], [52].

2.2.1. Yenidoğan Kuvöz İhtiyacı

Anne rahmi, fetüsün sağlıklı gelişimi için gerekli olan çevresel şartları, besin maddelerini ve diğer ihtiyaçları karşılayan karmaşık bir yapıdır. Prematüre veya sağlık sorunları olan yenidoğanların büyüme ve gelişimi ise büyük ölçüde, bakım ortamındaki teknolojilerin ve sağlık personelinin anne rahminin biyolojik işlevlerini ne kadar başarılı

taklit edebildiğine bağlıdır. Bu nedenle, yenidoğana sağlanan bakım kalitesi; teknolojik donanım ve insan faktörlerinin bir arada çalıştığı kapsamlı bir “kuvöz sistemi” ile şekillenir.

Prematüre ve yenidoğan bebekler, sağlık sorunları nedeniyle zaman zaman daha fazla özen ve özel bakıma ihtiyaç duyabilir. Doğum sırasında asfiksi, yenidoğanların vücut ısını düzenleyememesi, doğuştan gelen anomaliler, düşük doğum ağırlığı ve prematüre doğum, yenidoğan ölümlerinin yanı sıra kalıcı sakatlıkların da başlıca küresel nedenleri arasında yer almaktadır [53].

Yenidoğan bakımında en temel uygulamalardan biri, termoregülasyonu destekleyen, bebek yatağı görevi gören kuvözlerin kullanılmasıdır. Kuvözler, erken doğan veya tıbbi olarak risk taşıyan bebeklerin tedavisinde kritik bir rol oynar. Bu kapalı cihazlar, bebeğin çevresindeki sıcaklık, nem ve oksijen seviyelerini stabil tutarak kontrollü bir ortam sağlar. Böylece, ani ısı dalgalanmalarından ve sıvı kaybından korunmalarına yardımcı olur; özellikle prematürelerde sıkça görülen hipotermi ve solunum problemlerinin önlenmesine katkı sağlar. Ayrıca kuvözler, enfeksiyon riskini azaltarak yenidoğanları dış etkenlerden izole eder ve büyüme ile iyileşme süreçlerini destekler [54].

2.3. Yenidoğanlarda Hastane Kaynaklı Enfeksiyonlar ve Bulaş Mekanizmaları

Yenidoğan hastane enfeksiyonları, doğum öncesi, doğum sırası veya doğum sonrasında çeşitli mikrobiyal etkenlerle temas sonucu gelişebilir. Doğum kanalından geçiş sırasında fetüs, annenin vajinal ve servikal florasında bulunan mikroorganizmalarla karşılaşabilir. Ayrıca doğumdan sonra uygulanan invaziv işlemler ve hastane ortamındaki çevresel kontaminasyon da enfeksiyon gelişiminde rol oynar [55].

Yaşamın ilk 5 günü içinde ortaya çıkan yenidoğan enfeksiyonları genellikle rahim içerisinde ya da doğum sırasındaki bulaşlara bağlı olup, çoğunlukla sepsis şeklinde kendini gösterir. Buna karşılık, doğumdan sonraki 7.günden itibaren gelişen enfeksiyonlar sıklıkla doğum sonrası dönemde kazanılır ve klinik olarak menenjit gibi daha lokalize enfeksiyonlarla seyredilebilir [55], [56], [57]. Bu enfeksiyonlar uzun vadede hem morbiditeyi hem de mortaliteyi artırmakta; yenidoğan ölümlerinin %33’ünden ve 5 yaş altı çocuklarda ölümlerinin %50’sinden sorumlu olmaktadır [58].

Yenidoğanlarda hastane enfeksiyonlarının gelişiminde etkili olabilecek çeşitli risk faktörleri bulunmaktadır. Bu faktörler arasında hastanede yatış süresinin uzaması, yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki hasta yoğunluğu, hemşire başına düşen hasta sayısının fazlalığı, invaziv girişimlerin uygulanması, uygun olmayan enfeksiyon kontrol teknikleri, antimikrobiyal ilaçların yaygın kullanılması ve kullanılan kuvözlerin etkin ve düzenli

şekilde dezenfekte edilmemesi de yer almaktadır [55], [56], [57], [59]. Özellikle kuvözlerin uygun dezenfeksiyon koşullarına uyulmadan ya da yetersiz sıklıkta temizlenerek kullanılması, enfeksiyon zincirinin devam etmesine neden olabilmektedir. Hastane enfeksiyonlarının önlenmesi hasta güvenliği açısından hayati bir öneme sahip olup, sürecin etkin yönetimi için farklı disiplinlerin iş birliğini gerektirir.

Yenidoğanlarda enfeksiyon riski doğum ağırlığının azalmasıyla birlikte büyük ölçüde artar. Hastane kaynaklı enfeksiyonların çoğu Gram pozitif bakterilerden kaynaklanmakta olup bu oran %55,4 ile 75 arasında bildirilmektedir. CoNS, özellikle çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde en sık izole edilen etkenler arasında yer alır. Ayrıca *S. aureus*, *Enterococcus* türleri ve *Grup B Streptokoklar (GBS)* da önemli patojenler arasındadır. Gram negatif bakteriler (örneğin *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* ve *Serratia* türleri) enfeksiyonların %18 ile %31,2'sinden sorumludur. Ayrıca, fungal enfeksiyonlar da önemli bir sorun oluşturmaktadır; özellikle prematüre ve bağışıklık sistemi tam gelişmemiş bebeklerde fırsatçı bir patojen olan *Candida albicans* yaygın olarak görülmekte ve enfeksiyonların %9 ile %12,8'ini oluşturmaktadır [60]. Cocksackie virüsleri, Adenovirüs, Respiratuvar Sinsityal Virüs (RSV) ve Rotavirüsler gibi viral ajanların, özellikle salgınlara yol açma potansiyelleri vardır. Ancak bu etkenlerin hastaneye yatırılan yenidoğanlar arasındaki gerçek yaygınlığı çoğu zaman yeterli düzeyde belirlenmemektedir [55].

Bu literatür taramasına dayanarak, son 25 yıl içerisinde gerçekleştirilen çalışmalar ve raporlar, *S. aureus* (ATCC 29213), *S. epidermis* (ATCC 12228) ve *E. faecalis* (ATCC 29212) türlerinin hastane kaynaklı enfeksiyonlar arasında en yüksek risk grubunda yer aldığını göstermiştir. Bu nedenlerle, söz konusu bakteriler çalışma kapsamına dahil edilmiştir.

2.4. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde Mikrobiyal Kontaminasyon

Yapılan literatür araştırmaları, yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki mikrobiyal kontaminasyonun olası kaynaklarını ve rezervuarlarını detaylı şekilde ele almış; bu kontaminasyonlarının başta tıbbi cihaz yüzeyleri olmak üzere, sağlık çalışanlarının elleri, ortam havası ve yetersiz dezenfekte edilen ekipmanlar aracılığıyla yayıldığını göstermiştir. Diğer yandan bazı araştırmalar, bu mikroorganizmaların yenidoğan yoğun bakım ünitesi ortamını ve hareketsiz yüzeyleri, belirli patojenler açısından kalıcı rezervuarlar olarak kullanabildiğini ortaya koymuştur.

Kramer et al. 2006 yılında gerçekleştirdiği sistematik derlemesine göre, bazı bakteri türleri (MRSA, VRE, E. coli vb.) Kuru yüzeylerde aylarca, solunum yolu virüsleri ise genellikle birkaç gün canlı kalabilmektedir. Mikroorganizmaların yüzeylerdeki yaşam süresi; ortam sıcaklığı, nem düzeyi ve yüzeyin yapısı gibi çevresel faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir [61].

Tablo 2.1 Mikroorganizmaların hayatta kalma süreleri

	Mikroorganizmalar	Gün cinsinden tespit edilen yaşam süresi aralığı
Gram pozitif	<i>Staphylococcus aureus</i>	<1 dk - 318 güne kadar
	<i>Clostridioides difficile</i>	0,13 saat–140 gün
	<i>Koagülaz-negatif Sitafilokokus (CoNS)</i>	<1 dk -28 güne kadar
	<i>Micrococcus luteus</i>	120 gün
	<i>Streptococcus mutans</i>	7,8 dakika –12 dakika
	<i>Bacillus spp.</i>	1gün –28 gün
	<i>Enterococcus spp.</i>	0,02– 287gün
Gram negatif	<i>Acinetobacter spp.</i>	0,04– 90 gün
	<i>Burkholderia cepacia</i>	0,13 – 8gün
	<i>Sitrobacter freundii</i>	0,06 – 0,11
	<i>Escherichia coli</i>	<1 dk- 56 güne kadar
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,57 – 600 gün
	<i>Proteus mirabilis</i>	0,16 – 0,16
	<i>Pseudomonas spp.</i>	0,08 – 7 gün
	<i>Salmonellaspp.</i>	0,29 – 5 gün
	<i>Serratiaspp.</i>	0,29 – 20 gün
	<i>Stenotrophomonasmaltophilia</i>	0,29 – 1 gün
Mantarlar	<i>Haemophilusinfluenzae</i>	1 gün
	<i>Candidaauris</i>	14 gün
	<i>Candidaspp.</i>	0,13 – 28 gün
Virüsler	<i>Animalvirus</i>	0,5 – 7 gün
	<i>Coronavirus</i>	0,04 – 20 gün
	<i>Cytomegalovirus</i>	<1 dk 0,01 güne kadar
	<i>Humanvirus</i>	<1 dk 12 güne kadar
	<i>SARS-CoV</i>	1-2 gün

Ayrıca bu çalışmada, patojenlerin temas ettiği yüzeylerin özelliklerine göre

sınıflandırıldığı görülmektedir (Bkz. Tablo 2.2). Gözeneksiz yüzeyler; mikroorganizmaların ve sıvıların geçişine izin vermeyen, düz ve geçirimsiz materyaller olup, cam, plastik, seramik, metal, vinil, paslanmaz çelik, bakır, formika ve emaye gibi malzemeleri içerir. Gözenekli yüzeyler ise lifli ve emici yapıda olup, sıvı veya havayı geçirebilen özellik taşır. Bu tür yüzeylere kâğıt, kumaş, pamuk, keten, ahşap, sünger, polyester ve yün örnek verilebilir [61].

Tablo 2.2 Kuru yüzeylerde mikroorganizmaların hayatta kalma oranları

Temas edilen yüzey	İlgili mikroorganizmalar	Gün cinsinden tespit edilen yaşam süresi aralığı
Gözeneksiz	<i>Acinetobacter</i> spp.	0,29-60 gün
	<i>Clostridioides difficile</i>	0,12-140 gün
	<i>Escherichia coli</i>	0,25-11 gün
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2-2 gün
	<i>Pseudomonas</i> spp.	0,21-7 gün
	<i>S. aureus</i>	0,04-60 gün
Gözenekli	<i>Acinetobacter</i> spp.	1,5-90 gün
	<i>C.difficile</i>	0,25-3 gün
	<i>E. coli</i>	0,29-25 gün
	<i>K.pneumoniae</i>	4-600 gün
	<i>Pseudomonas</i> spp.	0,08-7 gün
	<i>S.aureus</i>	1-168 gün

2.5. Yenidoğan Yoğun Bakım Kuvözlerinde Mikrobiyal Kontaminasyon Riski

Yenidoğanlar, henüz tam gelişmemiş bağışıklık sistemleri nedeniyle hastane ortamında enfeksiyonlara karşı oldukça savunmasızdır. Özellikle belirli risk faktörlerine sahip bebeklerde (örneğin çok düşük doğum ağırlığı, prematürelilik, annenin kortikosteroid alması, mekanik ventilasyon vb.) yaşamın üçüncü gününden itibaren görülebilecek geç başlangıçlı sepsis gibi enfeksiyonlara yakalanma olasılığı oldukça yüksektir [62]. Bu nedenle, yenidoğan yoğun bakım kuvözlerinde bebeklerin enfeksiyon risklerinden korunabilmesi için etkin ve düzenli bir dezenfeksiyon süreci yürütülmesi önemlidir.

Fattorini et al. [63] (2018) gerçekleştirdiği kesitsel çalışmada, yenidoğan yoğun bakım ünitesinde kullanılan üç farklı modele ait 20 kuvözde, literatürde bildirilen kontaminasyon riski yüksek bölgeler dikkate alınarak yenidoğan yoğun bakım ünitesinde kullanılan üç farklı

modele ait toplam 20 kuvöz test edilmiştir. Hastane dezenfeksiyon protokolüne uygun olarak, her kuvözde dezenfeksiyon öncesi ve sonrası olmak üzere 13 eşleşen örnekleme noktası değerlendirilmiştir. Bu örnekleme alanları arasında kanopi pencereleri ve kilitleri, şilte yüzeyleri, kontrol paneli, sensörler ve erişim pencereleri yer almıştır. Dezenfeksiyon öncesinde ve dezenfeksiyon sonrasında CFU (colony forming unit) değerleri karşılaştırılarak, uygulanan dezenfeksiyon protokolünün mikrobiyal yük üzerindeki etkinliği değerlendirilmiştir. Dezenfeksiyon işlemi sonrasında 313 örnekleme noktasında ortalama 209 CFU ve %93,5 oranında bir azalma gözlenmiş, en yüksek azalma ise 5730 CFU olarak kaydedilmiştir. Dezenfeksiyon öncesi yapılan 756 sürüntü analizinde %7,4 oranında maya, %2,8 oranında küf ve %12,6 oranında çeşitli bakteriler tespit edilmiştir. Ayrıca, kontaminasyonun kuvözlerin iç yüzeylerinde dış yüzeylere göre daha yaygın olduğu görülmüştür. Bu bulgular, özellikle Gram pozitif bakterilerin neden olduğu Geç Başlangıçlı Sepsis (LOS) açısından dezenfeksiyonun önemini vurgulamaktadır [63] .

Chavignon et al. [64] (2021) çalışmasında, üçüncü seviye bir yenidoğan yoğun bakım ünitesinde kullanılan kuvöz dezenfeksiyon uygulamalarının etkinliği ve olası zayıf noktaları çevresel örnekler üzerinden incelenmiştir. Bu kapsamda; kuvözlerde barındırılan yenidoğanlarda geç başlangıçlı sepsis (LOS) gelişimi izlenmiş, dezenfeksiyon öncesi ve sonrası mikrobiyal kontaminasyonun dağılımı değerlendirilmiş, sağlık çalışanlarının ellerindeki potansiyel mikrobiyal taşıyıcılık durumu araştırılmış ve yenidoğan yoğun bakım ünitelerindeki diğer çevresel patojen kaynakları tespit edilmeye çalışılmıştır. Fransa'daki bir üçüncü basamak YYBÜ'de, 20 kuvöz üç farklı zamanda incelenmiştir: Dezenfeksiyon öncesi, dezenfeksiyon sonrası ve yeni bir yenidoğanın yerleştirilmesinden 24 saat sonra, her kuvözün çeşitli yüzeylerinden alınan örnekler bakteriyel kontaminasyon açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca, kuvözlerde barındırılan yenidoğanların klinik verileri tıbbi kayıtlardan elde edilmiştir. Tüm kuvözlerde, üç farklı zamanda bakteriyel kontaminasyon tespit edilmiştir. Yatak ve tartı yüzeyleri, kontaminasyonun en sık görüldüğü alanlar olmuştur. *CoNS*, *Enterococcus* ve *Bacillus* türleri dezenfeksiyona direnç göstermiştir; ancak *enterobakteriler* ve *S. aureus* ortadan kaldırılmıştır. 24 saat sonra, bakteriyel kolonizasyon düzeyi dezenfeksiyon öncesi seviyelere benzer hale gelmiştir. Kuvözlerden izole edilen bakteriler, sağlık çalışanlarının ellerinde de bulunmuştur. Çalışma süresince, iki prematüre yenidoğanda geç başlangıçlı sepsis (LOS) geliştiği ve bu olguların, daha önce bulundukları kuvözlerden izole edilen bakteriyel türlerle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu durum, kuvöz kaynaklı mikrobiyal kontaminasyonun klinik enfeksiyonlara yol açabileceğini göstermektedir. Standart dezenfeksiyon prosedürleri, kuvözlerdeki patojenik bakterileri

tamamen ortadan kaldıramamakta ve bu durum, prematüre yenidoğanlar için enfeksiyon riski oluşturmaktadır [64]. Bu nedenle hem dezenfeksiyon süreçlerinin hem de kuvöz tasarımlarının gözden geçirilmesi ve iyileştirilmesi gerekmektedir.

Bu bulguları destekleyen bir diğer çalışma, Reboux et al. [65] (2023) yenidoğan yoğun bakım ünitesinde kuvöz dezenfeksiyonunda yeni uygulamaya konulan buhar pulverizasyon protokolünün etkinliğinin değerlendirdiği bir çalışmadır ve bu yöntem, hastanelerde rutin olarak kullanılan standart kimyasal dezenfeksiyon protokolüyle karşılaştırılmıştır. Çalışmanın ikincil amacı dezenfeksiyon sırasında kuvözlerde erken dönemde yeniden kontaminasyonu tanımlamaktır. Ayrıca, her kuvözde takip edilen hastalarda geç başlangıçlı sepsis (LOS) gelişimi izlenmiştir. Araştırma, Fransa'nın Lyon kentindeki Hôpital Femme-Mère-Enfant'ta gerçekleştirilmiş ve toplam 20 kuvöz dezenfekte edilmiştir. Her kuvözün beş farklı bölgesi (conta, sol kapı kolu, sıcaklık ayar düğmesi, yatak ve tartı) dezenfeksiyon öncesi, buharla dezenfeksiyon sonrası ve yeni bir yenidoğanın yerleştirilmesinden 24 saat sonra olmak üzere üç farklı zamanda kültür yöntemiyle örneklenmiştir. Ayrıca, her kuvözde barındırılan yenidoğanların geç başlangıçlı sepsis (LOS) gelişimi retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Dezenfeksiyon öncesinde alınan örneklerin %87'si bakteriyel kontaminasyon göstermiştir. Buhar pulverizasyonu sonrasında bu oran %61'e düşmüştür. Ancak, 24 saat sonra kontaminasyon oranı tekrar %85'e yükselmiştir. Yatak ve tartı yüzeyleri, dezenfeksiyon sonrasında sırasıyla %90 ve %80 oranında en sık kontamine olan bölgeler olmuştur. Dezenfeksiyona rağmen *CoNS*, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae* ve *Bacillus* türleri tespit edilmiştir. Üç prematüre bebek, dezenfekte edilmiş kuvözlerde barındırıldıktan sonra LOS geliştirmiştir; bu vakaların ikisinde, enfeksiyona neden olan bakteriler 24 saat sonra yatak yüzeyinde izole edilmiştir. Buhar pulverizasyon yöntemi, kuvözlerdeki bakteriyel kontaminasyonu azaltmakla birlikte, tamamen ortadan kaldırmakta yetersiz kalmaktadır. Özellikle yatak gibi hasta ile doğrudan temas eden yüzeylerde kontaminasyonun devam etmesi, mevcut dezenfeksiyon protokollerinin etkinliğini sorgulatmaktadır [65]. Bu nedenle, daha etkili dezenfeksiyon yöntemlerinin geliştirilmesi ve kuvöz tasarımlarının gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Dezenfeksiyonun doğrudan prematüre bebek sağlığı üzerindeki etkisini ele alan Hitaka et al. [18] (2023), etanol alkol bazlı dezenfektanların kullanımı sonucu prematüre bebeklerin alkol buharına maruz kalma düzeylerini ve bunun potansiyel etkilerini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Araştırma, Japonya'daki bir hastanede gerçekleştirilmiş olup, 28 haftadan küçük gestasyon yaşına sahip 28 prematüre bebek çalışma kapsamında incelenmiştir. Çalışmada, bebeklerin kanlarındaki alkol düzeyleri ve kuvöz içerisindeki buharlaşmış alkol

konsantrasyonları ölçülmüştür. Ayrıca, alkol maruziyetini azaltmak amacıyla alınan önlemlerin etkisi değerlendirilmiştir. Kuvöz içerisindeki alkol buharı konsantrasyonları, dezenfeksiyon sonrası belirgin şekilde artmış ve bebeklerin kanlarındaki alkol düzeylerinde yükselmelere neden olmuştur. Prematüre bebeklerin cilt bariyerlerinin yeterince olgunlaşmamış olması, alkolün deriden geçişini kolaylaştırarak sistemik emilim açısından kritik bir rol oynamaktadır. Çalışmada, alkol buharına maruziyeti azaltmak için kuvözlerin temizlendikten sonra havalandırılması, temizlik sonrası bekleme süresi bırakılması ve alkol bazlı ürün kullanım sıklığının azaltılması gibi önlemler alınmıştır. Alınan önlemler sonucunda, hem kuvöz içerisinde alkol buharı düzeyleri hem de bebeklerin kan alkol konsantrasyonları anlamlı bir şekilde azalmıştır. Yenidoğan yoğun bakım ünitesinde alkol bazlı dezenfektanların kontrolsüz kullanımı, prematüre bebeklerde sistemik alkol maruziyetine yol açabilmektedir [18]. Bu durum bebek sağlığı açısından potansiyel riskler oluşturduğundan, dezenfeksiyon uygulamaları dikkatle planlanmalı ve maruziyeti azaltmaya yönelik stratejiler önceliklendirilmesi gerekmektedir.

Son olarak Lange et al. [66] (2021) çalışmasında kuvöz yüzeyleri ile yenidoğanların rektal ve boğaz sürüntülerindeki bakteriyel profiller karşılaştırılmış, kuvözlerin doğrudan hasta çevresi olarak yenidoğanlarda bakteriyel kolonizasyona neden olabileceği ortaya konmuştur. Bu bu yenidoğan kuvözlerinin doğrudan hasta çevresi olarak, yenidoğanların bakteriyel kolonizasyonu üzerindeki etkisini değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmada kuvöz yüzeylerinden ve yenidoğanların rektal ve boğaz sürüntüleri alınmış, bu alınan örnekler kullanılarak bakteriyel kolonizasyon üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Araştırmada kuvöz yüzeylerinden ve yenidoğanlardan alınan örnekler kullanılarak bakteriyel kolonizasyon düzeyleri incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 62 kuvözün iç yüzeylerinde hastane kökenli bakterilerin yoğun bir şekilde kolonize olduğu tespit edilmiştir. 22 kuvözde yalnızca CoNS ve *Bacillus* spp. türleri tespit edilmiştir. Geriye kalan 40 kuvözde ise örneklenen beş bölgenin en az birinde *E.s faecalis*, *S. aureus*, *E. coli* veya bu türlerin kombinasyonları izole edilmiştir. Bazı kuvözlerde yalnızca tek bir tür saptanırken; bazı kuvözlerde çoklu mikroorganizma varlığı, örneğin *E.faecalis* ile *Klebsiella oxytoca* veya *Enterobacter cloacae* birlikte gözlemlenmiştir. Özellikle bir kuvözde, *S. aureus*, *E. coli* ve *E. faecalis*'in aynı anda bulunması, kuvözlerin mikrobiyal kontaminasyon açısından ciddi bir risk taşıdığını ortaya koymuştur. Prematüre bebeklerin cilt florasında da benzer mikroorganizmalar gözlemlenmiştir. Bu benzerlik kuvözlerin hastane enfeksiyonlar açısından bir potansiyel rezervuar işlevi görebileceğini göstermektedir [66]. Yüzey dezenfeksiyon işlemlerinin etkisizliği veya yetersizliği, mikrobiyal bulaşın devamlılığını

arttırmaktadır.

Tüm bu çalışmalar ışığı sonucunda, mevcut dezenfeksiyon uygulamalarının yeterliliği tartışmalı hale gelmektedir. Özellikle kuvözlerin iç yüzeylerinde 24 saat gibi kısa sürelerde bile mikrobiyal kontaminasyonun yeniden gerçekleştiği görülmektedir. Bu nedenle, hem daha etkili ve kalıcı dezenfeksiyon yöntemlerinin geliştirilmesi hem de kuvöz tasarımlarının enfeksiyon kontrolü açısından yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir.

2.6. Yenidoğan Yoğun Bakım Kuvözlerde En Sık Rastlanan Mikroorganizmalar

Kuvözlerde uygulanan standart dezenfeksiyon protokollerine rağmen yüzeylerdeki mikrobiyal kontaminasyonun tamamen ortadan kaldırılmadığı gözlemlenmektedir. Bu durum, özellikle yenidoğan yoğun bakım üniteleri gibi immün sistemi zayıf bireylerin bulunduğu kritik alanlarda, rezidüel bakteriyel varlığın potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olabileceğini ortaya koymaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında, hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir bölümünden sorumlu olan ve klinik olarak yüksek öneme sahip Gram pozitif bakterilerden *S. aureus* (ATCC 29213), *S.epidermis* (ATCC 12228) ve *E. faecalis* (ATCC 29212) şuşları çalışmaya dahil edilmiştir. Söz konusu mikroorganizmalar; literatürde cihazla ilişkili enfeksiyonların başlıca etkenleri arasında yer almakta, yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yaygın olarak gözlemlenmekte ve uzun süre yüzeylerde canlı kalabilme yetenekleriyle öne çıkmaktadırlar. Ayrıca, bu bakterilerin biyofilm oluşturma kapasiteleri ve antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç mekanizmaları enfeksiyon kontrol yönetimini karmaşıktırmakta ve tedavi sürecini zorlaştırmaktadır.

Bu nedenler dikkate alınarak, tez çalışmasında kullanılan mikroorganizmalar, kuvöz kanopisinin dezenfeksiyon etkinliğinin değerlendirilmesi için temsil edici ve bilimsel açıdan anlamlı bir mikroorganizma grubu olarak seçilmiştir.

2.6.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus hem toplum kaynaklı hem de hastane enfeksiyonlarda sıklıkla görülen, çeşitli klinik hastalıklara neden olan bakteriyel insan patojenidir. Gram pozitif özellik gösteren ve *Staphylococcus* ailesine ait olan bu bakteri, mikroskop altında üzüm salkımına benzer kümeler halinde görülen kokus (yuvarlak) şekilli bir mikroorganizmadır. Metisiline dirençli şuşları (MRSA) gibi antibiyotik direnci gelişmiş türleri, tedavi sürecini zorlaştırmaktadır [67]. Günümüzde antibiyotik direncin giderek artmasıyla birlikte, MRSA dünya genelinde pnömoni, yara enfeksiyonları, bakteriyemi, idrar yolu enfeksiyonları ve

göbek kordonu enfeksiyonları gibi hastane kökenli enfeksiyonların önemli nedenlerinden biri haline gelmiştir [68]. *S. aureus*, memeli konaklarda kolonizasyonu kolaylaştıran ve enfeksiyon gelişimine katkı sağlayan çok sayıda ekzoprotein sentezleme yeteneğine sahiptir. Bu türün neredeyse tüm suşları; alfa, beta, gama ve delta hemolizinlerin yanı sıra nükleaz, proteaz, lipaz, hiyaluronidaz ve kolajenaz gibi çeşitli enzimleri ve sitotoksinleri dış ortama salgılar. Bu moleküllerin temel görevi, konak dokularını parçalayarak bakteriyel çoğalma ve metabolik faaliyetler için gerekli olan besin elementlerini serbest hale getirmektir [69].

S. aureus, sıklıkla burun deliklerin ön kısmında kolonize olur ve toplumun yaklaşık %30-40'ında burun bölgesinde taşıyıcılık tespit edilmiştir. Burun dışında *S.aureus* sıklıkla yerleştiği diğer bölgeler arasında nazofarinks, koltuk altları, kasık bölgesi ve sindirim sistemi yer almaktadır. Bu bakterilerin kan dolaşımına girmesi veya derin dokulara yayılması durumunda ciddi enfeksiyonların gelişmesine yol açabilir ve vücudun farklı bölgelerinde metastatik bir enfeksiyon odağı oluşturabilir. Pürin akıntıya sahip bireyler *S.aureus* bulaşında başlıca kaynaklar arasında yer alır. Bulaşma, doğrudan temasla daha sık olmakla birlikte, solunum yolu veya kontamine tıbbi cihazlar aracılığıyla da gerçekleşebilir. Çapraz enfeksiyonlar, genellikle sağlık çalışanlarının el hijyenine uymaması ya da kişisel koruyucu ekipmanları uygun bir şekilde kullanmaması nedeniyle ortaya çıkar ve bu ihmaller, mikroorganizmaların hastalar arasında taşınmasına zemin hazırlayarak enfeksiyon kontrol zincirini zayıflatır [68].

2.6.2. *Staphylococcus epidermidis*

S. epidermidis, mikroskop altında incelendiğinde üzüm salkımını andıran kümeler halinde dizilim gösteren, gram pozitif, koagülaz negatif bir kok bakteridir. Katalaz pozitif ve fakültatif anaerob yapısıyla bilinir. Bu bakteri, insan epitel mikroflorasının yaygın bir sakini olup; kuru, nemli, yağlı ya da ayak gibi farklı bölgeler de dahil olmak üzere cildin tüm mikro çevrelerinden izole edilebilmektedir. Saç folikülleri ve yağ bezleri gibi mikro nişlerin yüzey alanı göz önüne alındığında, deride mikroorganizmaların yaşayabileceği toplam yüzey alanın 30 m²'yi aştığı tahmin edilmektedir. Bu durum, deriyi mikroorganizmalarla etkileşim açısından vücudun en geniş epitel yüzeylerden biri haline getirmektedir.

Doğal florada genellikle zararsız bir komensal olan *S. epidermidis* hastane enfeksiyonlarının önden gelen nedenlerinden biri olarak tanımlanmaktadır ve enfeksiyon sıklığı bakımından *S. aureus* ile benzerlik göstermektedir. Özellikle invaziv tıbbi cihazların kullanımıyla ilişkili olarak gelişen kalıcı enfeksiyonlarda önemli bir rol oynamaktadır.

Bunun temelinde, bakterinin insan derisinde yaygın olarak bulunması ve tıbbi cihaz yüzeylerine tutunarak biyofilm oluşturma yeteneği yatmaktadır. Biyofilm yapısı, antimikrobiyal tedavilere karşı dirençli bir mikro çevre oluşturarak enfeksiyonların tedavisini güçleştirmektedir [70]. *S. epidermidis*, *S. aureus*'un aksine, güçlü toksinler veya doku yıkımına neden olan ekzotoksinler üretmemektedir. Ancak, yüzeylere tutunma ve kalıcılığını sürdürebilme yeteneğinden ötürü bu mikroorganizma, kendisini çevreleyen koruyucu bir ekstraselüler matriks oluşturarak biyofilm yapısını meydana getirir ve bu yapı içinde hayatta kalır [71].

S. epidermidis, *S. aureus*'dan farklı olarak agresif virülans faktörü üretmez. Bu nedenle, immünokompetan bireylerde genellikle hafif şiddette ve kronik seyirli enfeksiyonlara yol açar. Ancak immün sistem, zayıflamış hastalarda, *S. epidermis*, septisemi, menenjit ve benzeri ağır klinik tabloların gelişmesine neden olabilen potansiyel olarak ve yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir fırsatçı patojen olarak öne çıkmaktadır [72]. *S. epidermidis* prematüre bebeklerde sepsisin baskın patojeni olarak öne çıkmaktadır. Bu bakteriye bağlı sepsis vakalarında mortalite oranı genel yenidoğan grubunda %1,9–4,8 arasında değişirken, çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde %9,4'e kadar ulaşabilmektedir [73].

2.6.3. *Enterococcus faecalis*

E. faecalis, Gram pozitif ve fakültatif anaerobik özellik gösteren bir bakteridir. Çevresel dayanıklılığı yüksek olan bu tür, geniş pH aralıklarında yaşamını sürdürebilir. Özellikle 5 °C ile 50 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişim gösterebilirken, pH değeri 9,6'ya kadar olan ortamlarda da çoğalmaya devam edebilir. Bu adaptasyon yeteneği, onu dirençli suşlar arasında önemli bir patojen haline getirmektedir. Ayrıca biyofilm oluşturma kapasitesi sayesinde dış etkenlere karşı kendini korur [74].

E. faecalis, çeşitli çevresel streslere karşı yüksek tolerans gösteren bir mikroorganizmadır. Antibiyotikler, demir eksikliği, bağışıklık yanıtları ve bakteriyosinler gibi faktörlerin oluşturduğu olumsuz koşullar altında, bu bakteri çoğunlukla aktif bölünme fazında yer almaz. Bunun yerine, çoğunlukla açlık durumuna geçer veya kültürde üreyemeyen ancak metabolik olarak canlılığını sürdüren 'yaşayabilir fakat kültürlenemeyen' (VBNC) forma geçiş yapar. Bu fizyolojik durumda bile *E. faecalis* hücreleri hem biyotik hem de abiyotik yüzeylere tutunma yeteneklerini koruyarak enfeksiyon oluşumunun ilk basamağını gerçekleştirebilir. Yapılan çalışmalar, metabolik olarak aktif olmayan ya da açlık koşullarında bulunan *E. faecalis* hücrelerinin, aktif olarak çoğalan hücrelere kıyasla daha

düşük verimlilikle de olsa biyomalzemelerin yüzeylerinde biyofilm oluşturabildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, VBNC durumundaki hücreler biyofilm üretimi açısından kısıtlı kapasiteye sahip olsalar da olumsuz çevresel koşullar altında kısa süreliğine ekstraselüler polimerik matriks sentezleyebilme yeteneklerini muhafaza etmektedirler. Elde edilen bulgular, *E. faecalis*'in kültürde üreyemeyen fizyolojik formlarının çevresel koşulların elverişli hale gelmesiyle tekrardan aktifleşebileceğini ve enfeksiyon sürecini başlatabileceğini göstermektedir. Bu durum, söz konusu formların klinik açıdan dikkate alınması gereken bir patojen potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir [75].

Son yirmi yılda Enterokoklar, sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların başlıca nedenlerinden biri haline gelmiştir. Bu bakterilerin aminoglikozitlere karşı direnç geliştirmesi, β -laktamaz enzimi üretmesi, penisilin bağlayıcı proteinlerinde meydana gelen değişiklikler nedeniyle penisilin direnci kazanması ve glikopeptid antibiyotiklerine karşı dirençli hale gelmesi, tedavi seçeneklerini ciddi ölçüde kısıtlamıştır. Güncel moleküler epidemiyolojik bulgular, enterokok enfeksiyonlarının yalnızca endojen kaynaklı olmadığını, aynı zamanda hastane içi ve hastaneler arası bulaş yoluyla da yayılabildiğini ortaya koymuştur. Bu yayılımda sağlık çalışanlarının elleri aracılığıyla bulaşma önemli bir rol oynamakta, ayrıca cansız yüzeylerin de potansiyel enfeksiyon kaynakları olabileceği düşünülmektedir. Enterokokların neden olduğu hastane enfeksiyonları açısından antibiyotik kullanımı belirgin bir risk faktörü oluşturmaktadır. Çünkü bu bakteriler, birçok yaygın antimikrobiyal ajana karşı doğal olarak dirençli olabildikleri gibi, sonradan kazanılmış direnç mekanizmalarıyla da tedaviye yanıtı zorlaştırabilmektedir [76].

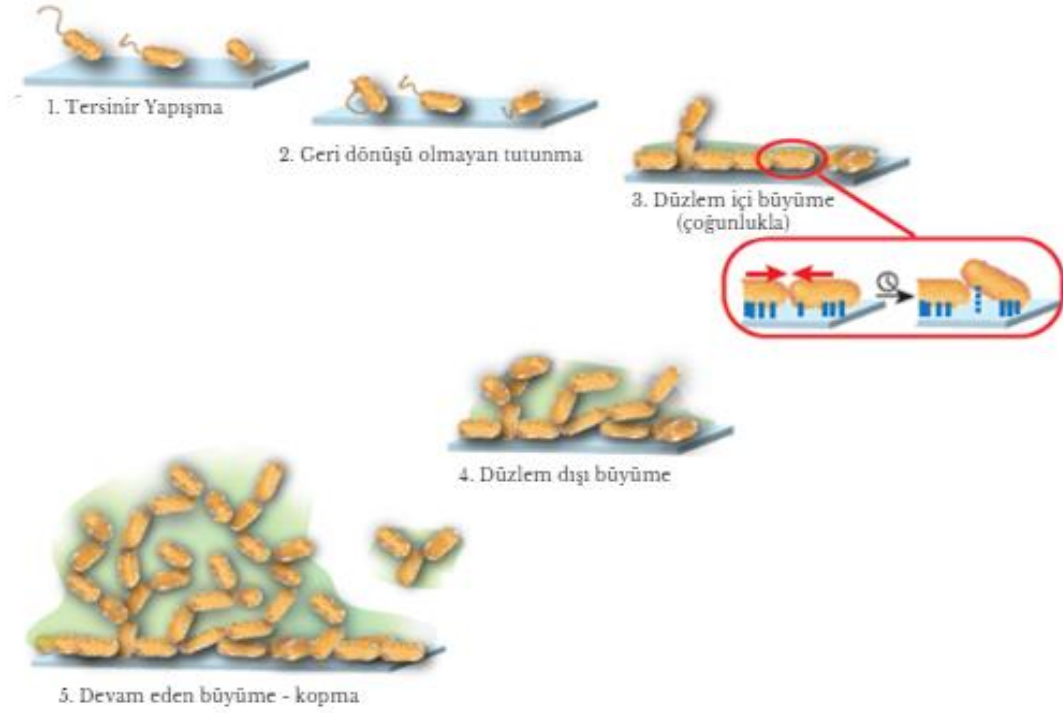
2.7. Tıbbi Cihaz Yüzeylerinde Bakteriye Kolonizasyonun Oluşumu ve Önleyici Stratejiler

Bakteriler, içinde bulundukları çevresel koşullara bağlı olarak, tıbbi cihaz yüzeyleri de dahil olmak üzere birçok farklı yüzeye tutunarak zaman içerisinde biyofilm yapıları oluşturup geliştirebilirler. Biyomalzeme ya da konak doku yüzeyinde oluşan ilk bakteri tutunması, yüzey kolonizasyonunun başlangıcını oluşturur. Bu en kritik aşamadır ve enfeksiyon gelişiminde en temel roldür. Bu tutunma ya da yüzeyden ayrılmaya karşı direnç, hem özgül (spesifik) hem de özgül olmayan etkileşimlerle şekillenir. Bu etkileşimlerin etkisi ise, büyük oranda yüzeyin fizikokimyasal özelliklerine ve çevresel akış koşullarına göre değişkenlik gösterir [77].

Biyofilm oluşma süreci, genellikle reseptör bağlanması veya başlangıçta hızlı ve

fiziksel olarak geri döndürülebilir (birinci faz) bir evreyle başlar. Bakteri hücresi ile yüzey arasında Van der Waals kuvvetleri, elektrostatik etkileşimler ve hidrofobik etkiler gibi uzun mesafeli ve zayıf bağlanmalar oluşur. Bu aşamada hücreler yüzeye henüz sıkı tutunmadığından, hafif bir durulama işlemi ile kolaylıkla uzaklaşabilirler. Ardından zamanla ilerleyen, moleküler ve hücrel etkileşimlere dayanan kalıcı bir yapışma evresi (ikinci faz) gerçekleşir. Bu bağlanma sırasında dipol-dipol etkileşimleri, hidrojen bağları, iyonik ve kovalent bağlanmalar ile hidrofobik etkiler rol oynar. Polimerik fibriller, bakteriyel hücre ile yüzey arasında köprü görevi görerek daha sağlam bir yapışma oluşturur. Bu nedenle hücrelerin yüzeyden uzaklaşması oldukça güç hale geldiği için fırçalama ve kazıma gibi daha kuvvetli temizleme yöntemlerinin uygulanması gerekir [78]. Üçüncü aşamada, yüzeye tutunan bakteriyel hücreler çoğalmaya başlar ve bu süreçte genellikle yüzey üzerinde tek katmanlı bir yapı oluşturarak ekstraselüler matriks üretirler. Bu matriks, hücreleri çevreleyen ve onları dış etkenlerden koruyan, genellikle polisakkarit, protein ve DNA'dan oluşan bir yapıdır. Dördüncü aşamada ise hücreler bu ilk tabakanın üzerine doğru yayılmaya başlarlar ve zamanla üç boyutlu, heterojen bir biyofilm topluluğu meydana gelir. Bu yapının farklı bölgelerinde yer alan hücreler, birbirlerinden farklı metabolik aktiviteler ve görevler sergiler. Böylece biyofilmin içinde işlevsel bir farklılaşma olur. Biyofilm enfeksiyonlarının yayılımı, bu yapının çeşitli parçalarının koparak çevredeki yeni yüzeylere taşınmasıyla gerçekleşir. Bu yayılma süreci, yeni kolonizasyon alanlarının oluşmasına neden olur ve enfeksiyonun kronikleşmesine zemin hazırlar. Biyofilm gelişiminin beşinci ve son aşaması kopma ya da ayrılma fazıdır. Bu evrede, biyofilmin olgunlaşmasıyla birlikte bağlı bulunan hücreler veya hücre kümeleri, hayatta kalabilmek ve yeni ortamlarda kolonizasyon sağlamak amacıyla biyofilm yapısından ayrılarak çevreye dağılır. Ayrılma süreci; sıvı fazın akış dinamikleri ve kesme kuvveti, bakterilerin ya da substratın yüzey özelliklerinde meydana gelen değişiklikler veya sıvı ortamda bulunan belirli kimyasal faktörlerin etkisiyle tetiklenmektedir [79].

Biyofilm oluşumu sırasında bakteriler, serbest halde bulundukları plaktonik formdan yüzeye tutunmuş yani 'sessil' fenotipe geçiş yaparlar. Bu geçiş sadece yapısal bir değişimi değil, aynı zamanda gen ekspresyonu düzeyinde büyük farklılıklar içeren fenotipik bir dönüşümü de kapsar. Evrimsel süreçte, hücreler hem birbirleriyle hem de bağlı bulundukları yüzey ortamıyla sürekli iletişim halindedir. Etkileşimler, çeşitli fiziko-kimyasal ve mekanik sinyallerin algılanması ve hücrel düzeyde yanıt verilmesiyle gerçekleşir. Bu sinyaller, hem başlangıçta yüzeye bağlanan öncü hücrelerde hem de daha sonra oluşan yavru hücrelerde farklılaşmaya yol açan genetik ve fizyolojik düzenlemeleri tetikler [79].



Şekil 2.1 Biyofilm oluşum aşamaları

Biyofilmler, yalnızca yüzeylerin mikrobiyal olarak kontamine olmasına neden olmakla kalmaz, aynı zamanda geliştirdikleri direnç mekanizmaları sayesinde uygulanan temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin etkinliğini önemli ölçüde azaltır. Bu dirençli yapıların yüzeylerden tamamen uzaklaştırılması oldukça güçtür ve genellikle yüksek konsantrasyonlu dezenfektanların birden fazla uygulamasını gerektirir. Bu nedenle, biyofilm oluşumunu engellemeye yönelik yapılandırılmış ve sürekli uygulanan bir temizlik ve dezenfeksiyon protokolünün benimsenmesi, özellikle sağlık hizmeti ile ilişkili enfeksiyon riskinin azaltılmasında temel öneme sahiptir [80].

Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar, yalnızca temizlik ajanlarına karşı değil, aynı zamanda çeşitli antimikrobiyal ajanlara karşı da direnç gösterebilir. Bazı bakteri türleri, çevresel etkileşimler sonucu genetik materyal alışverişiyle bu dirençlerini daha da ileri seviyeye taşıyabilir. Bu durum özellikle tıbbi cihazların yüzeylerinde gelişen biyofilmler açısından ciddi klinik sorunlara yol açabilir. Çünkü bu dirençli mikrobiyal yapılar, enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmakta, hastalıkların kronik bir hal almasına neden olmakta ve hasta güvenliğini tehdit etmektedir.

Geleneksel dezenfeksiyon ve tedavi yöntemlerinin bu tür dirençli biyofilm yapıları karşısında yetersiz kalması, yeni yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu

kapsamda, tıbbi cihaz yüzeylerinin mikrobiyal yapışmayı önleyecek şekilde tasarlanması, antimikrobiyal özellikli yüzey kaplamalarının tercih edilmesi, bakteriler arası iletişimi (quorum sensing) inhibasyonu ve hedefe yönelik antimikrobiyal ajanların uygulanması gibi alternatif yöntemler öne çıkmaktadır. Tüm bu önlemler, biyofilmin oluşmadan engellenmesini ve mevcut yapıların etkili şekilde ortadan kalkmasını amaçlamaktadır.

2.8. Biyofilm Gelişiminin Önlenmesine ve Kontrolüne Yönelik Yaklaşımlar

Hastane kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkili bakteriyel enfeksiyonlar, hem hasta sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturmakta hem de sağlık hizmetlerinde maliyet artmaktadır. Bu tür enfeksiyonların görülme sıklığını düşürmek amacıyla bugüne kadar çeşitli önleyici yaklaşımlar geliştirilmiştir. Mikroorganizmaların tutunma süreci, yüzeyin hem topolojik hem de kimyasal özelliklerine doğrudan bağlıdır [81]. Cihazla ilişkili enfeksiyonların başında malzeme yüzey kontaminasyonu bulunmaktadır. Bu durumun önüne geçebilmek için malzeme bileşimlerinin ve yüzey özelliklerinin istenen etkiyi verecek şekilde özelleştirilmesi gerekmektedir. Bu kapsamda, yüzey mühendisliği yaklaşımları, cihazların hem biyouyumluluğunu hem de genel performansını geliştirme potansiyeline sahiptir. Ayrıca yüzeyin fizikokimyasal karakteristiklerinin bilinçli şekilde değiştirilmesi, mikrobiyal tutunmayı azaltarak biyofilm oluşumunu engellemek için önemli strateji sunar. Bu amaç doğrultusunda kullanılan başlıca yöntemler aşağıdaki şekilde özetlenmiştir [82]:

- Anti-fouling özellikli kaplamaların uygulanması [83],
- Mikroorganizma tutunmasını azaltan yüzey modifikasyonları [84],
- Cihaz yüzeylerine antimikrobiyal maddelerin entegrasyonu [85], [86],
- Polimer bazlı kaplamaların kullanılması [87],
- Kimyasal gruplarla yüzey mühendisliği yapılması [88], [89], [90],
- Biyomoleküllerin kaplanması, yüzeyle birleştirilmesi ya da immobilize edilmesi [91], [92].

2.9. Nanopartikül Tabanlı Stratejiler

Tıbbi cihazlarda ve biyomalzemelerde, özellikle ilaca dirençli biyofilm tabanlı enfeksiyonların engellenmesinde nanoteknolojiye dayalı stratejilerin önemli potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Literatür araştırmaları sonucunda nanopartiküller ile kaplanmış yüzeylerin biyofilm oluşumunu azaltabileceğini gösteren sınırlı sayıda araştırma mevcuttur.

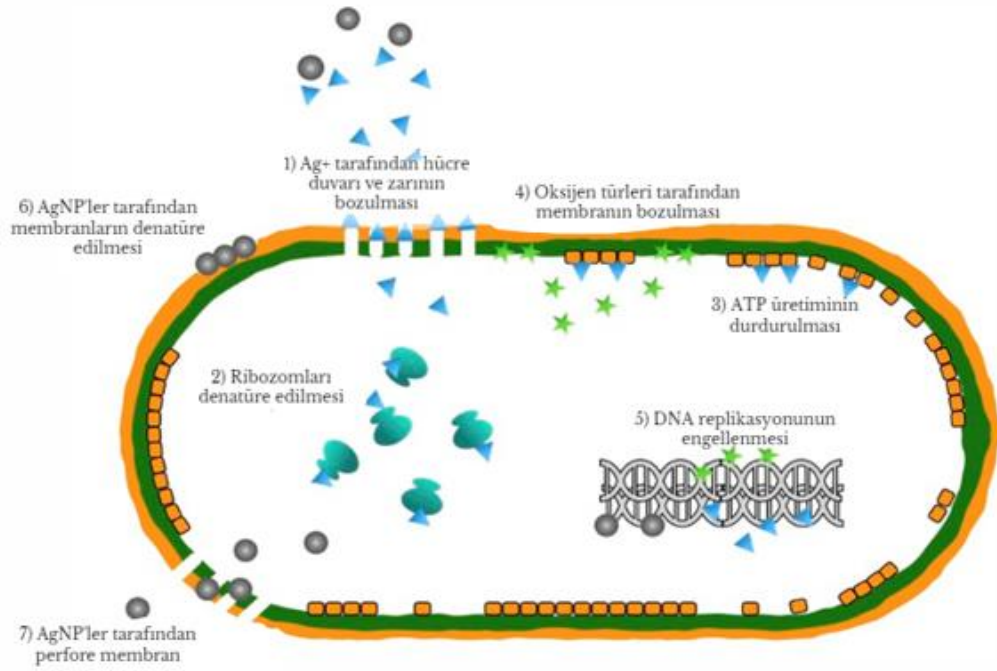
Nanometrik boyutlardaki bu yapılar, ayırt edici fizikokimyasal ve biyolojik özelliklere sahiptir. Örneğin; geniş yüzey alanları, artmış kimyasal reaktivite ve bazı durumlarda yalnızca bu boyut aralığına özgü kuantum etkileri sergileyebilirler. Ayrıca, boyutlarının hücresel yapılara yakın olması, nanopartiküllerin mikroorganizmaların hücre duvarlarına, zar yapılarına ve hatta genetik materyaline geri dönüşü olmayan hasarlar vermesini mümkün kılar. Bunun yanında, nanopartiküller uzun yarılanma ömürlerine sahiptir ve geniş yüzey/hacim oranları hedeflenen bölgede ilaç yüklenmesini ve taşınmasını daha verimli hale getirerek etkinliklerini artırır [81].

2.9.1. Gümüş Nanopartiküllerin Antibakteriyel Etki Mekanizması

Gümüş (Ag) ve gümüş nanopartikülleri (AgNP'ler), çok çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı sergiledikleri antimikrobiyal etkiler nedeniyle dikkat çekmektedir. AgNP'lerden salınan metal iyonlarının (özellikle Ag⁺) antimikrobiyal aktivitede önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Örneğin Ag⁺ iyonlarının yaklaşık 0,05 ppm'lik konsantrasyonlarda bakterisidal etki gösterdiği rapor edilmiştir [93], [94], [95].

Gümüş iyonlarının, bakterilerin hücre zarındaki patojenlerle etkileşime girerek membran bütünlüğünü bozduğunu ve hücre ölümüne yol açtığı literatürde kanıtlanmıştır. Bunun yanı sıra, DNA replikasyon süreçlerini engellediği ve bakterilerde enerji üretiminden sorumlu solunum zincirini de baskıladığı da bilinmektedir. Gümüş iyonları, elektrostatik çekim kuvvetleri ve kükürt içeren proteinlere olan yüksek afiniteleri sayesinde bakteriyel hücre duvarına ve sitoplazmik zar yapısına bağlanabilmektedir. Bu bağlanma, zarın geçirgenliğinde artışa neden olarak hücre zarının bütünlüğünü bozabilir. Hücre içerisine giren serbest gümüş iyonları, solunum enzimlerinin işlevini bozabilir. Bu durum, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu tetiklerken, hücrenin enerji üretiminden sorumlu adenosin trifosfat (ATP) sentezini de aksatabilir [96], [97].

Ortaya çıkan reaktif oksijen türleri, hem hücre zarı üzerinde hasara yol açabilir hem de DNA yapısında yer alan kükürt ve fosfor bileşenleriyle etkileşime girerek, DNA replikasyonunun sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesini engelleyebilir. Bu durum, hücre bölünmesini durdurabilir ve mikrobiyal canlılığın sona ermesine yol açabilir. Buna ek olarak, gümüş iyonlarının sitoplazmada bulunan ribozomlarla etkileşime girerek onları denatüre etmesi, protein sentezinin baskılanmasına neden olur ve bakteriyel metabolizmanın durmasına katkı sağlar [98], [99].



Şekil 2.2 Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) antibakteriyel mekanizması

Gümüş nanopartiküller, yalnızca iyon salarak değil, doğrudan bakterileri hedef alarak da antimikrobiyal etki gösterebilir. Hücre yüzeyine tutunduklarında, bakteri duvarında mikroskobik çöküntüler oluşturarak bu bölgelerde birikebilirler. Bu birikim, hücre zarında yapısal bozulmaya ve denatürasyona yol açabilir. Ayrıca, nanometrik boyutları sayesinde bakteriyel hücre duvarını geçerek zarın bütünlüğünü bozma potansiyeline sahiptirler. Zar yapısının bu şekilde bozulması, hücre içi organellerin dağılmasına ve sonuç olarak hücre lizisine neden olabilir [100]. Ek olarak, gümüş nanopartiküllerin bakterilerdeki sinyal iletim süreçlerini de etkileyebildiği bilinmektedir. Normalde fosforilasyon yoluyla gerçekleşen bu hücreler arası iletişim, nanopartiküllerin peptitlerdeki tirozin kalıntılarını defosforile etmesiyle sekteye uğrayabilir. Bu durum hücrelerin çoğalmasını engelleyerek, apoptozu tetikleyebilir [101].

Gümüş nanopartiküllerin bulundukları ortamda ne ölçüde çözünabildikleri, onların antibakteriyel etkilerini ve bu etkilere aracılık eden mekanizmaları doğrudan etkileyen önemli bir faktördür. Bu çözünme düzeyi hem nanoparçacıkların fizikokimyasal yapısına hem de bulundukları çevresel koşullara bağlıdır. Gümüş iyonlarının serbest kalmasında parçacık boyutu ve şeklinin belirleyici olduğu; bu ilişkinin teorik olarak Ostwald-Freundlich denklemine dayandığını göstermektedir. Küçük boyutlu, özellikle küresel ya da yarı küresel

yapıya sahip nanopartiküller, daha geniş yüzey alanlarına sahip olduklarından iyon salınımını daha fazla gerçekleştirebilmektedir. Bu durum, tekil halde bulunan nanopartiküllerin kümelenmiş olanlara göre daha fazla iyon salınmasıyla açıklanır [102] .

$$\ln\left(\frac{C_r}{C_\infty}\right) = \frac{2\gamma V_m}{rRT} \quad (2.1)$$

C_r : Yarıçapı r olan parçacığın çözünürlüğü

C_∞ : Sonsuz büyük (düz yüzeyli) parçacığın çözünürlüğü

γ : Parçacığın yüzey gerilimi (yüzey enerjisi, $\frac{N}{m}$)

V_m : Parçacığın molar hacmi ($\frac{m^3}{mol}$)

r : Parçacığın yarıçapı

R : Evrensel gaz sabiti ($\frac{8.314 J}{mol.K}$)

T : Mutlak sıcaklık (Kelvin, K)

Gümüş nanopartiküllerin yüzey özelliklerini modifiye etmek amacıyla kullanılan fonksiyonel gruplar veya yüzeye bağlı kaplama ajanları, nanopartiküllerin çözünme kinetiğini ve yüzey etkileşimlerini önemli ölçüde değiştirebilir. Çevresel ortamda yer alan organik ya da inorganik bileşikler, gümüş iyonları ile kompleksler oluşturarak ya da nanopartiküllerle etkileşime girerek çözünme sürecini yavaşlatabilirler. Yapılan çalışmalar, gümüş nanopartiküllerin asidik ortamda nötr çözeltilere kıyasla daha hızlı şekilde iyon salabildiğini ortaya koymuştur [103], [104], [105], [106].

2.9.2. Gümüş Nanopartiküllerin Biyofilm İçerisinde Etkinliği

Literatüre göre Gram negatif bakterilerin, gümüş nanopartiküllerin etkilerine karşı daha duyarlı olduğuilmektedir. Bunun temel nedeni, bu bakterilerin hücre duvarlarının Gram pozitif bakterilere kıyasla daha ince olmasıdır. Gram pozitif bakterilerdeki kalın peptidoglikan tabakası, nanopartiküllerin hücre içine girişini sınırlayabilirken; Gram negatif bakterilerde bu bariyer daha zayıftır. Bu durum, gümüş nanopartiküllerinin mikoorganizma içine alınmasının, etkinlikleri üzerinde belirleyici bir rol oynadığını ortaya koymaktadır [107]. Özellikle 10 nanometreden (nm) daha küçük olan parçacıkların hücre zarına doğrudan etki ederek geçirgenliği arttırabileceği ve hücre içerisine girerek yapısal hasarlara yol açabileceği literatürde kabul görmektedir [106].

Yenidoğanın yaşam fonksiyonlarını desteklemek ve iyileştirmek amacıyla sıcaklık ve nemin sabit sınırlar içerisinde olduğu, kapalı ve kontrollü bakım alanları olan kuvözlerde biyofilm oluşumu oldukça hızlıdır. Biyofilm yapıları, bakterileri yalnızca gümüş iyonlarının etkisinden değil, aynı zamanda nanoparçacıkların etkisinden de koruyabilir. Bunun temel nedeni, biyofilmin gümüş bileşiklerinin taşınmasını engelleyen fiziksel bir bariyer işlevi görmesidir. Literatürde yapılan araştırmalara göre, serbest formdaki plaktonik bakterilerin aynı konsantrasyondaki gümüş nanopartiküllerle tamamen ortadan kaldırılabildiği durumlarda bile, biyofilm içerisinde yer alan bakterilerin tamamının etkisiz hale gelmediğini ortaya konulmuştur. Bu da biyofilmin karmaşık yapısından ötürü gümüş nanoparçacıklara karşı daha dirençli olduğunu göstermektedir [108].

Gümüş nanopartiküllerin biyofilm içerisindeki hareket kabiliyeti, yani difüzyon katsayısı, yoğunlukla parçacıkların boyutuna ve fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Daha yüksek mol kütesine sahip büyük parçacıkların difüzyon katsayısı düşer. Bu da biyofilm tabakası içerisinde ilerlemeleri zorlaştırır. Özellikle 50 nm'den büyük parçacıkların biyofilimde taşınmasını yoğunlukla engelleyebilir. Ayrıca, nanopartiküllerin kimyasal yapısı biyofilm ortamındaki adsorpsiyonlarını arttırarak birikimine neden olabilir ve bu da hareketliliklerini daha da sınırlar. Son olarak, nanoparçacıkların yüzey yükü ile bakteriyel hücrelerin elektrostatik etkileşimi, biyofilm içerisinde geçiş süreçlerini etkileyen bir diğer faktördür [109], [110].

2.9.3. Polimer-Kil Tabanlı Gümüş Nanokompozitlerin Antibakteriyel Etkinliği

Gümüş katkılı polimer-kil nanokompozitlere yönelik çalışmalar son yıllarda literatürde geniş bir yer edinmiştir. Ag^+ iyonlarının bakterisidal etkileri iyi bilinmekle birlikte, kolloidal gümüş nanopartiküllerin (AgNP) antimikrobiyal etkinliği, parçacık boyutuna da bağlıdır. Genellikle, nanoparçacıkların boyutu küçüldükçe antimikrobiyal etkilerinin de arttığı gözlemlenmektedir. Bu nedenle, AgNP sentezinde parçacık boyutunun dikkatli bir şekilde kontrol edilmesi büyük önem taşır. Özellikle küçük boyutlu ve agregasyon eğilimi göstermeyen AgNP'ler, bu tür biyolojik uygulamalarda daha etkili sonuçlar sunmaktadır [111], [112].

Nanoparçacıkların üretimi sırasında uygulanan ısı ve/veya çözücüler, zamanla nanoparçacıkların bir araya gelerek kümelenmesine ve zamanla kararlı mikro yapılar oluşturmaya yol açabilir. Bu durum özellikle nanoparçacık boyutu küçüldükçe daha belirgin hale gelmektedir. Çünkü parçacıkların boyutu ve şekli, antimikrobiyal etki ve biyolojik güvenlik profili üzerinde doğrudan etkilidir. Polimer matris içinde oluşan bu tür

kümelenmeler, genellikle istenmeyen şekilde biyoaktivitenin azalmasına neden olmaktadır [113].

AgNP'lerin sabitlenmesi ve kontrollü kristallenmesi amacıyla, bazı araştırmalar doğal bir smektit kil olan montmorillonit (MMT) maddesini uygun bir destek malzemesi olarak önermektedir [114], [115]. Katmanlı yapıya sahip MMT, polimer esaslı nanokompozitlerin mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. MMT yapısal olarak iki tetrahedral silika tabakanın arasına yerleşmiş tek bir oktahedral alümina tabakasında oluşan 2:1 tipinde bir kil minerali formundadır [116]. MMT, lamelli yapısı sayesinde yaklaşık 1 nm kalındığında katmanlarla ve 100 ila 1000 nm arasında değişen yanıl boyutlara sahiptir [117]. Bu yapı, MMT'ye ara katmanlama, şişme ve iyon değişimi gibi karakteristik özellikler kazandırmaktadır [118].

Katmanlar arasındaki zayıf Van Der Waals etkileşimleri ile MMT, kolaylıkla ince tabakalara ayrılabilir. MMT'nin ara katman boşlukları hem malzeme hem de biyomalzeme alanlarında nanoparçacıkların sentezinde kullanılmakta; ayrıca geçiş metali komplekslerinin sabitlenmesinde destek yapısı ve katyonik iyonların tutulmasında etkili bir adsorban olarak değerlendirilmektedir [119], [120].

Salem et al. [121] yayınlamış olduğu çalışmada, karboksimetil selüloz (CMC) temelli ve gümüş nanoparçacıklar (AgNP) içeren bir nanokompozit sentezlenmiş ve bu yapının antibakteriyel, antifungal ve antikanser özellikleri kapsamlı bir biçimde değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, CMC-AgNP yapısının hem Gram negatif bakterilere (*Klebsiella oxytoca*, *E. coli*) hem de Gram pozitif türlerle (*Bacillus cereus*, *S. aureus*) karşı belirgin antibakteriyel etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca bu nanokompozit yapı, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger* ve *A. terreus* gibi ipliksi mantar türlerine karşı da antifungal aktivite sergilemiştir.

Hwang et al. [122] tarafından yürütölen çalışmada, poli (akrilonitril), montmorillonit (MMT) ve gümüş içeren nanokompozitlerin sentezlendiğı ve bu yapıların Gram pozitif *S. aureus*, Gram negatif *E. coli* ve *K. pneumonia* gibi bakterilerin çoğalmasını baskıladığı tespit edilmiştir.

Yeum et al. [123] tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, farklı miktarlarda gümüş içeren poli (vinil alkol)/MMT/gümüş temelli nanokompozitler sentezlenmiş ve bu materyallerin *S. aureus* ile *E. coli* bakterilerine karşı etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, nanokompozitlerin antibakteriyel etkisinin gümüş içeriğine bağılı olarak değiştiğini göstermiştir. Nanolif yapılar içerisinde yer alan gümüş nanoparçacıkların oranı arttıkça, oldukça düşük düzey gümüş içerek örneklerde dahi, ortama eklenen bakterilerin büyük

çoğunluğunun yaklaşık bir hafta içerisinde etkisiz hale geldiği rapor edilmiştir. Bu bulgular, PVP/MMT/Ag esaslı nanoliflerin belirgin bir antibakteriyel etki gösterdiğini işaret etmektedir.

Prema et al. [124] tarafından CMC ile stabilize edilen gümüş nanopartiküllerin hem Gram negatif hem de Gram pozitif özellikteki seçilmiş bazı insan patojenlerine karşı bakterisidal özellik sergilediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bakterilerin bu nanopartiküllere karşı gösterdiği hassasiyetin, kullanılan bakteri suşlarına göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca CMC ile kaplanmış gümüş nanopartiküllerle yapılan deneysel çalışmalar sonucunda düşük konstrasyonlarda *E. coli* üzerinde hem bakteriyostatik hem de bakterisidal etki oluştuğunu ortaya koymuştur. Ayrıca elde edilen bulgular bu nanopartiküllerin yalnızca *E. coli*'ye değil aynı zamanda hem Gram negatif hem de Gram pozitif diğer bakteri türlerine karşı da etkili bir antimikrobiyal ajan potansiyeli taşıdığını göstermektedir.

Pedroza-Toscano et al. [125] yaptıkları çalışmada ise agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak CMC ile stabilize edilmiş AgNP'lerin *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiğini raporlamışlardır. Benzer şekilde, Alahmadi et al. [126] tarafından yürütülen bir başka çalışmada ise Gümüş/selüloz esaslı nanokompozitlerin, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarına karşı belirgin antibakteriyel aktivite sergilediği bildirilmiştir.

2.10. Görünür Işıkla Aktive Olan Antibakteriyel Gümüş Nanokompozit Kaplamalar

Metalik yüzeylerde bulunan serbest elektronların elektromanyetik dalgalarla etkileşime girmesi sonucunda meydana gelen toplu titreşimlere yüzey plazmonları denmektedir. Metal nanopartiküllerin yüzeylerindeki elektronlar, kendi boyutlarından daha büyük dalga boylarına sahip elektromanyetik ışınlama ile karşılaştıklarında, bu dış etkiye tepki olarak titreşim hareketi sergilerler. Bu titreşimler sonucunda, nanoparçacıkların çevresinde lokalize bir elektromanyetik alan oluşur. Eğer gelen elektromanyetik dalgaların salınımı ile parçacık yüzeyindeki bu elektron titreşimleri uyumlu bir frekansta buluşuyorsa, bu durumda lokalize yüzey plazmon rezonansı (LSPR) olarak adlandırılan rezonans olayı ortaya çıkar. Bu rezonans, özellikle metal nanopartiküllerin optik özelliklerinin belirleyen temel mekanizmalardan biri olarak kabul edilir. Bu etki sayesinde metal nanopartiküllerin yüzeylerinde oluşan elektrik alan, dışarıdan uygulanan elektrik alanın şiddetinden daha yüksek değerlere ulaşabilir. Bu durum nanopartiküllerin optik sönmüleme ve saçılma özelliklerini göstermesine neden olur. Plazmonik etki, rezonans frekansına ulaşıldığında en

yüksek düzeyde gözlenir ve bu sinyal, belirli dalga boylarında arka plan sinyalinden net bir şekilde ayırt edilir [127].

Gümüş nanopartiküller, yaklaşık 400-425 nm dalga boyu aralığında gözlenen LSPR etkisi sayesinde görünür ışığı etkin bir biçimde absorbe etmektedir. Bu özelliğin öne çıkan bir avantajı ise, fotokatalitik amaçla kullanılan bu nanopartiküllerin yalnızca dar bir dalga boyu aralığında değil, geniş spektrumlu ışık absorpsiyon kapasitesine sahip olmalarıdır. Literatürde yer alan çeşitli çalışmalar, soy metal nanoparçacıkların ışık ile etkileşimlerinin - yani absorpsiyon, saçılma ve sönmüleme özelliklerinin- büyük bir ölçüde parçacıkların boyutu, şekli ve birbirleriyle olan etkileşimlerine bağlı olduğunu ortaya koymaktadır [128], [129], [130].

Literatürde görünür ışık ile aktive olan gümüş nanokompozit kapamalara yönelik çalışmalar artış göstermeye başlamakla birlikte, halen ilgi duyulan bir araştırma konusudur. Bunyatova et al. [127] yapmış olduğu çalışmada dekstran, reaktif kopolimer ve gümüş nanopartiküllerden oluşan bir nanokompozit sistemin, görünür ışık (wLED) kullanılarak sentezlenmesiyle, potansiyel olarak enjekte edilebilir ve zararsız bir plazma ikamesi nanoformülasyon (D@AgNO) geliştirilmiştir. Bu yaklaşım özellikle güçlü bir antitümör aktiviteye sahip karbonhidrat temelli nano ürünlerin üretiminde yeni bir yöntem sunmaktadır. Görünür ışık uyarımı sırasında, polisakkarit ve kopolimer yapılar arasında çapraz bağlanma meydana gelmekte; bu süreç sonucunda fonksiyonel gümüş nanopartiküllerin oluşumu ve stabilizasyonu sağlanmaktadır.

Yine Bunyatova et al. [131] yapmış olduğu başka bir çalışmada görünür ışık fotonlarının gümüş nanopartiküllerin fotoredüksiyonu üzerindeki etkisini incelemek, optoelektronik geri bildirimi tespit etmek ve antimikrobiyal aktiveyi gözlemlemek amacıyla bir optoelektronik cihaz kullanılarak farklı dalga boylarına sahip LED ışınlarıyla gümüş nanopartikül sentezlenmiştir. Antimikrobiyal aktivitelerin incelenmesi sonucunda mavi LED ışık altında üretilen en küçük (4-6 nm) nanopartiküllerin en güçlü antibakteriyel etkiyi gösterdiği bildirilmiştir. Kırmızı LED'in ise en etkili antifungal nanopartiküllerin oluşumunu sağladığı belirlenmiştir.

2.10.1. Tıbbi Cihazlarda Uygulanabilirlik

Bu tez çalışmasında, 450 nm dalga boyuna sahip mavi LED ışık kaynağı kullanılarak üç farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplama türü üzerinde incelemeler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada değerlendirilen kaplama tipleri sırasıyla; AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT, AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA ve AgNP taşıyıcılı

CMC/MA/ODA-MMT nanokompozit sistemleridir.

- Poly(N-vinil-pirolidon) (PVP), film ve lif oluşturma yeteneği, çok çeşitli yüzeylere yapışabilme özelliği ve biyouyumluluğu gibi üstün özelliklere sahiptir. Bu polimerin yapısında bulunan pirolidon reaktif grupları, çapraz bağlı ağ yapıları içeren kompozitlerin oluşturulmasına olanak tanır ve pek çok inorganik tuz, doğal ya da sentetik fonksiyonel polimer ve biyomakromoleküllerle kolaylıkla kompleksler meydana getirebilir. PVP bazlı kaplama ve filmler, optik açıdan yüksek şeffaflık ve iyi mekanik dayanıklılık sergilemektedir [132].
- Karboksimetil selüloz (CMC), karboksil ve hidroksil fonksiyonel grupları içeren selüloz temelli bir polielektrolittir. Bu anyonik polimer, alkali selülozun sodyum monokloroasetat ile etkileşime girmesi sonucu elde edilen karboksimetil eter yapısına sahiptir. Yapısında bulunan anhidroglukopiranoz halkaları, 1,4-glikozidik bağlarla birbirine bağlanarak polimer yapısını oluşturur. Polar yapılı karboksil gruplarının varlığı sayesinde CMC; suda çözünen, toksik olmayan ve tat içermeyen yapıya sahiptir. Yüksek kimyasal reaktivite gösterir. Bu özellikleri nedeniyle CMC, insan vücuduyla temas eden ya da vücuda yerleştirilen çeşitli biyomalzemelerde ve farmasötik formülasyonlarda sıklıkla tercih edilmektedir [133].
- Montmorillonit (MMT) kili ve organik türevleri, farklı alanlarda geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir. Bu kil, antibakteriyel özelliklerinden dolayı ve bazı kanser önleyici ajanların taşıyıcısı olarak değerlendirilmekte; ilaç ve gen taşıma sistemlerinde hedefleme aracı olarak da görev almaktadır. MTT özellikle doku mühendisliğinde ilaç hedeflemesi uygulamalarında da kullanılmaktadır. Ağır metaller, toksik bileşikler ve tehlikeli kimyasalları absorplama kapasitesi ile çevresel uygulamalarda da etkin bir materyal olduğu kanıtlanmıştır. Yüksek iyon değişim kapasitesi, geniş yüzey alanı, yüksek absorpsiyon yeteneği, pozitif yüzey yükü, kimyasal durağanlığı ve düşük toksisitesi sayesinde metal iyonları ile kullanıldığında antibakteriyel etkinliği büyük ölçüde artmaktadır [134].
- Oktadesilamin (ODA), uzun karbon zincirine sahip alkil yapısı ve aktif amin grubu sayesinde düşük yüzey enerjisi gösteren bir bileşiktir. Son yıllardan yapılan literatür araştırmaları sonucunda ODA'nın selüloz ve türevleri ile

etkileşimi sonucu biyopolimerlerin yüzey özelliklerinin belirgin bir şekilde değiştiği gösterilmiştir [135]. İçerdiği amin grubu sayesinde sodyum montmorillonit (Na^+ -MMT) tabakaları arasına nüfuz edebilmekte ve katyon değişim mekanizmasıyla kil yapısını modifiye etmektedir. Bu süreç sonucunda organik özellikler kazandırılmış bir yapı olan Oktadesilamin-Montmorillonit (ODA-MMT) oluşmaktadır [136].

- Gümüş, antimikrobiyal etkisinden yararlanmak amacıyla yaygın olarak gümüş nitrat (AgNO_3) formunda kullanılmaktadır. Ancak, serbest haldeki gümüşe kıyasla gümüş nanopartiküller daha geniş yüzey alanına sahip olmaları sayesinde mikroorganizmalarla temas düzeyini artırarak daha etkin bir antimikrobiyal etki sunmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle, gümüş nanopartiküller son yıllarda pek çok araştırmacının dikkatini çeken bir alan haline gelmiştir. Özellikle farklı mikroorganizmalara karşı gösterdikleri yüksek etkinlik ve yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı gelişen direnç problemlerine alternatif oluşturmaları ilgiyi üzerine çekmiştir [137].
- Poli (akrilik ait-ko-maleik-asit) kopolimeri, dikarboksilik yapısı sayesinde hem homo hem de heteropolimer sentezinde temel yapı taşlarından biri olarak kullanılır. Molekülün yan zincirinde bulunan karboksik grupları, polimerin hidrofobik karakterini değiştirerek geniş bir yelpazede fonksiyonel polimerlerin gelişmesine olanak tanır. Malik asidin bütan-1,4-diol ve gliserol ile oluşturduğu kopolimer yapılar, enterik kaplama malzemesi olarak potansiyel göstermektedir. Malik asidin homopolimerleri, özellikle poli (α , β -malik asit), doğrudan polikondenzasyon yöntemleriyle sentezlenebilmekte ve bu yapılar yüksek oranda suda çözünürlük, biyoyumluluk ve biyo-bozunurluk gibi önemli özellikler sergilemektedir [138].

2.11. Gümüş Nanopartiküllerin MTT Yöntemi ile Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi, hücre canlılığının değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan kalorimetrik bir sitotoksite analiz yöntemidir. Bu yöntemde, canlı hücreler tarafından internalize edilen MTT adlı tetrazolyum tuzu, mitokondriyal enzimatik aktiviteler aracılığıyla çözünmeyen, renkli bir formazan kristaline indirgenir. Oluşan formazan miktarı, hücre metabolik aktivitesini yansıttığından, spektrofotometrik ölçümle elde edilen absorbans değeri, canlı hücre sayısı

doğru orantılıdır. Bu özellik sayesinde MTT testi, biyomalzeme ve yüzey kaplamalarının hücreler üzerindeki toksik etkilerinin nicel olarak değerlendirilmesinde güvenilir bir yöntem sunar [139].

Bu tez çalışmasında, geliştirilen görünür ışığa duyarlı antibakteriyel kaplamaların insan deri keratinosit hücre hattı (HaCaT) üzerindeki sitotoksik etkileri, MTT testi ile değerlendirilmiştir. Literatürde benzer şekilde, Zanette et al. [140] tarafından yapılan çalışmada, AgNP'lerin HaCaT hücrelerinin farklı konsantrasyonlardaki AgNP'lere maruz bırakılması sonucunda hücre poliferasyonunun baskılandığı, hücre döngüsünün duraksadığı ve rejeneratif kapasitelerinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca bu etkinin maruziyet sonlandıktan sonra da uzun süreli devam ettiği raporlanmıştır. Bu kapsamda AgNP'lerin yalnızca antimikrobiyal değil, aynı zamanda potansiyel hücresel toksisiteye neden olabileceği anlaşılmaktadır. Bu yüzden özellikle deriyle temas edecek yüzeylerde AgNP'lerin kullanımı söz konusu olduğunda kapsamlı biyouyumluluk değerlendirmelerinin yapılması kritik öneme sahiptir.

2.12. Canlı / Ölü Boyama Yöntemi ile Bakteriyel Canlılık Analizi

Bakteriyel hücre ölümü, geleneksel olarak, hücrelerin besiyerlerinde koloni oluşturmaması şeklinde tanımlanmıştır. Ancak bu yaklaşım, bakterinin canlı olup olmadığını yalnızca retrospektif olarak değerlendirilebildiğinden, sayılı bilgi sunmaktadır [141]. Özellikle hücre hasarı gibi ara evrelerin tespitini kaplama yöntemi ile tespit etmek çok zordur. Buna karşılık, günümüzde hücre kültürüne gerek kalmadan, tek hücre düzeyinde canlılık durumu hakkında bilgi veren çeşitli biyobelirteçler vardır. Bu biyobelirteçler genellikle floresan özellikli moleküllere dayanır ve epifloresan mikroskopi, katı faz sitometrisi veya akış sitometrisi gibi tekniklerle saptanır. Her bir floresan belirteç, hücrenin bütünlüğü veya metabolik etkinliği gibi farklı yaşamsal fonksiyonları temsil eder. Son 20 yıl içerisinde çok parametrelili akış sitometrisi, hızlı sonuç vermesi ve hücreleri bireysel düzeyde analiz etme kapasitesi sayesinde, özellikle biyoteknolojik üretim, gıda güvenliği ve dezenfeksiyon süreçlerinde mikrobiyolojik araştırmalarda önemli bir yöntem haline gelmiştir [142].

Bu tez kapsamında ticari olarak temin edilen BacLight Live/Dead Bacterial Viability Kit (Invitrogen) kullanılmıştır. Kullanılan kit, nükleik asitleri hedefleyen iki farklı floresan boya içerir: SYTO 9 ve propidyum iyodür (PI). SYTO 9, yeşil floresan özelliğine sahiptir ve hücre zarından geçerek tüm bakteriyel hücrelerin boyanmasını sağlar. Buna karşılık PI yalnızca zar bütünlüğü bozulmuş hücrelere girebilir ve DNA'ya bağlanarak kırmızı floresan

yayar. Bu iki boyanın bir arada kullanılması durumunda, floresan emisyonları birbirlerini tetikler; PI'nın DNA'ya daha güçlü bağlanması nedeniyle SYTO 9'un sinyalleri baskılanabilir. Ayrıca floresan rezonans enerji transferi (FRET) etkisi de bu sinyal değişimlerinde rol oynar ve böylece canlı-ölü hücre ayrımı net bir şekilde yapılabilir [143].

Tablo 2.3 Invitrogen LIVE/DEAD BacLight Bakteriyel Canlılık Kiti spektral bilgi ve saklama koşulları

	<i>SYTO 9</i>	<i>Propidium iyodür (PI)</i>
<i>Uyarım/emisyon</i>	480/500 nm	490/635 nm
<i>Standart filtre seti</i>	Floresan yeşili	Floresan kırmızısı
<i>Saklama koşulları</i>	≤- 20 °C, ışıktan koruyun	≤- 20 °C, ışıktan koruyun

3. MATERYAL METHOD

Tez çalışmasının bu bölümünde, tüm çalışmanın yürütülmesinde kullanılan kimyasal bileşenler, yüzey kaplama işlemleri, hücre kültürü uygulamaları ve antibakteriyel etkinlik testleri sistematik bir biçimde sunulmuştur.

3.1. Deneysel Çalışmalar

3.1.1. Kullanılan Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan tüm kimyasallar analitik saflık derecesinde olup, ek bir saflaştırma işlemi yapılmadan doğrudan kullanılmıştır. Tüm kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiş olup, çözücü olarak saf su kullanılmıştır

- Sodyum karboksimetil selüloz (CMC): ortalama molekül ağırlığı (Mw) ~90.000 olan CMC, deney süresince viskozite arttırıcı ve matris oluşturucu biyopolimer olarak kullanılmıştır.
- ODA-MMT Nanokil: Yüzeyi %0,5-5 oranında aminopropiltrietoksi silan ve %15-35 oranında oktadesil amin ile modifiye edilmiş olan bu nanokil, çalışmada ODA-MMT olarak anılacaktır.
- Poli (akrilik ait-ko-maleik-asit) kopolimeri: Mw~3.000 olan, sulu çözeltide %50 (ağırlıkça) oranında bulunan bu madde, dispersiyon kararlılığını sağlamak amacıyla kullanılmış ve çalışmada ‘kopolimer’ olarak ifade edilmiştir. Çalışmada MA olarak anılacaktır.
- Poly(N-vinil pirolidon) (PVP): Ortalama Mw 10.000 olan metal nanopartüküllerin sentezinde, aglomerasyonu önlemek için destek oluşturucu ajan olarak kullanılmıştır. Çalışmada PVP olarak anılacaktır.
- Gümüş nitrat (AgNO_3): %99.995 saflıkta, 202 ° C erime sıcaklığı ve 4,35 g/cm^{-3} yoğunluğa sahip olan AgNO_3 antimikrobiyal ajan olarak seçilmiştir.

Hücre kültürü çalışmaları için HaCaT (immortalize insan keratinosit) hücre hattı (ATCC American Type Culture, Collection, Rockville, Md.) tercih edilmiş olup, hücreler Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden temin edilmiştir.

Çalışmada antibakteriyel etkinliğin değerlendirilmesi amacıyla üç farklı Gram pozitif bakteri suşu kullanılmıştır: *S. aureus* (ATCC 29213), *S. epidermis* (ATCC 12228) ve *E. faecalis* (ATCC 29212). Tüm bakteriler Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı’ndan temin edilmiştir.

Çalışmada bakteri hücrelerinin canlılık durumlarının belirlenmesi amacıyla ThermoFisher firmasından temin edilen L7007 katalog numaralı LIVE/DEAD BacLight Bakteriyel Canlılık Kiti kullanılmıştır.

Kaplamaların uygulanacağı yüzeyler, her biri $1,5 \times 1,5$ ölçülerinde, 5 mm kalınlığında ve kuvöz kanopilerinde standart olarak kullanılan PMMA levhalar şeklinde belirlenmiştir. Bu yüzeyler, Novos Tıbbi Cihazlar firması tarafından temin edilmiştir.

3.1.2. Örneklerin Hazırlık Aşaması

- Polimer Matrisin Hazırlanması (CMC/ODA-MMT): %10 oranında, 5g CMC içeren beherglas içerisine yavaş yavaş saf su eklenmiş ve toplam hacmin 50 ml'ye tamamlanması sağlanmıştır. Karışımın homojen bir yapıya ulaşması için manyetik karıştırıcı kullanılmış ve homojen bir karışım elde edildikten sonra %4 oranında ODA-MMT ilave edilerek tekrar homojen bir çözelti elde edilmesi için karıştırılmaya devam edilmiştir.
- Poli (akrilik ait-ko-maleik-asit) Kopolimerin Hazırlanması (Bundan sonra MA olarak anılacaktır.): 0,8 ml %50 MA çözeltisine, 1,2 ml distile su eklenerek toplamda 2 ml hacminde %20'lik MA çözeltisi elde edilmiştir.
- Poly(N-vinil pirolidon) (PVP) Hazırlanması: %39 oranında PVP çözeltisi elde etmek için ayrı bir kap içerisine 5,42 g PVP tartılarak konulmuştur. Üzerine yavaş yavaş saf su eklenmiş ve toplam çözelti hacmi 13,9 g'a ulaşmıştır. Elde edilen karışım homojen bir çözelti oluşturana kadar manyetik karıştırıcı içerisinde sürekli karıştırılmıştır.

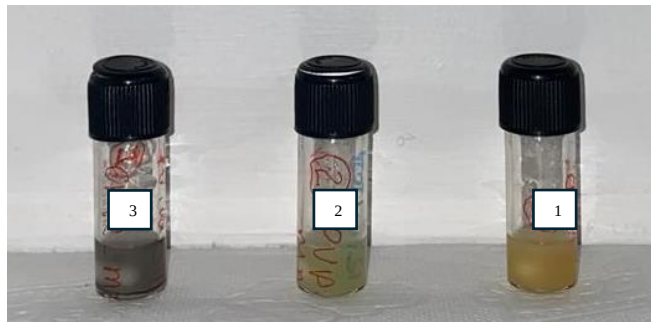
3.1.3. Sentez Metodolojisi

Sentez aşamasında kullanılacak olan tüm deney tüpleri ve substrat olarak seçilen PMMA yüzeyler deneysel güvenilirliği sağlamak amacıyla standart bir temizlik protokolüne tabi tutulmuştur.

Her bir örnek için 12 adet PMMA yüzeyi kullanılmış olup, üç farklı örnek grubuna ait çalışmalar için toplamda 36 adet PMMA yüzeyi hazırlanmıştır. Deneylerde kullanılan tüm deney tüpleri ve PMMA yüzeyler toplamda üç aşamalı standart bir temizlik prosedürüne tabi tutulmuştur. Bu işlem için tüm malzemeler geniş hacimli bir kap içerisine yerleştirilmiş, üzerlerine tüm malzemeleri kaplayacak şekilde saf alkol eklenerek 10 dakika boyunca bekletilmiştir ve saf su ile durulanmıştır. Sonrasında 20° C'lik sabit sıcaklığa ayarlanmış etüv içerisinde kurumaya bırakılmıştır.

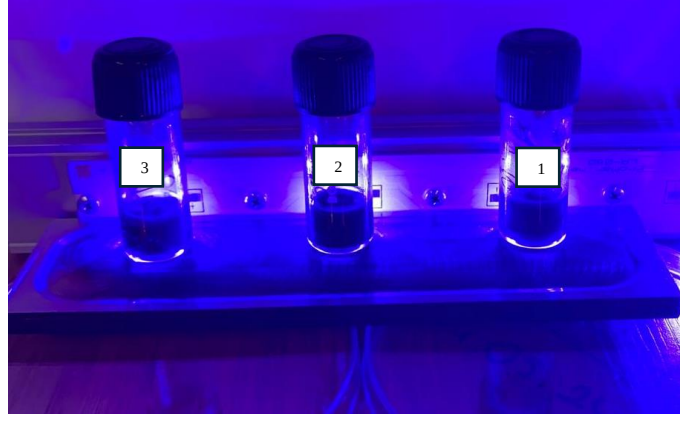
Deneyisel tasarımıda değişkenliğin yalnızca gümüş nanopartikül taşıyıcılı polimer matris kaynaklı olmasını sağlamak amacıyla, sentezlenen tüm örneklerde kullanılan gümüş nitrat (AgNO_3) miktarı sabit tutulmuş ve her bir örnekte eşit miktarda (3 mg) kullanılmıştır. Ayrıca sentezlenen tüm örneklerin toplam hacmi 1 ml olarak belirlenmiştir. 0,8 ml ve 0,2 ml oranında tüm çözeltiler karıştırılmıştır.

- Örnek 1'in Sentezlenmesi (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT): 3mg gümüş nitrat (AgNO_3) hassas tartıda tartılarak 'Örnek 1' olarak isimlendirilen deney tüpüne aktarılmıştır. Üzerine %39'luk konsantrasyona sahip 1 ml Poly(N-vinil pirolidon)/ODA-MMT (PVP/ODA-MMT) çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır.
- Örnek 2'in Sentezlenmesi (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA): 3 mg gümüş nitrat (AgNO_3) hassas tartıda tartılarak 'Örnek 2' olarak isimlendirilen deney tüpüne aktarılmıştır. Üzerine %39'luk konsantrasyona sahip 0,8 ml Poly(N-vinil pirolidon)/ODA-MMT (PVP/ODA-MMT) çözeltisi ve %20'lik konsantrasyona sahip 0,2 ml MA ilave edilmiştir. Karışım, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır.
- Örnek 3'ün Sentezlenmesi (AgNP Taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT): 3mg gümüş nitrat (AgNO_3) hassas tartıda tartılarak 'Örnek 3' olarak isimlendirilen deney tüpüne aktarılmıştır. Üzerine 0,8 ml CMC/ODA-MMT polimer matris eklenmiş ve %20'lik konsantrasyona sahip 0,2 ml MA ilave edilmiştir. Karışım, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır.

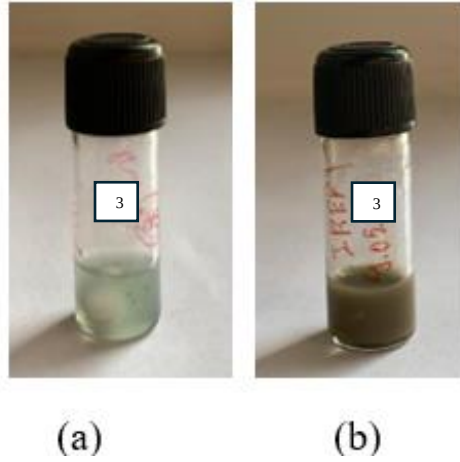


Şekil 3.1 LED ışınlama öncesinde kolloid formdaki örnekler, sırasıyla Örnek 3 (AgNO_3 katkı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNO_3 katkı PVP/ODA-MMT/MA) ve Örnek 1 (AgNO_3 katkı PVP/ODA-MMT)

Her bir örnek, AgNP sentezini gerçekleştirmek amacıyla yaklaşık 2 saat boyunca 450 nm dalga boyuna sahip mavi LED ışığı altında ışınlanmıştır. Işınlama sürecinin sonunda tüm örnekler karakteristik olarak koyu kahverengi bir renk almıştır. Bu renk değişimi, AgNP oluşumunun görsel bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.2 LED ışınlama sırasında, gümüş iyonlarının AgNP'lere dönüşmesi, sırasıyla Örnek 3 (AgNO_3 katkılı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNO_3 katkılı PVP/ODA-MMT/MA) ve Örnek 1 (AgNO_3 katkılı PVP/ODA-MMT)



Şekil 3.3 Örnek 3; Mavi LED ile ışınlanmadan önce (a) (AgNO_3 katkılı CMC/MA/ODA-MMT), mavi LED ile ışınlandıktan sonra (b) (AgNP Taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT)

3.1.4. Örneklerin Dilüsyon ve Konsantrasyon Hesaplamaları

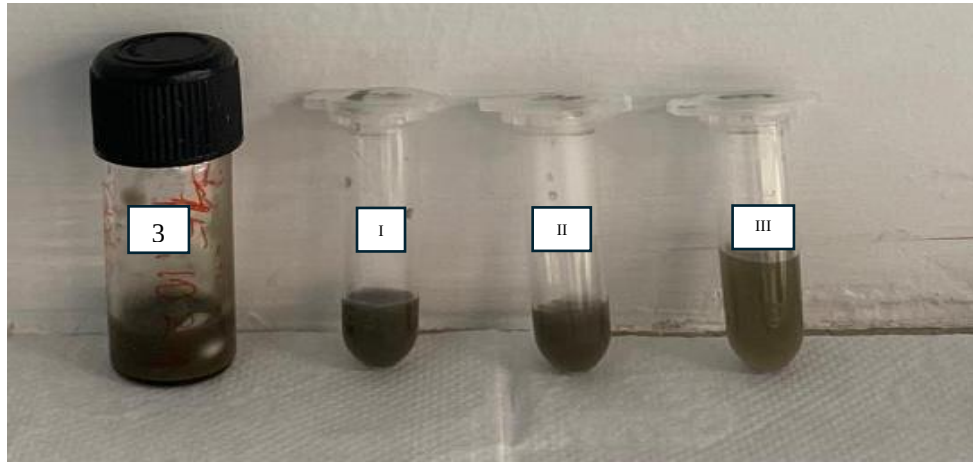
Seri dilüsyon yöntemi kullanılarak farklı konsantrasyonlarda AgNP içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Tüm örneklerin başlangıç konsantrasyonu %100 olarak kabul edilmiştir. Örnek 1, Örnek 2 ve Örnek 3 stok çözeltiler olarak tanımlanmış olup, her biri 1 ml hacimde ve 3 mg AgNP içermektedir.

Her stok çözeltiden 0,5 ml alınarak I numaralı tüplere aktarılmış ve üzerine 0,5 ml distile su eklenmiştir. Böylece I numaralı tüplerin toplam hacmi 1 mL AgNO_3 konsantrasyonu 1,5 mg/ml (%50) ve toplam AgNP miktarı 1,5 mg olmuştur.

I numaralı tüplerden 0,5 ml alınarak II numaralı tüplere aktarılmış, üzerine 0,5 ml distile su eklenerek seyreltme yapılmıştır. Bu işlem sonucunda II numaralı tüplerin konsantrasyonu 0,75 mg/ml (%25)'ye düşmüş ve toplam AgNP miktarı 0,75 mg/ml olmuştur.

Aynı şekilde, II numaralı tüplerden 0,5 ml alınarak III numaralı tüplere aktarılmış ve 0,5 ml distile su eklenmiştir. Bu son seyreltme ile konsantrasyon 0,375 mg/ml (%12,5) ve toplam AgNP miktarı 0,375 mg/ml olmuştur.

Tüm dilüsyon adımlarında nihai hacim 1 ml olarak korunmuştur.



Şekil 3.4 Örnek 3'ün (AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT) dilüsyon (seyretme) işlemi

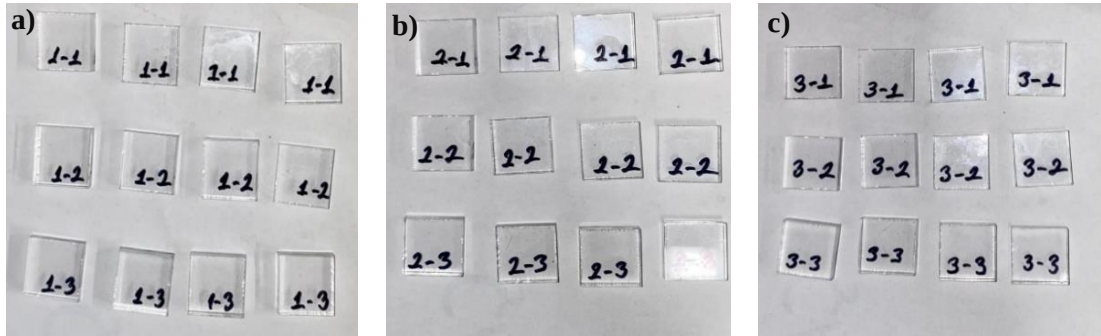
Tablo 3.1 AgNO_3 Konsantrasyonları ve Hacimsel Hesaplama

Tüp No	Kaynak Tüp	Aktarılan Hacim (mL)	Eklenen Saf Su (mL)	Toplam Hacim (mL)	AgNP Konsantrasyon (mg/mL)	Konsantrasyon (%)
I	Stok	0,5	0,5	1	1,5	50
II	I	0,5	0,5	1	0,75	25
III	II	0,5	0,5	1	0,35	12,5

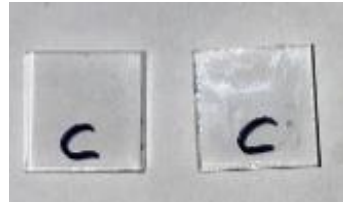
3.1.5. Kaplama Metodolojisi

Geliştirilen görünür ışığa duyarlı AgNP taşıyıcılı nanokompozit çözeltiler, 1,5 x 1,5 cm boyutlarındaki PMMA yüzeyler üzerine *drop-casting* yöntemi kullanılarak kaplanmıştır. PMMA örneklerinin arka yüzeyleri, izlenebilirliğin sağlanması amacıyla, ilk hane örnek

numarasını ve ikinci hane kullanılan konsantrasyon miktarını temsil edecek şekilde iki haneli sistem kullanılarak numaralandırılmıştır. PMMA yüzeylere herhangi bir kaplama uygulanmadan hazırlanan PMMA'lar kontrol grubu olarak tanımlanmıştır.



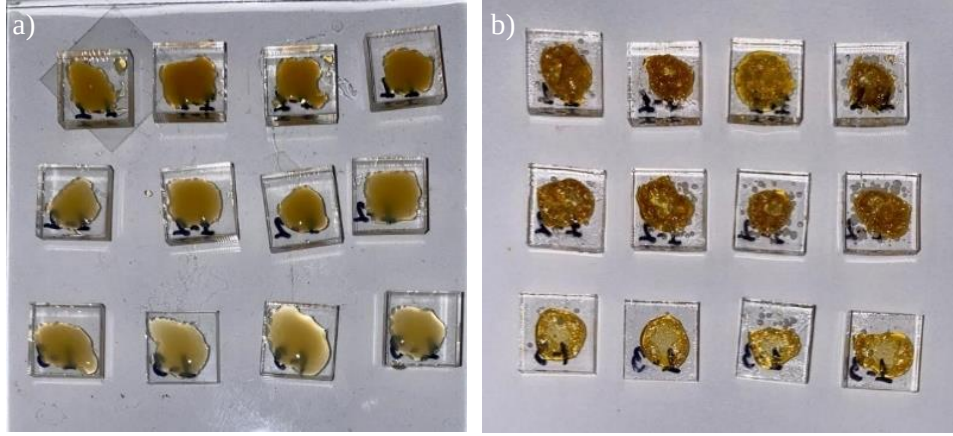
Şekil 3.5 MMA numuneleri, sırasıyla a)AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT, b) PVP/ODA-MMT/MA ve CMC/ODA-MMT/MA şeklinde kodlanmış olup AgNP konsantrasyonları sırasıyla (1,5 mg/ml AgNP,075 mg/ml AgNP ve 0,375 mg/ml AgNP'dir.



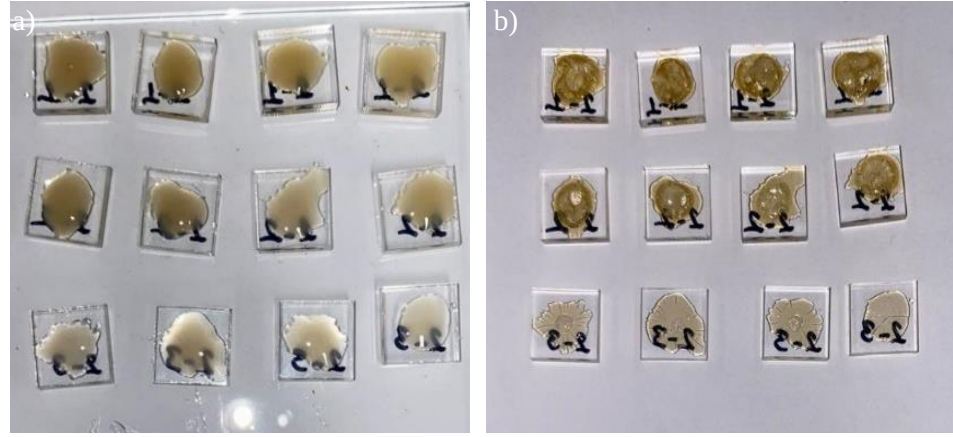
Şekil 3.6 Kontrol grubu

Her bir numune için hazırlanan çözeltiden 200 µl hacminde örnek, mikropipet yardımıyla alınarak PMMA yüzeylerin tamamına eşit şekilde uygulanmıştır. Damlatma işleminin ardından, yüzeyler 200 °C'ye ayarlanmış etüvde yaklaşık 4 saat boyunca bekletilmiştir. Bu süreç, çözeltinin PMMA yüzeyleriyle bütünleşmesini ve AgNP'lerin yüzeye sabitlenmesini sağlayarak hidrofobik bir kaplama elde edilmesini mümkün kılmıştır.

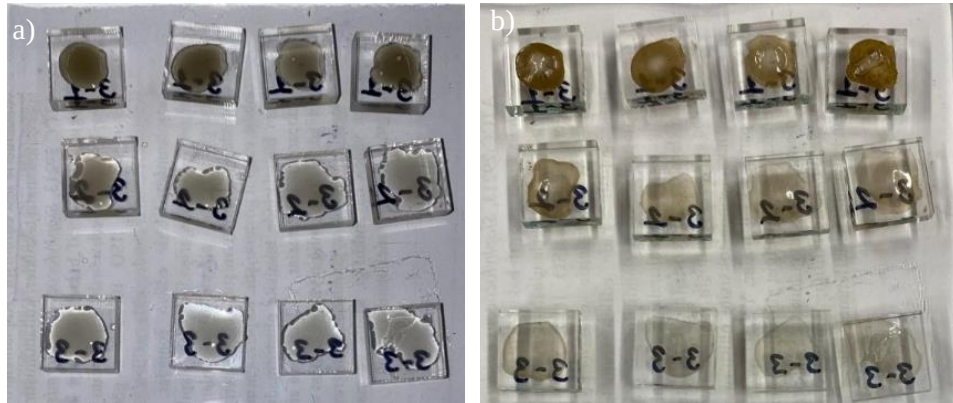
Her bir örnek seti, yüzey bütünlüğü ve kaplama homojenliğini korumak amacıyla, birbirinden bağımsız olarak termal olarak kürlenmiştir. Kontrol grubu örnekleri de 200 °C'ye ayarlanmış etüvde yaklaşık 4 saat bekletilmiştir. Bu kapsamda sıcaklık etkisinin bağımsız değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Kaplanan yüzeylerde bulunan polimer kalıntıları pens yardımıyla dikkatlice uzaklaştırılmış olup, gerçekleştirilen tüm analizler yalnızca kaplanan şeffaf yüzeye ait özellikler üzerinden değerlendirilmiştir.



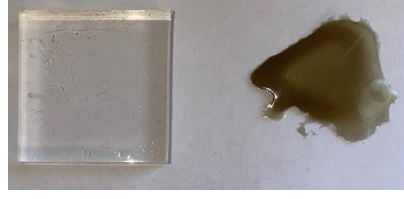
Şekil 3.7 Örnek 3'e ait 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP içeren AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT nanokompozit kaplamaların PMMA yüzeylerinde oluşturduğu kalıntı yapılarının etüv işlemi öncesi (a) ve sonrası (b) görüntüleri.



Şekil 3.8 Örnek 2'ye ait 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP içeren AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA nanokompozit kaplamaların PMMA yüzeylerinde oluşturduğu kalıntı yapılarının etüv işlemi öncesi (a) ve sonrası (b) görüntüleri.

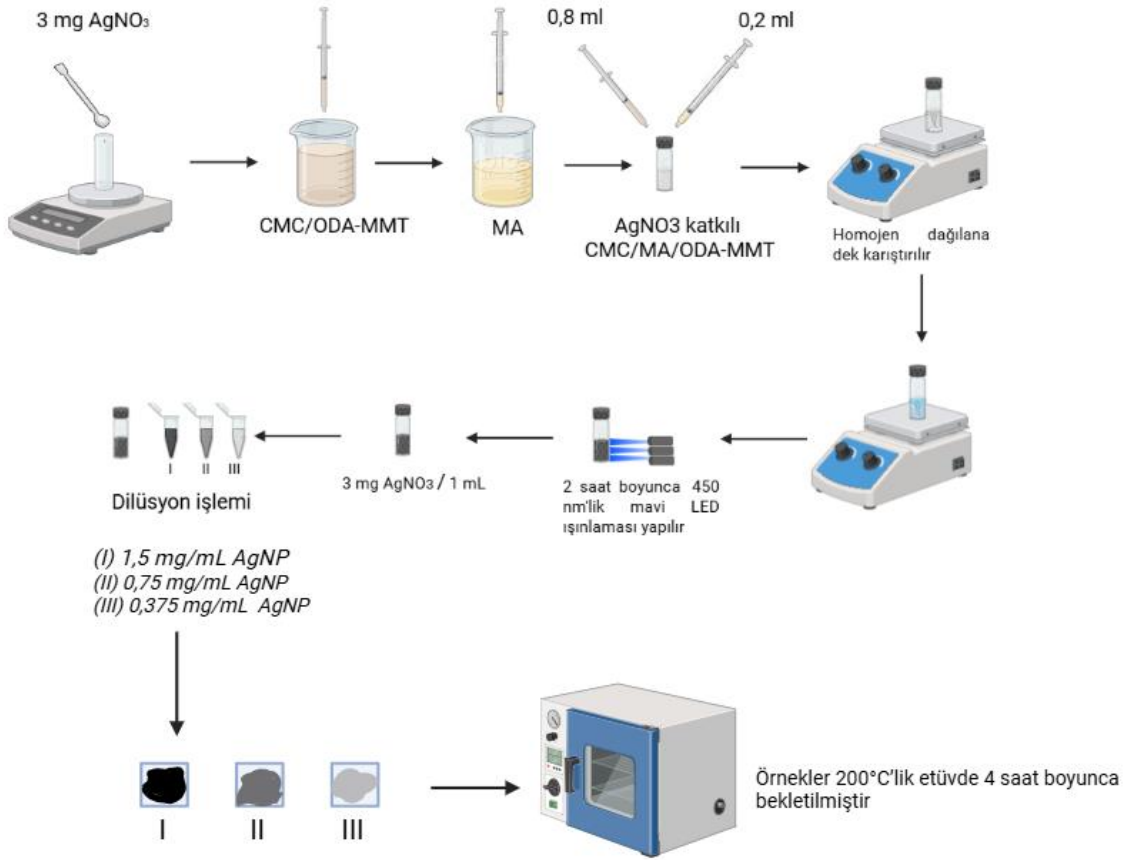


Şekil 3.9 Örnek 3'e ait 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP içeren AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT nanokompozit kaplamaların PMMA yüzeylerinde oluşturduğu kalıntı yapılarının etüv işlemi öncesi (a) ve sonrası (b) görüntüleri.



Şekil 3.10 Kaplama sonrası yüzeyde kalan polimer kalıntılarının pens yardımıyla dikkatlice uzaklaştırılması.

Tüm analizler, yalnızca kaplama uygulanmış şeffaf yüzeylerin karakterizasyonuna odaklanacak şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.11 Örnek 3'e ait deneysel tasarım

3.2. Örneklerin Karakterizasyon Teknikleri

Geliştirilen selüloz bazlı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplamaların yüzey morfolojisini incelemek amacıyla, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Mühendislik Bilimleri Birimi Elektron Mikroskopi Laboratuvarı HITACHI SU5000 Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM), EDS dedektörü ile kullanılmıştır. Bu mikroskop 0,5–30 kV

aralığında değişken çalışma voltajına ve 1,20 nm (30 kV) ile 3,00 nm (1 kV) arasında değişen çözünürlük kapasitesine sahiptir. Cihazın büyütme aralığı 30x ile 1.500.000x arasındadır. Analizden önce tüm kaplama örnekleri yüzeydeki düzgünlük ve iletkenliği arttırmak amacıyla 4 sn boyunca ince bir altın tabakası ile kaplanmıştır.

Geliştirilen biyoyumlu antibakteriyel nanokompozitlerin optik özellikleri, Karamanoğlu Mehmet Bey Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda Thermo Scientific Multiskan GO UV-VIS spektrofotometresi ile analiz edilmiştir. Analizlerde kullanılmak üzere, %100 konsantrasyona sahip stok çözeltilerden elde edilen örnekler ilk olarak stok çözeltiden 10 µL alınarak saf su ile karıştırılmış böylece birinci dilüsyon hazırlanmış ve 1:10 oranında seyreltilmiştir. Ardından, birinci dilüsyondan alınan 20 µl, üzerine 80 µl saf su ilave edilerek karıştırılmış ve toplam hacmi 100 µl ve 1:50 oranında seyreltilen son örnekler hazırlanmış ve absorban ölçümleri son dilüsyonlar üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Nanoparçacıkların karakteristik yüzey özelliklerinin yanı sıra kristal yapısı ve faz bileşimi belirlenmek üzere Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi, Mühendislik Bilimleri Birimi'nde X ışını Laboratuvarı'nda Rigaku SmartLab X-ray Diffractometer Cu cihazı kullanılarak toz kırılım deseni X – Işını Kırınımı (XRD) analizleri yapılmıştır. Her bir örnek ayrı cam petri kaplarına dökülmüş, polimerin uzaklaştırılması ve kristal yapının daha net incelenmesi adına, 40 °C sabit sıcaklığa ayarlanan etüvde gece boyunca (yaklaşık 12 saat) kurutularak XRD analizine uygun hale (toz hale) getirilmiştir.

3.3. Örneklerin Keratinosit (HaCaT) Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkileri

Bu tez çalışmasında, geliştirilen kaplamaların sitotoksik etkinliklerinin değerlendirilmesi amacıyla, insan deri keratinosit hücre hattı (HaCaT) üzerinde hücre canlılık analizi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda kaplanan her bir PMMA yüzeyinden salınabilecek olası toksik bileşenlerin hücre büyümesi ve metabolik aktivite üzerindeki etkileri, MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

Malzemelerin sitotoksitesi direk, indirek veya dolaylı olarak belirlenebilir. Çalışma kapsamında ISO 10993-5'e göre indirek yöntem kullanılmıştır. Tüm PMMA örnekleri (her bir PMMA numunesi), 1mL hücre kültür besiyeri Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içerisinde 3 gün boyunca inkübe edilerek malzeme ekstraktları hazırlanmıştır (ISO 10993-12). Ayrıca PMMA yüzeyine yapılan kaplamaların kolloiadal hallerinin de sitotoksitesi belirlenmiştir. Kaplamada kullanılan nanopartiküllerin sitotoksitesi direk

yöntem ile belirlenmiş ve hücreler nanopartiküllere maruz bırakılmıştır. Hücre canlılık analizinde kullanılan HaCaT hücreleri, %80-90 konfluent seviyesine ulaştığında 25 cm²'lik hücre kültür kabından tripsinizasyonla ayrılmış ve 96 kuyucuklu plakaya her kuyucuğa 10⁴ hücre düşecek şekilde ekilmiştir. Hücrelerin yüzeye adezyonunu sağlamak amacıyla, plakalar %5 CO₂ içeren inkübatörde gece boyunca 37 ° C'de inkübe edilmiştir [145].

Ertesi gün, her bir kuyucuktaki kültür ortamı uzaklaştırılmış ve yerine PMMA örneklerinden elde edilen ekstraktlar aktarılmıştır. Hücreler ekstratlara ortama 24 saat maruz bırakılmıştır. Ardından, her kuyucuğa 0,5 mg/mL konsantrasyonunda MTT çözeltisinden 100 µL eklenmiş ve plakalar 37 ° C'de 4 saat inkübe edilerek hücre metabolizmasına bağlı formazan kristallerinin oluşması sağlanmıştır [145].

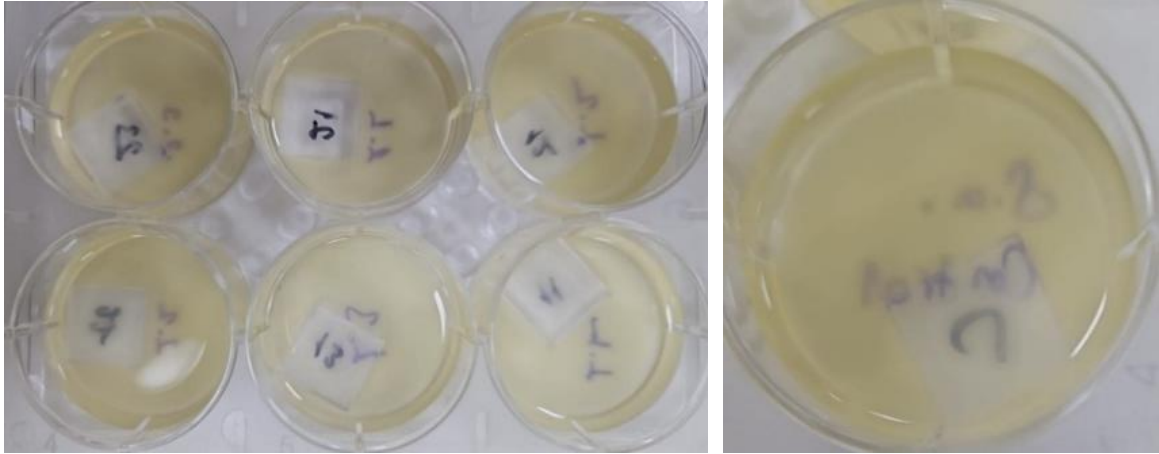
İnkübasyon sonrasında MTT çözeltisi uzaklaştırılmış ve kristalleri çözmek amacıyla her bir kuyucuğa 200 µL 0,04 M HCl içeren izopropanol eklenmiştir. Plakalar karanlıkta 30 dakika boyunca bekletildikten sonra oluşan çözeltilerin absorbans değerleri ölçülmüştür. Plak 570 nm'de (CLARIOstar Plus, Mikroplaka okuyucu) mikroplak okuyucu cihazı ile ölçülmüştür [145].

Sadece kültür ortamıyla inkübe edilen hücreler kontrol grubu olarak kabul edilmiş ve bu grubun ortalama absorbans değeri %100 canlılık olarak kabul edilmiştir. Diğer test kuyucuklardan alınan absorbansların ortalamaları ile mukayese edilerek membranların sitotoksisiteleri belirlenmiştir. Her deney üçlü tekrarlar yürütülmüştür [145].

3.4. Canlı/Ölü Hücre Boyama Yöntemi ile Antibakteriyel Etkinlik Analizi

PMMA örnekleri üzerindeki mikrobiyal canlılığın değerlendirilmesi amacıyla, BacLight Live/Dead Bacterial Viability Kiti (Invitrogen) kullanılmış ve analizler lazer taramalı konfokal mikroskop (CLSM) ile gerçekleştirilmiştir. Bu canlı/ölü bakteri canlılık kiti, iki farklı floresan boya içerir: canlı hücreleri yeşil renkte boyayan SYTO 9 ve zarar görmüş ya da ölü hücreleri kırmızı renkte boyayan propidyum iyodür.

S. aureus, *S.epidermis* ve *E. faecalis* suşları kullanılmıştır. Tüm bakteri türleri, sıvı besiyerine inoküle edilerek 37°C'de gece boyunca inkübe edilmiş ve ardından kültür yoğunlukları 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır. Kaplanmış ve kaplanmamış kontrol örnekleri 24 kuyucuklu steril polistiren plakalara yerleştirilmiş ve her kuyuca standartlaştırılmış bakteriyel süspansiyonlar eklenmiştir.



Şekil 3.12 Örnek 1'in (PMMA Yüzey üzerine kaplanan AgNP taşıyıcı PVP/ODA-MMT) yüzeye kaplanan üç farklı konsantrasyonu ve kontrol örneğinin sıvı besiyerinde inoküle edilmesi

Örnekler 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak bakteri tutunması ve olası biyofilm oluşumu desteklenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda yüzeye tutunmayan bakteriler uzaklaştırılmış, ardından örnekler fosfat tamponlu salin (PBS) ile üç kez nazikçe yıkanmıştır.

Görüntüleme işlemi için, eşit hacimde alınan boyalar bir mikro santrifüj tüpünde karıştırılmış ve her numunenin üzerine 2,5 ml'lik boya karışımı uygulanmıştır. Hazırlanan numuneler karanlık ortamda 15 dakika boyunca inkübe edilmiş ve ardından 63x objektifli ODTÜ Merkezi Laboratuvarı'nda bulunan Zeiss LSM 510 marka lazer taramalı konfokal mikroskop kullanarak görüntülenmiştir [146].

3.5. Canlı/Ölü Hücre Analizlerinin MATLAB Görüntü İşleme Yöntemleriyle Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, lazer taramalı konfokal mikroskop ile elde edilen floresan görüntüler üzerinden canlı ve ölü hücre ayrımı yapmak amacıyla görüntü işleme tabanlı bir analiz yöntemi uygulanmıştır. Analiz süreci, her biri birbirleriyle bağlantılı olan birkaç temel adımdan oluşmaktadır.

İlk aşamada, lazer taramalı konfokal mikroskop aracılığıyla elde edilen RGB formatındaki görüntü, MATLAB ortamına aktarılmıştır. Bu görüntü, hücrelerin canlılık durumuna göre farklı dalga boylarında floresan sinyali yaymaları esas alınarak değerlendirilmiştir. Genellikle yeşil sinyal canlı hücreleri, kırmızı sinyal ise ölü hücreleri temsil etmektedir. Bu nedenle, görüntüdeki renk kanalları ayrıştırılmış ve analiz sürecine yalnızca kırmızı (R) ve yeşil (G) kanallar dahil edilmiştir.

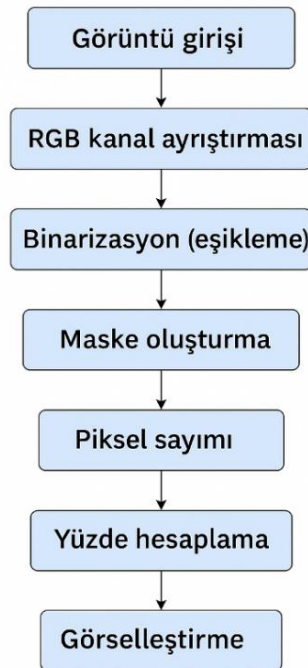
İkinci aşamada, her bir kanal için otomatik eşik değeri belirlenerek binarizasyon (ikili hale getirme) işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemde, graythresh fonksiyonuna dayalı

otomatik eşikleme yöntemi kullanılmıştır. Böylece, görüntüdeki hücre bölgeleri ile arka plan birbirinden ayrılmış, sadece ilgili sinyali içeren pikseller maske haline getirilmiştir.

Üçüncü adımda, canlı ve ölü hücreler için ayrı maske görüntüleri oluşturulmuştur. Canlı hücre maskesi, yalnızca yeşil kanalın yoğun olduğu ve kırmızı kanalın düşük kaldığı alanlardan elde edilmiştir. Ölü hücre maskesi ise, kırmızı kanalın baskın olduğu bölgeleri içermektedir. Bu sayede her iki hücre durumu da bağımsız olarak görselleştirilmiş ve analiz edilmiştir.

Dördüncü aşamada, her bir maskede aktif (beyaz) pikseller sayılarak hücre sayımına karşılık gelen değerler elde edilmiştir. Canlı ve ölü hücrelerin piksel yoğunluklarına karşılık gelen bu sayılar, toplam hücre sayısının belirlenmesinde kullanılmıştır. Ardından, elde edilen bu veriler kullanılarak canlı ve ölü hücre oranları yüzdesel olarak hesaplanmıştır.

Son olarak, analiz çıktıları hem sayısal hem de görsel olarak sunulmuştur. Canlı ve ölü hücreleri temsil eden maskeler ayrı ayrı gösterilmiş; buna ek olarak, elde edilen yüzdesel oranlar kullanıcıya konsol çıktısı aracılığıyla raporlanmıştır. Bu süreç, biyolojik örneklerde hücre canlılığının kantitatif değerlendirilmesini mümkün kılan hızlı, tekrarlanabilir ve kullanıcıdan bağımsız bir analiz yöntemi sunmaktadır.



Şekil 3.13 MATLAB ortamında lazer taramalı konfokal mikroskop görüntülerinden canlı/ölü hücre oranlarının hesaplanmasına yönelik görüntü işleme sürecini gösteren akış diyagramı.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışma kapsamında elde edilen verilerin değerlendirilmesinde çeşitli hesaplama ve istatistiksel analiz yöntemleri uygulanmıştır. Hücre canlılığının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen MTT testi sonuçları, Microsoft Excel (2016) yazılımı kullanılarak hesaplanmış ve yüzde canlılık oranları grafiksel formatta sunulmuştur.

Yüzeylerin morfolojik özelliklerinin incelenmesinde kullanılan taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri, ImageJ (Versiyon 1.54p) yazılımı aracılığıyla analiz edilmiş; yüzeydeki çekirdek-kabuk yapılarının boyut dağılımı niteliksel olarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler, görselleştirme amacıyla MATLAB R2024b yazılımında grafik haline getirilmiştir.

Optik özelliklerin değerlendirilmesinde gerçekleştirilen UV-Vis spektrofotometrik analizler sonucunda elde edilen absorbans verileri, MATLAB yazılımı kullanılarak grafikleştirilmiş ve nanoparçacıkların optik özellikleri sayısal veriler üzerinden yorumlanmıştır.

Çalışmada elde edilen XRD desenleri, OriginPro (2025b) yazılımı üzerinden işlenmiş ve grafiksel olarak sunulmuştur. Yazılım, ölçüm verilerinin düzenlenmesi, temel piklerin belirlenmesi ve sonuçların görselleştirilmesi için tercih edilmiştir.

Antibakteriyel etkinliğin görsel değerlendirilmesinde, canlı/ölü hücre boyamaları sonrası elde edilen lazer taramalı konfokal mikroskop görüntüleri, MATLAB yazılımında geliştirilen özel bir analiz kodu ile işlenmiştir. Bu analiz kapsamında, canlı ve ölü hücreler ayrıştırılarak hücre ölüm oranları sayısal olarak hesaplanmış ve örnekler arasında karşılaştırmalar yapılmıştır ve sonuçlar 4. Bulgular ve Tartışma bölümünde ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümünde, tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmaların sonuçları ve bunlara ilişkin değerlendirmelere yer verilmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında, PMMA yüzeylerine antibakteriyel özellik kazandırmak amacıyla, görünür ışığa duyarlı yüzey kaplamalarının geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, görünür ışık altında fotokimyasal yöntem ile gümüş nanopartiküller sentezlenmiş ve elde edilen AgNP süspansiyonları *drop-casting* yöntemi ile PMMA yüzeylerine uygulanmıştır.

Elde edilen gümüş nanopartiküllerin üretim süreçleri ve karakterizasyon sonuçları detaylı olarak incelenmiştir. Karakterizasyon çalışmaları kapsamında, öncelikle SEM ile yüzey morfolojisi gözlemlenmiş ve EDS ile elementel bileşim analizi gerçekleştirilmiştir. SEM görüntüleri, partikül boyutlarının ve dağılımının daha hassas belirlenmesi amacıyla ImageJ yazılımı kullanılarak tespit edilip, MATLAB programı kullanılarak grafiğe dökülmüştür. Böylece gümüş nanopartiküllerin ortalama parçacık boyutları ve boyut dağılımı niceliksel olarak elde edilmiştir.

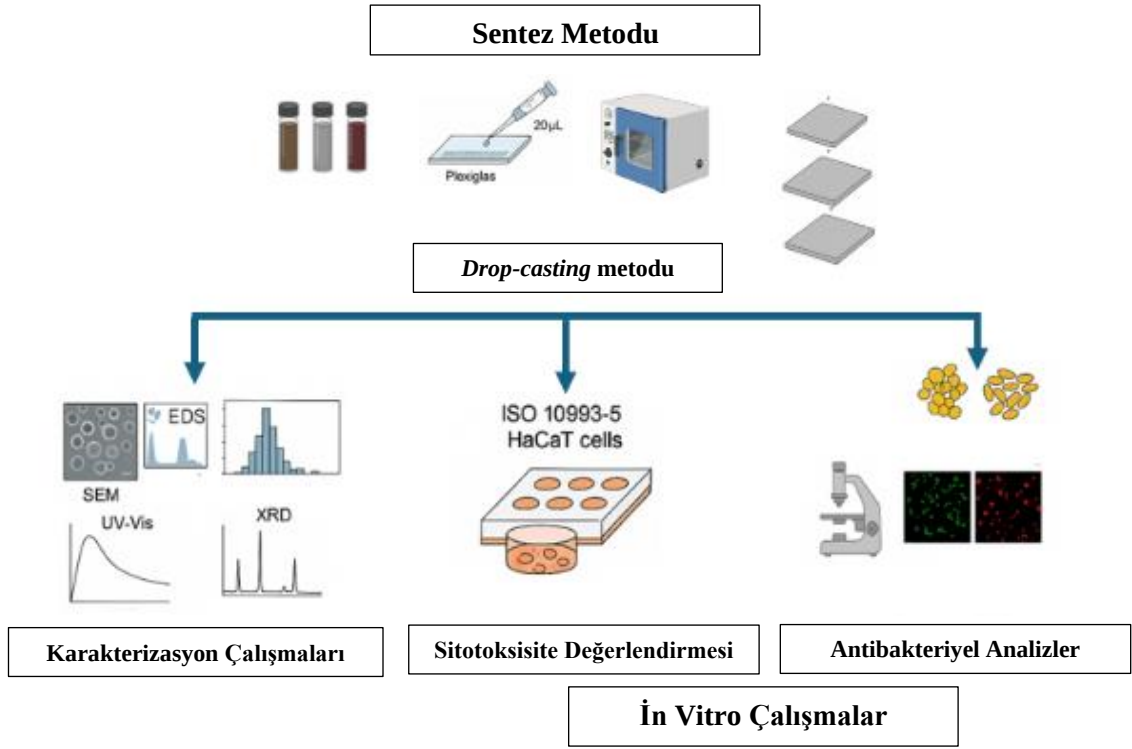
Bunun yanı sıra, optik özelliklerin değerlendirilmesi için UV-Vis spektrofotometrik analizleri yapılmış ve nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonans (SPR) pikleri belirlenmiştir. Kristal yapı ve faz bileşiminin tayini amacıyla ise XRD analizleri gerçekleştirilmiş, böylece elde edilen nanopartiküllerin kristal yapısı ve yapısal özellikleri detaylı şekilde ortaya konmuştur.

Ardından PMMA yüzeyi üzerine kaplanan görünür ışığa duyarlı antibakteriyel kaplamaların biyoyumluluk potansiyellerini değerlendirmek amacıyla, ISO 10993-5:2009 standardı doğrultusunda insan keratinosit hücre hattı (HaCaT) ile MTT hücre canlılık testleri gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda hem sentezlenen örneklerdeki AgNP'lerin serbest formları hem de kaplanmış yüzeylerdeki hücre canlılığı üzerindeki etkiler ayrı ayrı incelenmiştir.

Kaplanmış PMMA yüzeylerin antibakteriyel etkinliğini değerlendirmek amacıyla, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *E. faecalis* olmak üzere üç farklı Gram pozitif bakteri suşu kullanılmıştır. Her bir suş, kaplanmış PMMA yüzeylerine inkübasyon süresi boyunca temas ettirilip, canlı/ölü hücre boyaması (Live/Dead BacLight™) uygulanmıştır.

Boyama sonrası örnekler, lazer taramalı konfokal mikroskop (CLSM) ile yüksek çözünürlükte görüntülenmiştir. Elde edilen mikroskopik veriler, MATLAB yazılımı kullanılarak geliştirilen özel bir görüntü işleme algoritması aracılığıyla analiz edilmiştir.

Görüntülerdeki yeşil ve kırmızı floresan sinyallerin piksel yoğunlukları nicel olarak değerlendirilmiş; böylece her bir yüzey için canlı/ölü hücre oranı hesaplanmıştır. Bu yöntem sayesinde, test edilen her üç suş için kaplama yüzeylerinin antibakteriyel performansı karşılaştırmalı olarak ortaya konmuş; kaplamaların patojenik mikroorganizmalara karşı gösterdiği etkinlik istatistiksel olarak değerlendirilebilir hale getirilmiş ve istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1 Tez kapsamında yapılan çalışmaların grafiksel özeti

4.1. Fotokimyasal Aktivasyon

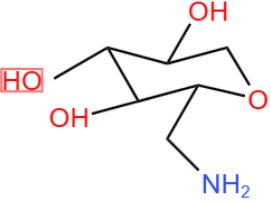
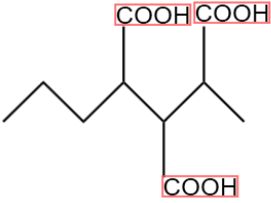
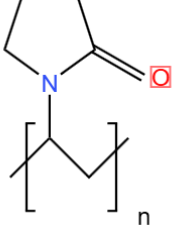
Bu tez çalışmasında kullanılan 450 nm dalga boyundaki mavi LED, görünür ışık spektrumunda yer almakta olup, iyonlaştırıcı olmayan ışık kaynağıdır. Bu mavi LED, ışık kaynağı olarak kullanıldığında, ortamda bulunan organik indirgenler ile (örn. selüloz, polimer bazlı bileşiklerle) etkileşime girerek serbest elektronların açığa çıkmasını sağlar. Elde edilen bu serbest elektronlar, ortamda bulunan Ag^+ iyonlarını indirger ve nötr gümüş atomlarının (Ag^0) oluşmasına neden olur.

İndirgenen Ag^0 türleri nükleasyon (çekirdeklenme) sürecini başlatarak zamanla büyür ve çevresel koşullar altında stabil nano-gümüş boyutlu AgNP'lerin oluşumunu sağlar. Bu fotokimyasal dönüşüm, mavi LED yardımıyla gerçekleştirilen indirgenme tepkimesine dayanmaktadır.

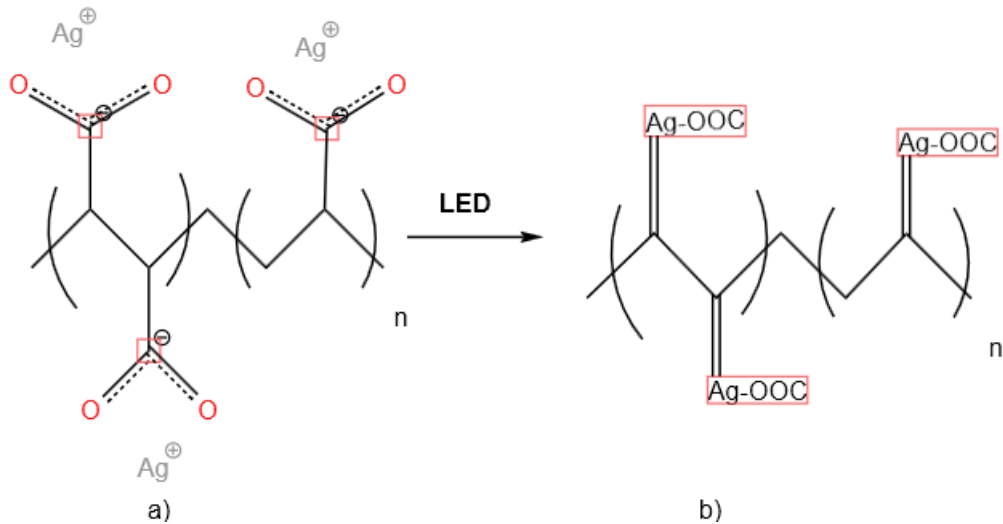
Bu çalışmada geliştirilen AgNP taşıyıcılı biyouyumlu polimer nanokompozitlerin sentezi ve sentez esnasında kullanılan malzemeler Bölüm 3.1.2 Sentez Metodolojisi içerisinde ayrıntılı olarak verilmiştir. Her bir numune, AgNP sentezinin gerçekleştirilmesi amacıyla yaklaşık 2 saat boyunca, 450 nm dalga boyuna sahip mavi LED ışık kaynağı altında ışınlanmıştır. Işınlama sürecinin sonunda, tüm örnekler karakteristik olarak koyu kahverengi bir renk almış, bu renk değişimi AgNP oluşumunun görsel bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Örneklerin sentezlerinde kullanılan malzemeler aşağıdaki gibidir:

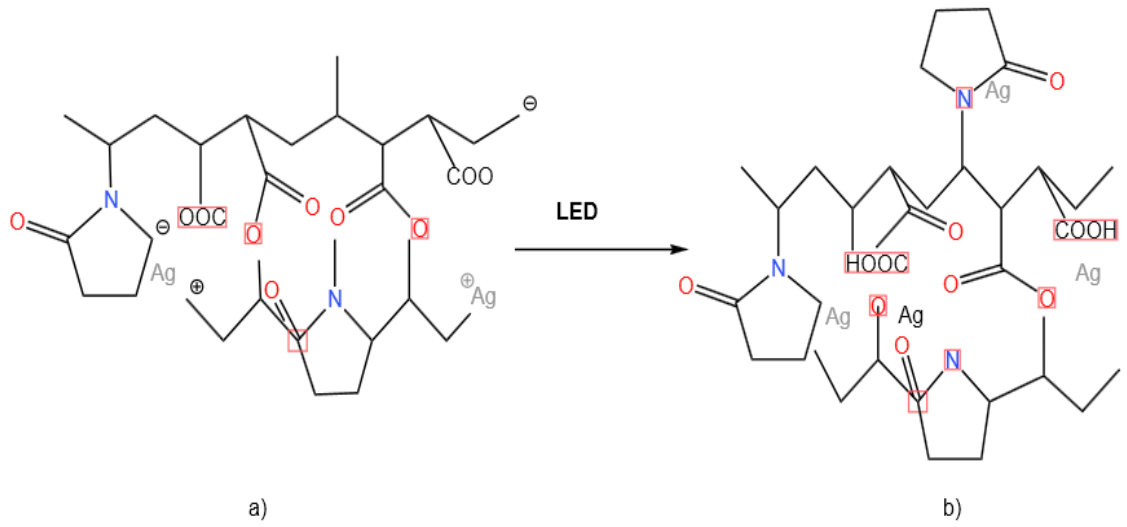
Tablo 4.1 Çalışmada kullanılan makromolekül yapılar

		
Selüloz makromolekül	Kopolimer makromolekülü	Polivinilpirolidon

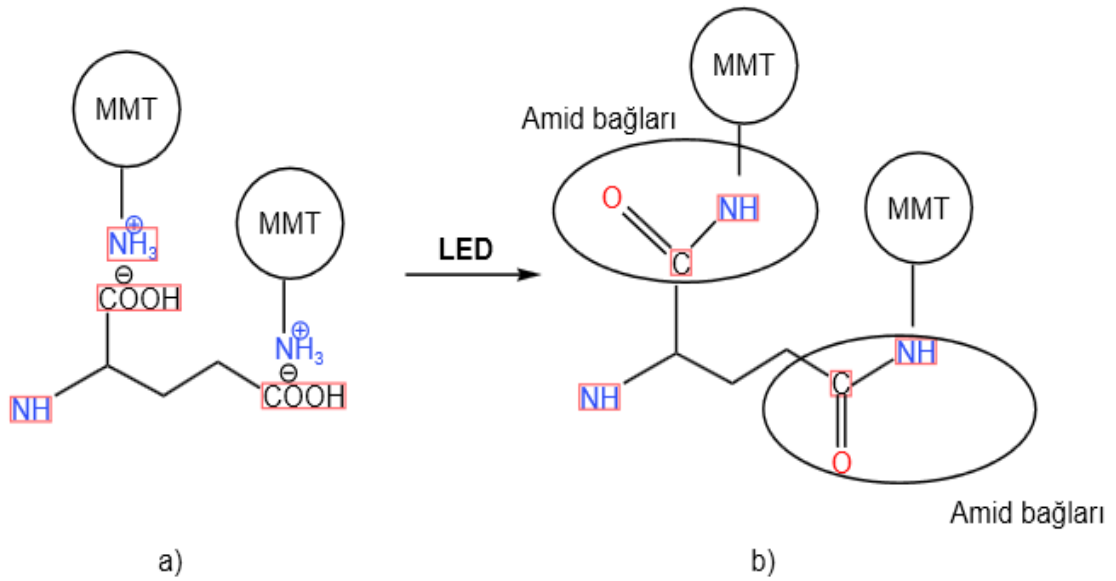
- $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)-NH}_2\text{/MMT}$ reaktif organik kil-nano dolgu maddesi (ODA-MMT)
- AgNO_3 (Gümüş Nitrat)
- H_2O Distile su



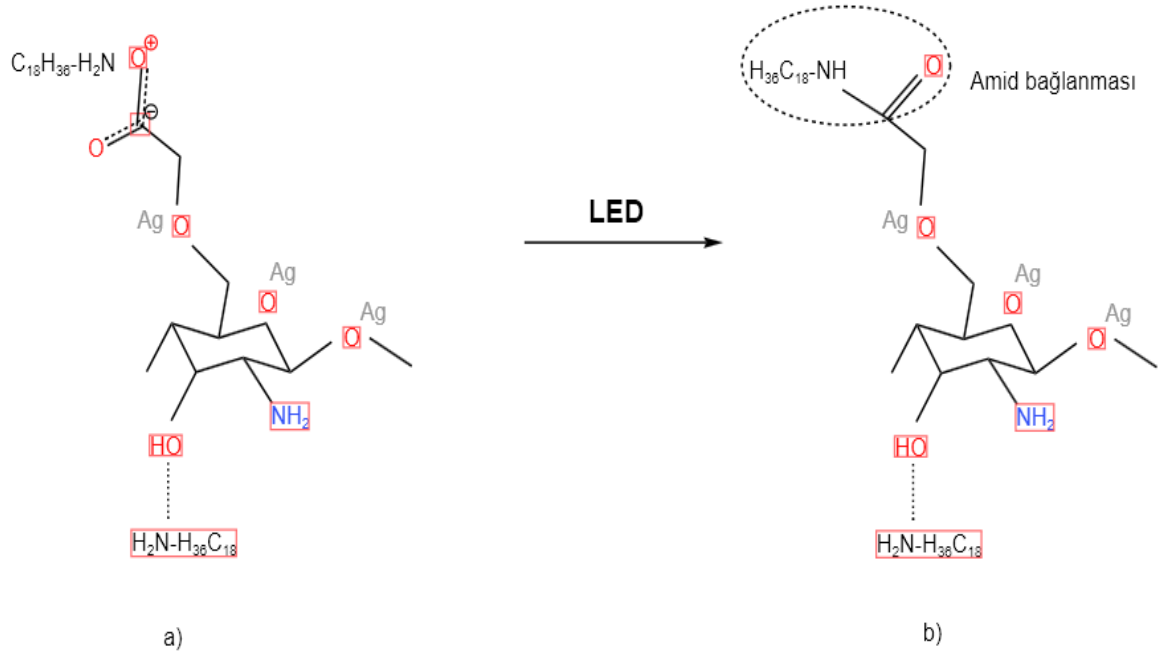
Şekil 4.2 MA– AgNO_3 kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu: a) LED ışık kaynağı uygulanmadan önce, fiziksel karışım halinde olup yapı içerisinde yalnızca fragmanlar bulunmakta, b) LED ışık kaynağı uygulandıktan sonra ise, fiziksel karışım içerisindeki bileşenler kimyasal bağlar oluşturarak kararlı yapıya dönüşümü



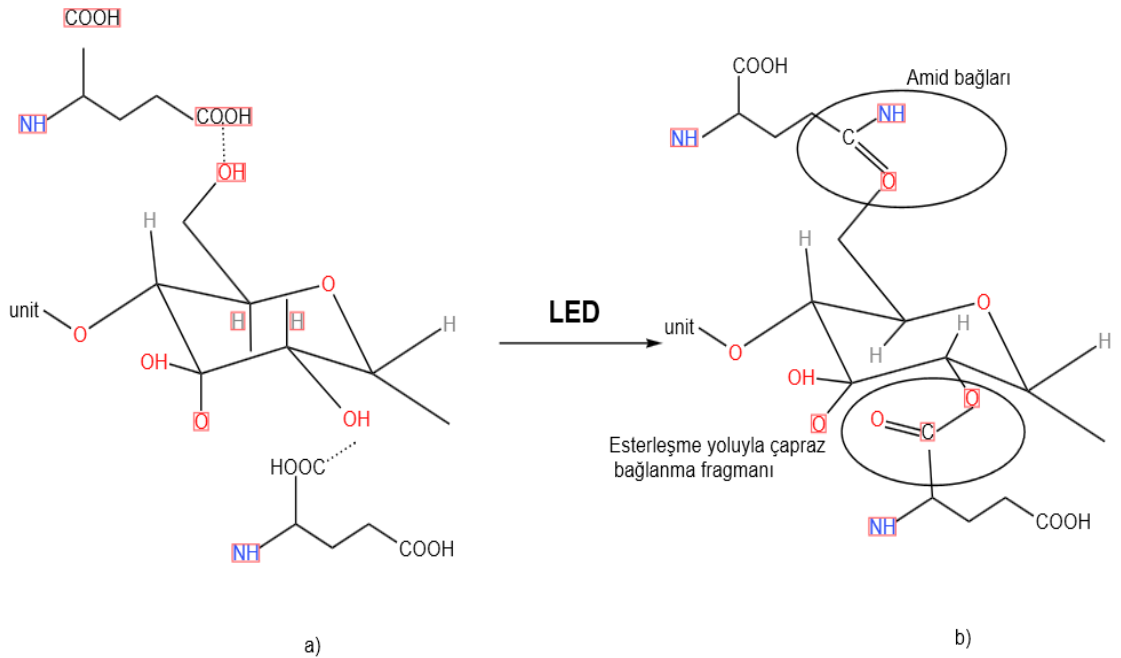
Şekil 4.3 PVP/AgNO₃ kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu. (a) LED ışık kaynağı uygulanmadan önce, fiziksel karışım halinde olup yapı içerisinde yalnızca serbest fragmanlar bulunmaktadır. (b) LED ışık kaynağı uygulandıktan sonra, fiziksel karışımındaki bileşenler kovalent bağlar aracılığıyla stabilize edilerek kararlı bir yapıya dönüşmektedir.



Şekil 4.4 MA-kil kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu; a) LED ışık kaynağı uygulanmadan önce yapı fiziksel karışım halinde olup, MMT yüzeyine bağlı serbest amin (–NH₂) ve karboksil (–COOH) grupları bulunmaktadır. b) LED ışık kaynağı etkisiyle, amin ve karboksil grupları arasında amid bağları oluşarak yapı kovalent olarak stabilize edilmektedir.

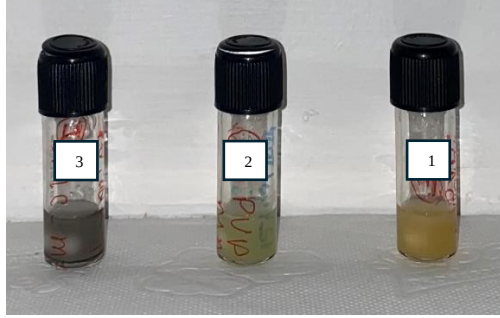


Şekil 4.5 MMT–polisakkarit kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu; a) LED ışık kaynağı önce yapı fiziksel karışım halinde olup, yapıda serbest amin ($-\text{NH}_2$) ve karboksil ($-\text{COOH}$) grupları ile Ag nanoparçacıkları bulunmaktadır ve b) LED ışık kaynağı sonrası amin ve karboksil grupları arasında amid bağları oluşarak yapı kovalent olarak stabilize edilmiştir

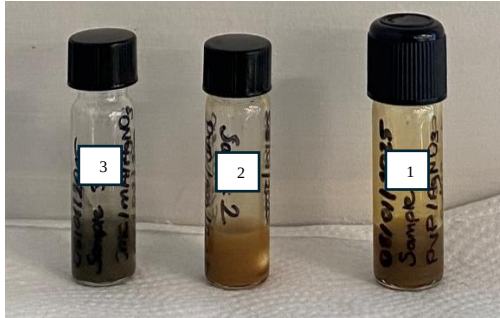


Şekil 4.6 CMC/MA kompleksinin görünür ışık altında sentez aktivasyonu; a) LED ışık kaynağı önce yapı fiziksel karışım halinde olup, polimer zinciri üzerinde serbest karboksil ($-\text{COOH}$), hidroksil ($-\text{OH}$) ve amin ($-\text{NH}_2$) grupları bulunmaktadır. b) LED ışık kaynağı sonrası karboksil grupları ile amin grupları arasında amid bağları, karboksil grupları ile hidroksil grupları arasında ise esterleşme yoluyla çapraz bağlanma oluşumu.

AgNP oluşumu, mavi LED uygulamasının öncesinde ve sonrasında gözlemlenen karakteristik renk değişimiyle desteklenmiş olup, bu durum Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de açıkça görülmektedir. Renk değişimi plazmonik rezonans etkisine bağlı olarak örneklerin mavi LED ışınlama sonrasında daha koyu bir renk almasını sağlamaktadır. Bu durum yüzeyde AgNP’lerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir.



Şekil 4.7 Örneklerin mavi LED ışınlama öncesi (sırasıyla Örnek 3(AgNO₃ katkılı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNO₃ katkılı PVP/MA/ODA-MMT) ve Örnek 1 (AgNO₃ katkılı PVP/ODA-MMT))



Şekil 4.8 Örneklerin mavi LED ışınlama sonrası (sırasıyla Örnek 3 (AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT), Örnek 2 (AgNP taşıyıcılı PVP/MA/ODA-MMT) ve Örnek 1 (AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT))

Mavi LED ışığın yüksek foton enerjisi, foto-redüksiyon kinetiğini hızlandırarak daha küçük boyutlu, homojen dağılımlı ve yüksek yüzey/hacim oranına sahip nanopartiküllerin oluşmasına katkı sağlamaktadır [147], [148]. Bu özellik, partiküllerin reaktif yüzey alanını artırarak antimikrobiyal etkinliğin kimyasal olarak güçlenmesine neden olur (Bkz. Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6). Bu çalışmada sentezlenen AgNP taşıyıcılı biyoyumlu polimer nanokompozitler, yaklaşık 2 saat boyunca 450 nm dalga boyuna sahip mavi LED ışık kaynağı altında ışınlanmış; süreç sonunda numuneler karakteristik olarak koyu kahverengi bir renk almıştır. Bu renk değişimi, AgNP oluşumunun görsel bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

İncelenen literatürlerde de benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Bunyatova et al. [131] görünür ışık fotonlarının gümüş nanopartiküllerin foto-redüksiyonu üzerindeki etkisini incelemiş, optoelektronik geri bildirim tespitini ve antimikrobiyal aktivitenin

değerlendirilmesini hedeflemiştir. Çalışmalarında farklı dalga boylarındaki LED ışınları ile AgNP sentezi gerçekleştirilmiş ve mavi LED ışık altında üretilen en küçük (4–6 nm) nanopartiküllerin en yüksek antibakteriyel etkinliği gösterdiği rapor edilmiştir. Buna karşın, kırmızı LED ışık altında sentezlenen nanopartiküllerin en güçlü anti-fungal etkiyi sağladığı belirlenmiştir.

Bu sonuçlar, mavi LED kullanımının özellikle yüksek antibakteriyel aktivite hedeflenen uygulamalarda tercih edilmesinin bilimsel ve teknik açıdan doğru bir yaklaşım olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, bu çalışmada 450 nm mavi LED ışık kullanılması, elde edilen AgNP'lerin morfolojik özelliklerinin iyileştirilmesi ve biyolojik etkinliğinin artırılması açısından literatürle uyumlu, rasyonel bir seçimdir.

4.2. Karakterizasyon Analizleri

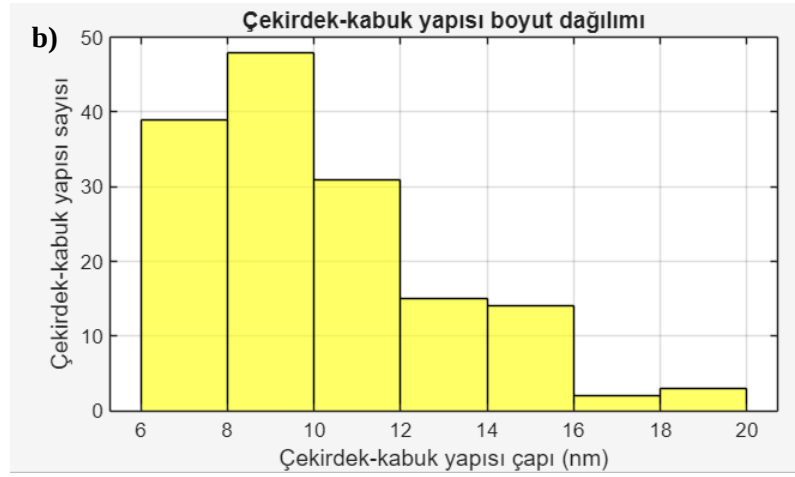
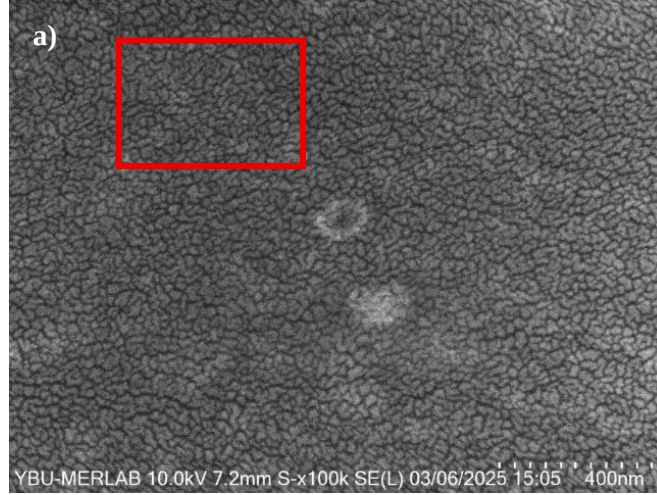
4.2.1. SEM Analizi

1 ml'de 3 mg AgNP içeren stok çözeltiler kullanılarak, *drop-casting* yöntemi ile PMMA yüzeylerine kaplanmış Örnek 1 (AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT), Örnek 2 (PVP/MA/ODA-MMT) ve Örnek 3 (Ag taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT) numunelerinin yüzey morfolojileri, 100.000× büyütme oranında elde edilen taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri ile incelenmiştir. Görüntüler, 10.0 kV hızlandırıcı gerilim ve 7.2 mm çalışma mesafesi altında alınmış olup, yüzey detaylarını yüksek çözünürlükte ortaya koymaktadır. Malzeme hazırlama yöntemi Bölüm 3.2'de ayrıntılı olarak sunulmuştur.

4.2.1.1. Örnek 1 (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT)

Şekil 4.9 a'da görülen 100.000x büyütme SEM görüntüsünde, PMMA yüzeyine kaplanmış AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT selüloz matris yüzeyinde nano ölçekli çekirdek-kabuk yapısını açığa çıkartmaktadır. *Drop-casting* yönetimiyle yapılan kaplama yapısı, uzamış elipsoit şeklinde olup, yarı homojen şeklinde yüzeye dağılmıştır.

Şekil 4.9 a'da görülen SEM görüntüsünden kırmızı ile işaretlenen bölgenin analizi için ImageJ yazılımı kullanılmış ve analiz edilmiştir. Şekil 4.9 b'de görüldüğü üzere Matlab yazılımı üzerinden kırmızı bölge içerisinde yer alan çekirdek-kabuk yapısı dağılımı grafik haline getirilmiş ve histogram grafiği şeklinde sunulmuştur. En yüksek çekirdek-kabuk yapısı yoğunluğu 8-10 nm aralığında gözlemlenmiş ve histogram sağa çarpık bir dağılım gösterilmiştir. ImageJ yazılımı ile elde edilen analiz verileri, ölçüm güvenilirliğinin sağlanması ve sonuçların doğrulanması amacıyla ek olarak görsel inceleme yöntemi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.



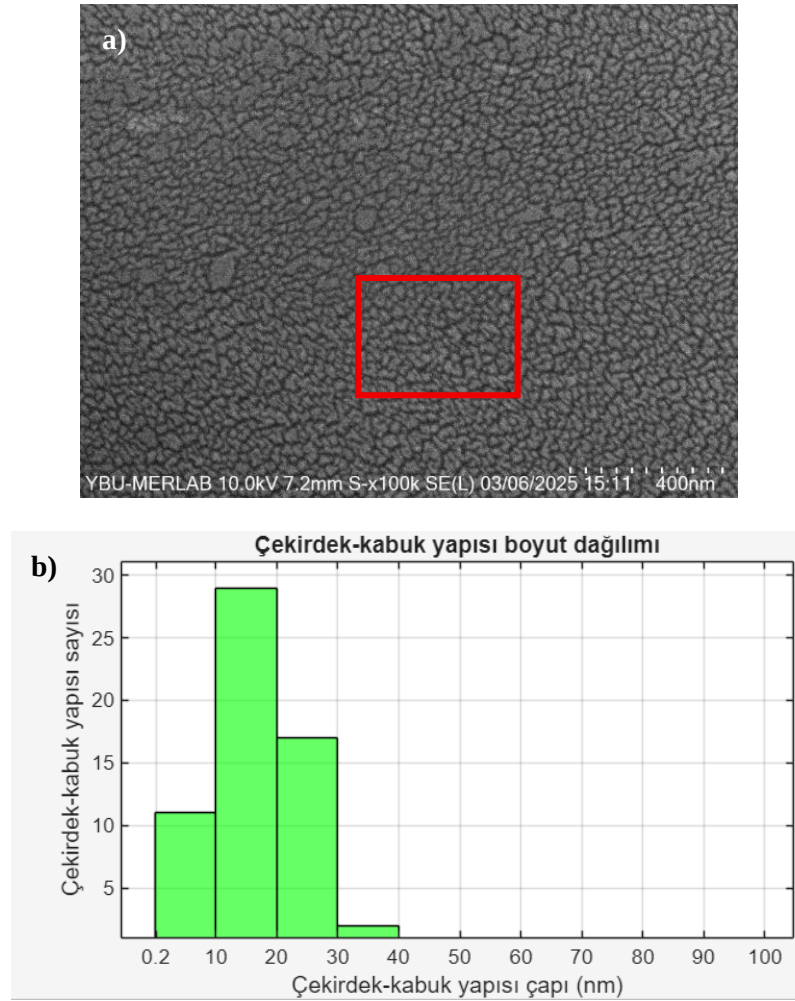
Şekil 4.9 a) Örnek 1'in SEM görüntüsü ve Örnek 1'in çekirdek-kabuk yapısı boyut dağılımı (nm) (PVP /ODA-MMT/AgNO₃) 3 mg/ml AgNO₃)

4.2.1.2. Örnek 2 (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/ MA)

Şekil 4.10 a'da verilen 100.000x büyütme SEM görüntüsü, PMMA tabanlı yüzey üzerine kaplanmış AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA selüloz matris yüzeyinde nano ölçekli çekirdek-kabuk yapısını açığa çıkartmaktadır. *Drop-casting* yönetimiyle yapılan kaplama yapısı, uzamış elipsoit şeklinde olup, yarı homojen şekilde yüzeye dağılmıştır. Yüzey morfolojisi, farklı boyutlarda ve düzensiz şekillerdeki partiküllerden oluşmaktadır.

Şekil 4.10 b'de sunulan çekirdek-kabuk yapısının boyut dağılımı histogramı, kırmızı kutu ile işaretlenen bölgeden elde edilen çekirdek-kabuk yapısının boyut verilerinin ImageJ yazılımı kullanılarak çıkarılması ile elde edilmiştir. Elde edilen veriler, MATLAB ortamında analiz edilmiş ve histogram grafiği oluşturularak görselleştirilmiştir. Histogram dağılımı içerisindeki en yoğun aralık 10-20 nm olup, bu boyut aralığında çekirdek-kabuk yapısının toplam içindeki oranı en yüksek seviyededir. Histogram normal dağılıma yakın bir dağılım

sergilemiştir. ImageJ ile gerçekleştirilen analiz sonuçlarının, doğruluklarının teyit edilmesi amacıyla görsel inceleme yöntemiyle de kontrol edilmiştir.



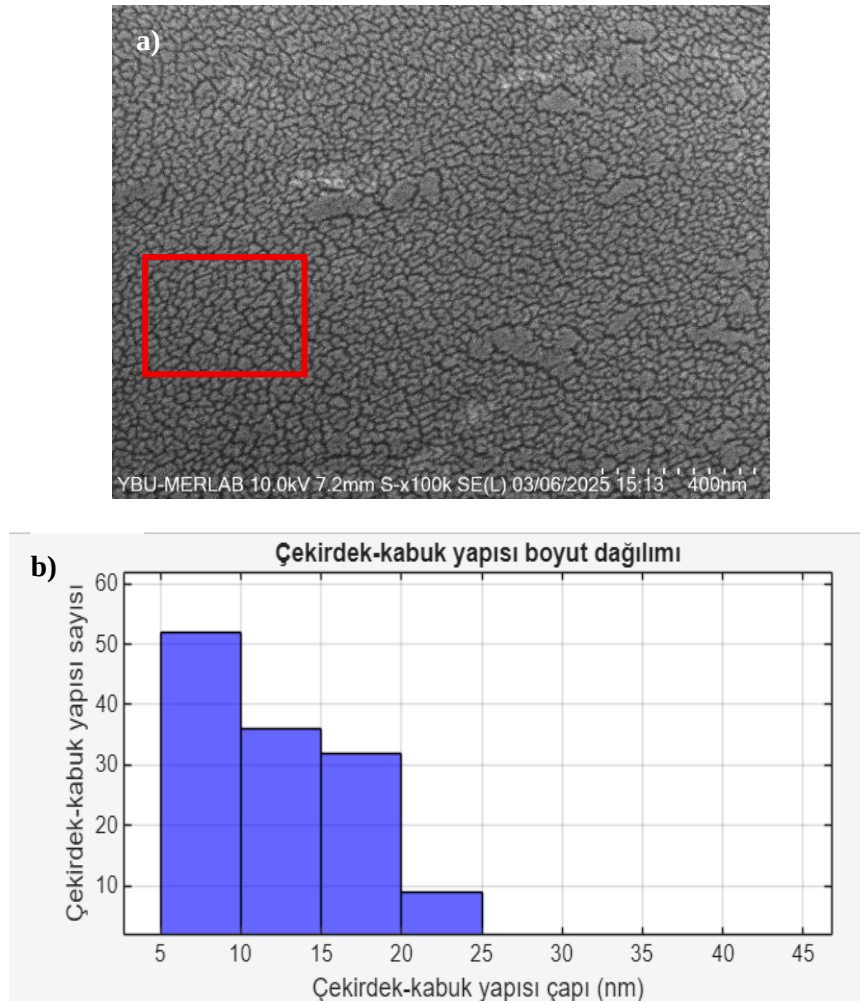
Şekil 4.10 a) Örnek 2'in SEM görüntüsü ve Örnek 2'in çekirdek-kabuk yapısı boyutu (nm) dağılımı (PVP/ODA-MMT/MA/ AgNO_3) 3 mg/mL AgNO_3)

4.2.1.3. Örnek 3 (AgNP Taşıyıcılı- CMC/MA/ODA-MMT)

Şekil 4.11 a'da verilen 100.000x büyütme SEM görüntüsü, PMMA tabanlı substrat üzerine kaplanmış AgNP Taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT polimer matrisin nano ölçekli çekirdek-kabuk yapısını göstermektedir. *Drop-casting* yöntemi ile elde edilen kaplamanın yüzey dağılımı, uzamış elipsoit geometrisine sahip olup yarı homojen bir şekildedir. Yüzey morfolojisi, farklı boyutlara ve düzensiz şekillere sahip partiküllerden oluşmaktadır.

Şekil 4.11 b'de yer alan boyut dağılım histogramı, Şekil 4.11 a'da yer alan kırmızı bölge ImageJ yazılımı üzerinden analiz edilmiş ve Matlab yazılımı üzerinden grafik haline getirilmiştir. Analiz sonuçları, partiküllerin büyük çoğunluğunun 5–10 nm aralığında yoğunlaştığını, bu boyut aralığında çekirdek-kabuk yapısının toplam içindeki oranı en yüksek seviyede olduğunu göstermiştir. Histogram sağa çarpık bir yapı sergilemektedir.

ImageJ ile gerçekleştirilen analiz sonuçlarının, doğruluklarının teyit edilmesi amacıyla görsel inceleme yöntemiyle de kontrol edilmiştir.



Şekil 4.11 Örnek 3'ün (CMC / MA / ODA-MMT / AgNO₃) SEM görüntüsü ve Örnek 3'ün (CMC / MA / ODA-MMT / AgNO₃) çekirdek-kabuk yapısı boyutu (nm) dağılımı

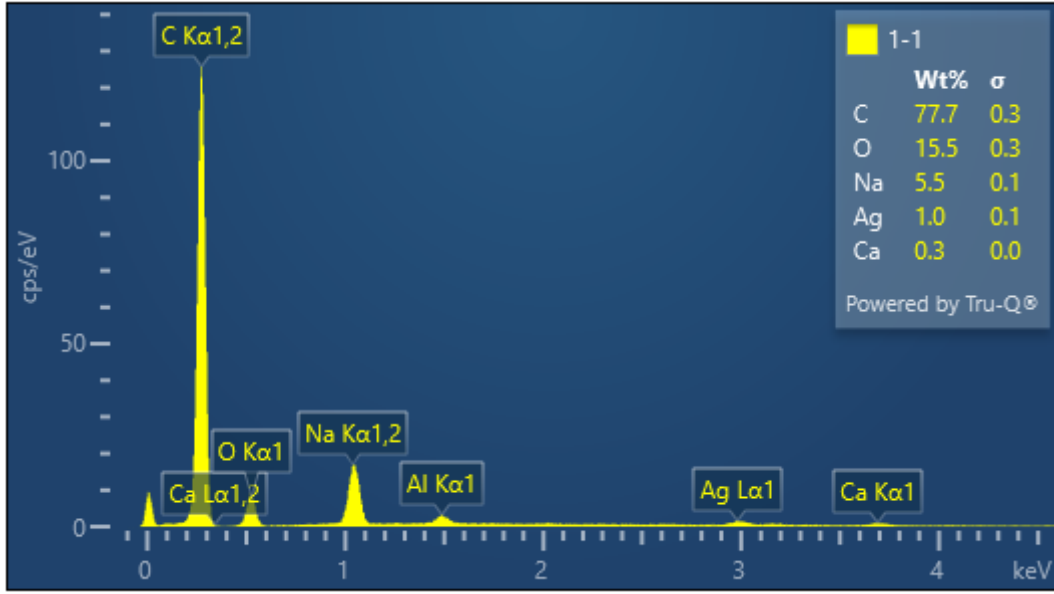
4.2.2. EDS Analizi

EDS analizleri, AgNP taşıyıcılı polimer matris ile kaplanmış numuneler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Her bir numune, 3 mg/mL konsantrasyona sahip gümüş nanopartikül (AgNP) çözeltileri kullanılarak PMMA yüzeylerine *drop-casting* yöntemiyle kaplanmış olup, bu yükleme miktarı her yüzey üzerine eşit ve kontrollü şekilde uygulanmıştır (her bir yüzeye 200µl damlatılmıştır.) EDS spektrumu yüzeyin elementel bileşimini ortaya koymaktadır. Yatay eksen enerji (keV), dikey eksen ise sayım yoğunluğunu (cps/eV) ifade etmektedir. Tüm analizlerde yüzeyde baskın olarak oksijen (O) ve karbon miktarı (C) görülmüştür bu da yapının çoğunluğunun polimer matris olduğunu, daha düşük oranda ise gümüş (Ag) içerdiğini göstermektedir.

4.2.2.1. Örnek 1 (AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT)

Şekil 4.12’de sunulan EDS spektrumu sonuçlarına göre yüzeyde tespit edilen Gümüş (Ag) elementi ve ağırlıkça yüzdesi (Wt%) şu şekildedir:

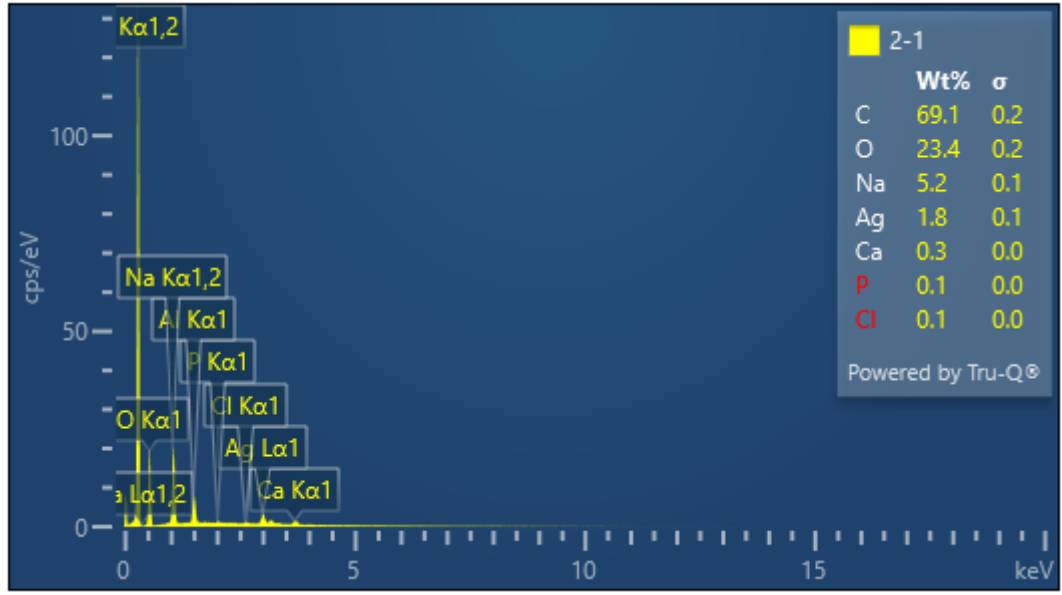
Gümüş (Ag): %1,0- 3 keV civarında gözlenen karakteristik Ag pikleri, yüzeyde gümüş nanopartiküllerin varlığını kesin olarak ortaya koymaktadır. Ag’nin düşük ağırlıkça yüzdesi, kaplama sürecinde kullanılan AgNO_3 miktarın sınırlı olmasından ve AgNP ‘lerin polimer matris içerisinde gömülü çekirdek-kabuk yapısı içerisinde olmasından kaynaklıdır. Buna rağmen, bu seviyede gümüş varlığı, hedeflenen fonksiyonel (ör. antimikrobiyal) özellikler için yeterli kabul edilecektir. (Bkz. Bölüm 4.3 ve Bölüm 4.4)



Şekil 4.12 Örnek 1’in (PVP/ODA-MMT / AgNO_3) EDS analizi (Toplam malzeme yüzdesi içerisindeki %1,0 miktardaki Ag oranı)

4.2.2.2. Örnek 2 (AgNP Taşıyıcılı PVP /ODA-MMT/ MA)

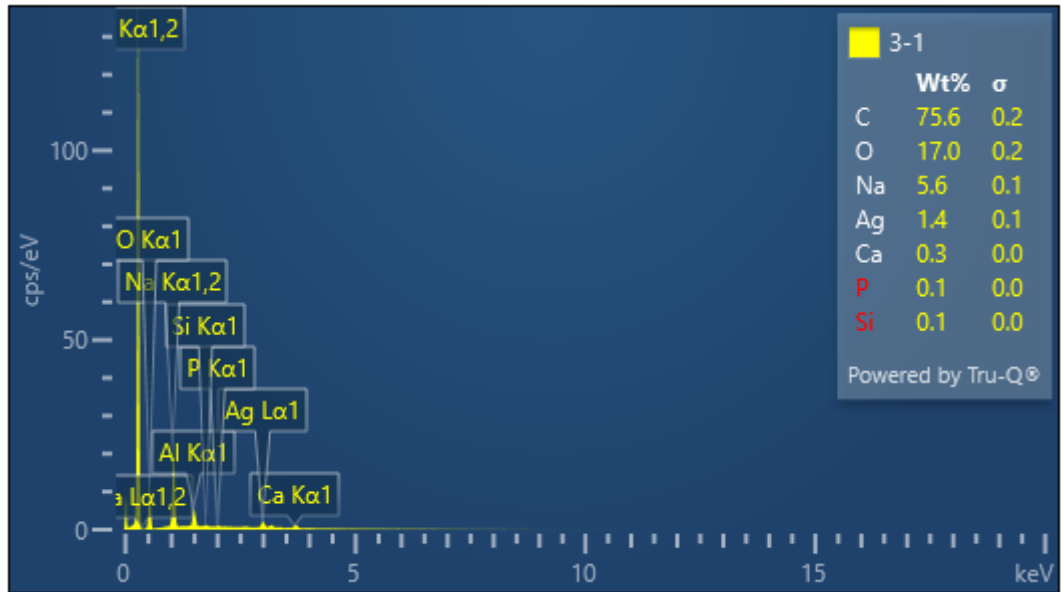
Şekil 4.13’te Gümüş (Ag) – %1,8: 3 keV civarında yer alan Ag pikleri, yüzeyde %1.8’lik oranda gümüş nanopartiküllerin varlığını göstermektedir. Düşük konsantrasyon, gümüşün sınırlı miktarda uygulanmasından veya polimer matris içerisinde kısmen gömülü olmasından kaynaklanabilir. Genel olarak, EDS spektrumu yüzeyin yüksek oksijen ve karbon içeriğine sahip bir polimer matris içerisindeki çekirdek-kabuk yapısının varlığını doğrulamaktadır. Buna rağmen, yüzey fonksiyonelliği açısından bu miktar yeterlidir. (Bkz. Bölüm 4.3 ve Bölüm 4.4)



Şekil 4.13 Örnek 2'in (PVP/ODA-MMT/ MA / AgNO_3) EDS Analizi (Toplam malzeme yüzdesi içerisindeki %1,4 miktardaki Ag oranı)

4.2.2.3. Örnek 3 (AgNP Taşıyıcılı- CMC/MA/ODA-MMT)

Şekil 4.14'te Gümüş (Ag) – %1,4: 3 keV civarında ortaya çıkan Ag pikleri, yüzeyde AgNP'lerin varlığını kesin olarak doğrulamaktadır. Yüzeye kaplanan stok çözeltideki AgNP miktarının 3 mg/ml olması, spektrumda tespit edilen bu oranın temel kaynağını oluşturmaktadır. Genel olarak, EDS spektrumu yüzeyin yüksek oksijen ve karbon içeriğine sahip bir polimer matris içerisindeki çekirdek-kabuk yapısının varlığını doğrulamaktadır.



Şekil 4.14 Örnek 3'ün (CMC / MA / ODA-MMT / AgNO_3) EDS Analizi

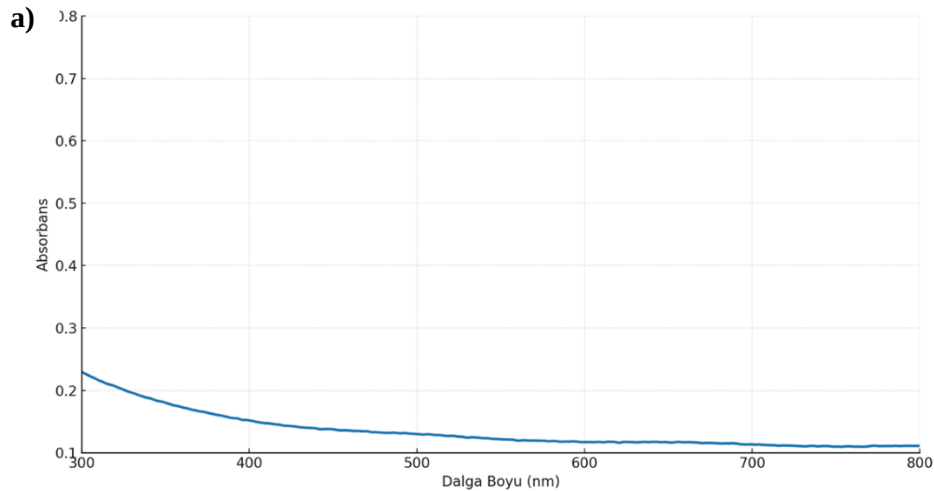
4.2.3. UV-Vis Analizi

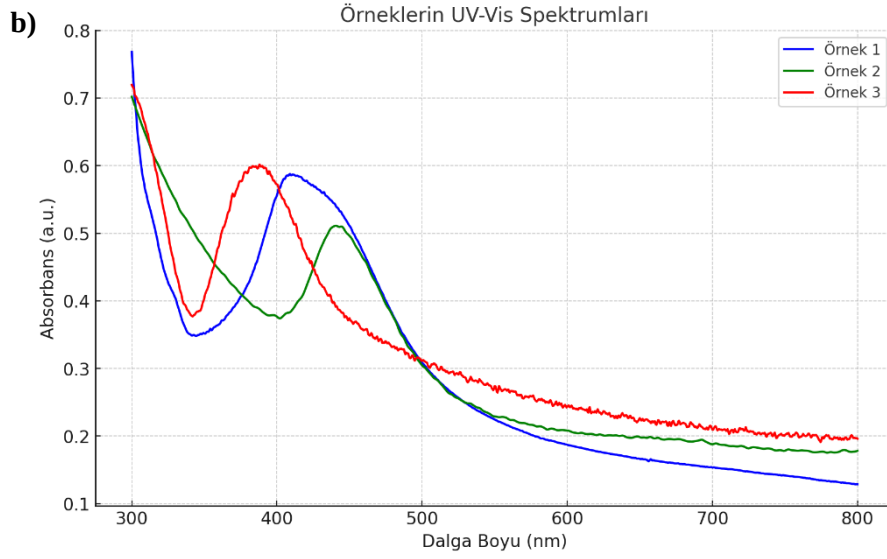
PVP/ODA-MMT, PVP/ODA-MMT/MA ve CMC/MA/ODA-MMT polimer matrisleri içerisinde AgNP'lerin in-situ oluşumu, AgNO₃ içeren koloidal çözeltilerin mavi LED (450 nm) ışığı altında ışınlama öncesi ve sonrasındaki görsel değişimlerle doğrulanmıştır. Işınlama öncesinde numuneler açık tonlu, yarı şeffaf bir görünüm sergilerken, 2 saatlik LED ışınlaması sonrasında koyu kahverengi ve gri tonlarına dönüşmüştür. Bu renk değişimleri, polimerik matris içerisinde Ag⁺ iyonlarının indirgenerek Ag⁰ nanoparçacıklara dönüşümünü ve yüzey plazmon rezonansı (SPR) etkisinin ortaya çıktığını göstermektedir. Böylece, mavi LED ışınlamasının gümüş iyonlarının indirgenme kinetiğini hızlandırarak matris içerisinde homojen AgNP oluşumunu etkin şekilde sağladığı sonucuna varılmıştır [149].

Bu çalışmada, %100 stok çözeltisi (1 ml'de 3 mg AgNP içeren) kullanılarak görünür ışık altında sentezlenen üç farklı AgNP taşıyıcılı örneğin (Örnek 1: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT, Örnek 2: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA, Örnek 3: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT) UV-Vis spektrofotometresi ile absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.15'te sunulmuştur.

Şekil 4.15'te görülen UV-Vis spektrumları incelendiğinde, her üç örneğin yüzey plazmon rezonansı (LSPR) bölgelerinde farklı dalga boylarında maksimum absorbans sergilediği belirlenmiştir. Literatürde de ifade edildiği üzere, LSPR pik konumları; AgNP'lerin parçacık boyutu, morfolojisi ve bulunduğu ortamın optik özellikleri ile doğrudan ilişkilidir [150]. Ayrıca, pik dalga boyunun daha düşük olması genellikle daha küçük partikül boyutlarına işaret etmektedir. Bu bağlamda, üç örnek arasında en düşük dalga boyuna sahip olan Örnek 3'ün, muhtemelen en küçük çekirdek-kabuk yapısı dağılımına sahip olduğu değerlendirilmektedir.

Mavi LED Işınlamasından Önce

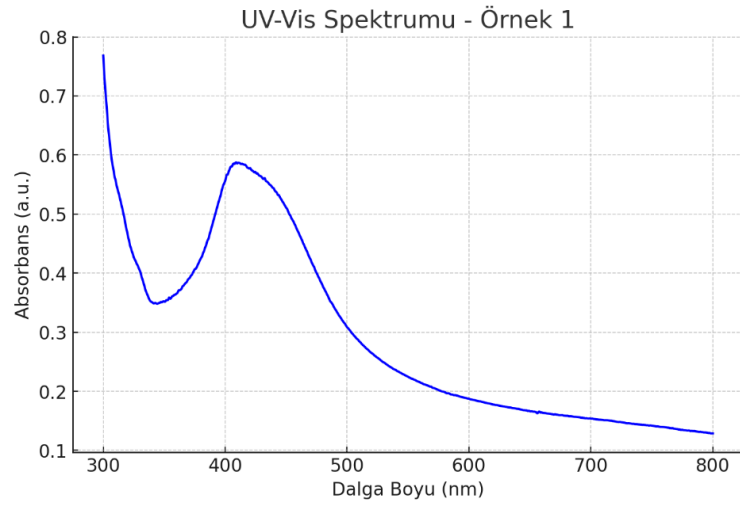




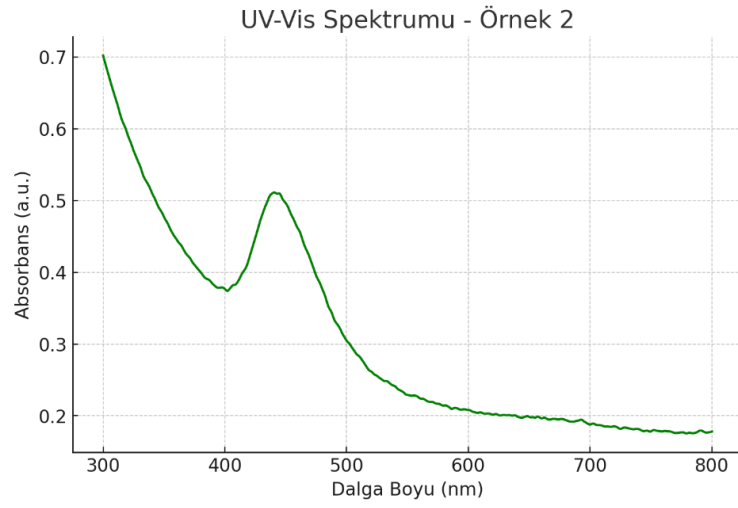
Şekil 4.15 a) Örnek 1'in (AgNO_3 içeren PVP/ODA-MMT) ışınlanmasından önceki UV-Vis spektrumu, b) Mavi LED ışınlanmasından sonra Örnek 1: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT, Örnek 2: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA ve Örnek 3: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT'nin UV spektrumları

Şekil 4.15 a'da, mavi LED (450 nm) ışınlaması öncesi ve sonrasında elde edilen UV-Vis spektrumları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Işınlama öncesinde örneğin spektrumu, 300–800 nm aralığında düşük absorbans değerleri göstermekte olup belirgin bir yüzey plazmon rezonansı (LSPR) piki gözlenmemektedir. Bu durum, polimer matris içerisinde Ag^+ iyonlarının indirgenmemiş olduğunu göstermektedir.

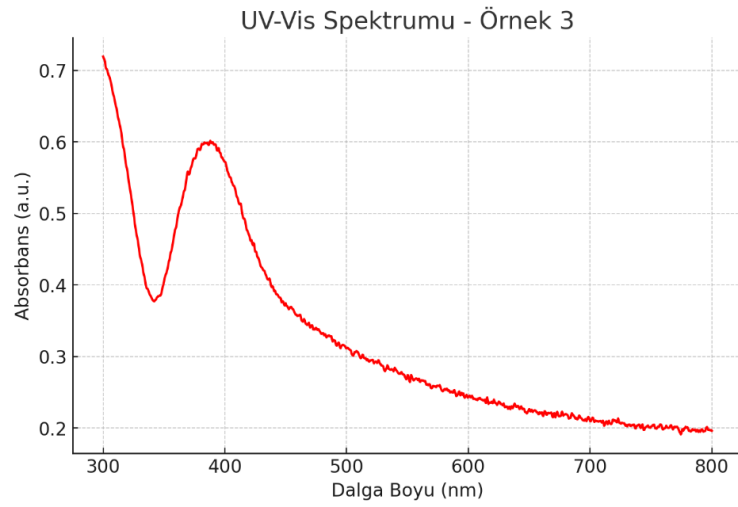
Mavi LED ışınlanmasından sonra ise, UV-Vis spektrumunda 390–450 nm civarında belirgin bir LSPR piki ortaya çıkmıştır. Bu pik, polimerik matris içerisinde Ag^+ iyonlarının Ag^0 nanoparçacıklara indirgenmesi sonucunda gelişen yüzey plazmon rezonansı etkisine karşılık gelmektedir. Literatürde de bildirildiği üzere, bu tip piklerin oluşumu, polimer matris içerisinde AgNP oluşumunun gerçekleştiğinin açık bir göstergesidir [151]. Ayrıca, örneklerin renklerinin ışınlama sonrası açık şeffaf tonlardan koyu kahverengi ve gri renklere dönüşmesi, AgNP oluşumunu destekleyen görsel bir kanıt olarak değerlendirilmiştir. Mavi LED ışınlamasının, her üç örneğin matrisinde (PVP/ODA-MMT, PVP/ODA-MMT/MA ve CMC/MA/ODA-MMT) AgNP sentezini etkin şekilde tetiklediği ve UV-Vis spektral analizinin bu sürecin doğrulanmasında güçlü bir karakterizasyon yöntemi olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur [150].



Şekil 4.16 Örnek 1'in (Ag Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT) UV spektrumu (409 nm)



Şekil 4.17 Örnek 2'in (Ag Taşıyıcılı PVP/MA/ODA-MMT) UV spektrumu (441 nm)



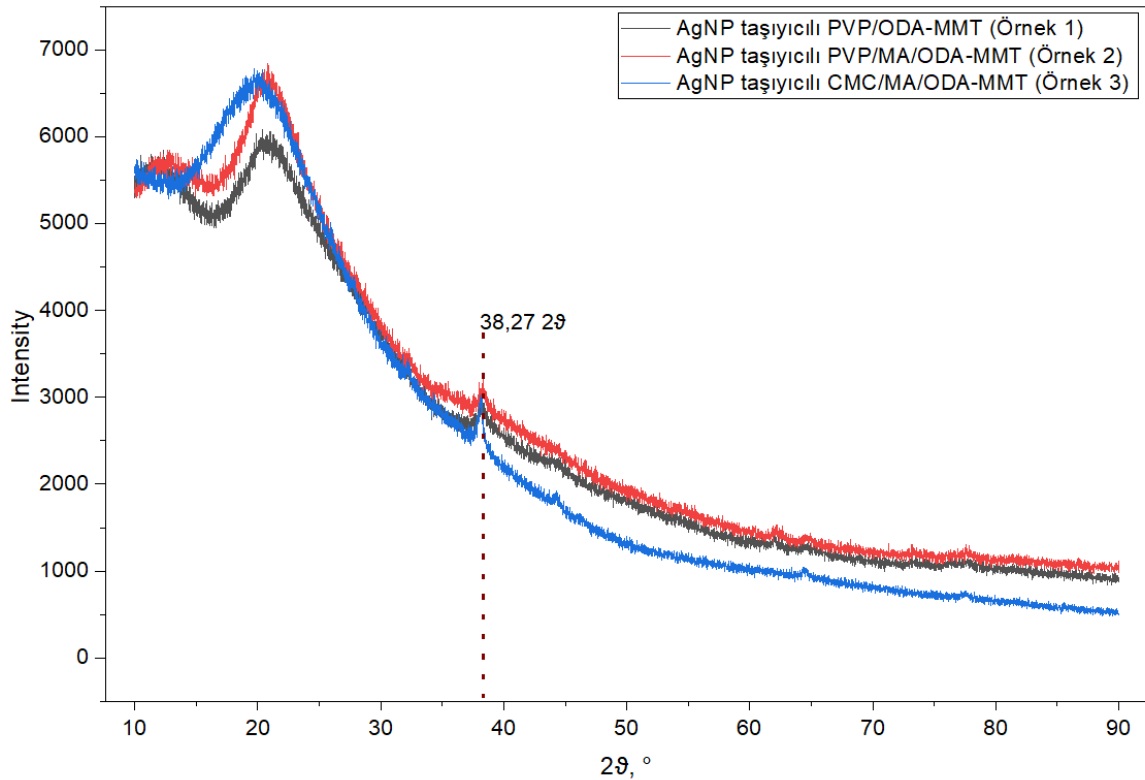
Şekil 4.18 Örnek 3'ün (Ag Taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT) UV spektrumu (391 nm)

Örneklerin optik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan UV-Vis spektroskopisi analizlerinde, LSPR pikleri partikül boyutuyla ilişkilendirilmiştir. Partikül boyutu küçüldükçe LSPR piki daha kısa dalga boylarına kaymakta ve daha keskin absorpsiyon bantları oluşturmaktadır. Buna karşılık, partikül boyutunun artması, piklerin daha uzun dalga boylarına kaymasına ve genişlemesine neden olmaktadır.

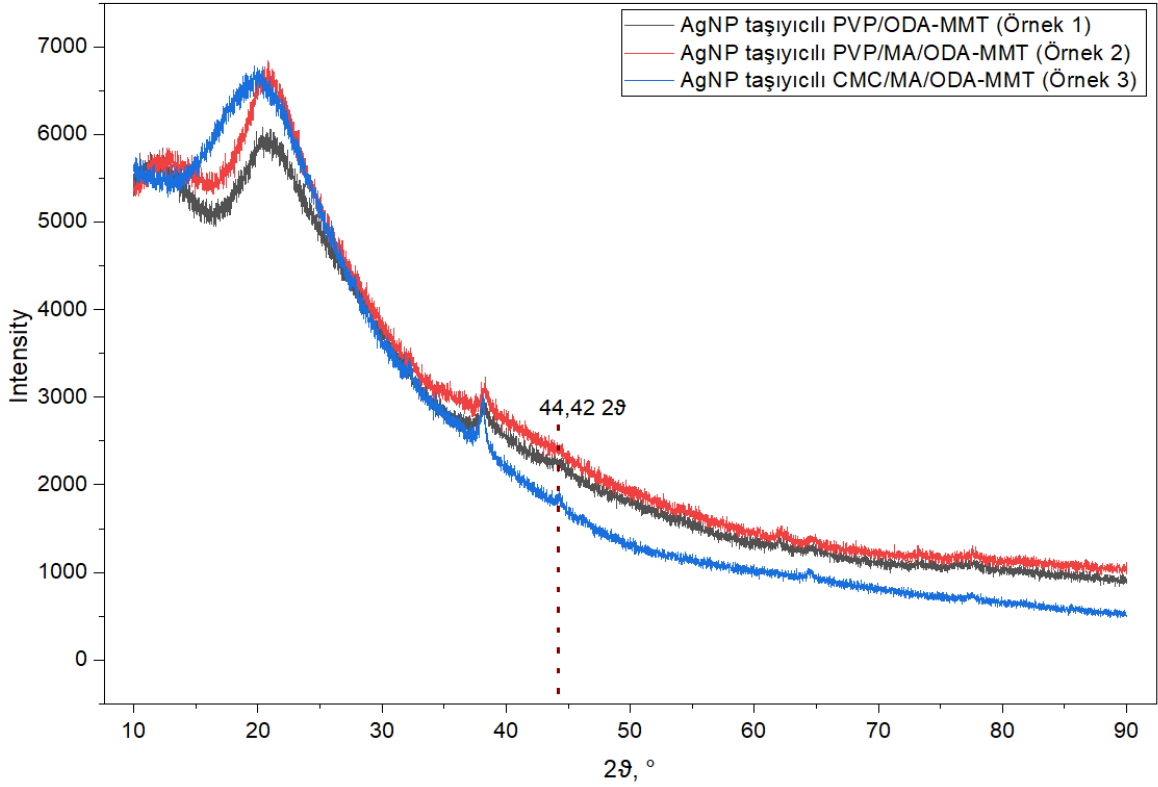
Her üç örnekte de LSPR pikleri 390–450 nm aralığında gözlenmiş olup, bu değerler görünür ışık bölgesinde plazmonik uyarılmanın mümkün olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, LED tabanlı görünür ışık sentez metodolojisinin etkinliğini ve elde edilen AgNP taşıyıcılı biyoyumlu nanokompozitlerin fotokatalitik ve antibakteriyel uygulamalara uygunluğunu doğrulamaktadır [152], [153].

4.2.4. XRD Analizi

AgNP içeren sıvı formdaki biyoyumlu nanokompozitlerin kristal yapılarının ve faz dağılımlarının belirlenmesi amacıyla XRD analizi yapılmıştır. Bu kapsamda örnekler öncelikle 40 °C’lik etüvde bir gece boyunca kurutularak toz forma dönüştürülmesi beklenmiş ardından XRD analizine tabi tutulmuştur. (Bkz. Bölüm 3.2 Örneklerin Karakterizasyon Teknikleri)



Şekil 4.19 20 ≈ 38,27° gözlenen XRD deseni



Şekil 4.20 $2\theta \approx 44,42^\circ$ gözlenen XRD deseni

AgNP içeren biyouyumlu nanokompozitlerin kristal faz dağılımları XRD ile incelenmiş ve Şekil 4.19 ve Şekil 4.20’de görüldüğü üzere $2\theta \approx 38,27^\circ$ ve $44,42^\circ$ ’de gözlenen baskın pikler, gümüşün yüzey merkezli kübik (fcc) yapısına ait sırasıyla (111) ve (200) düzlemlerine karşılık gelerek AgNP oluşumunu doğrulamıştır (JCPDS 04-0783) [154]. Bazı örneklerde $62,03^\circ$ ve $73,5^\circ$ civarında ortaya çıkan ek paternler, literatürde polimer katkıları, kısmi indirgenme veya AgNO_3 kalıntıları ile ilişkilendirilmiştir. Debye–Scherrer denklemi ile $38,27^\circ$ piki üzerinden hesaplanan kristalit boyutu $\sim 12\text{--}15$ nm olup, literatürde bildirilen nanometrik AgNP değerleriyle uyumludur [155]. Sonuç olarak, XRD bulguları nanokompozitlerde fcc yapılı kristalin AgNP oluşumunu doğrularken, ikincil pikler sentez koşulları ve matris katkılarının faz dağılımına etkisini ortaya koymuştur.

4.3. Hücre Canlılık Testleri

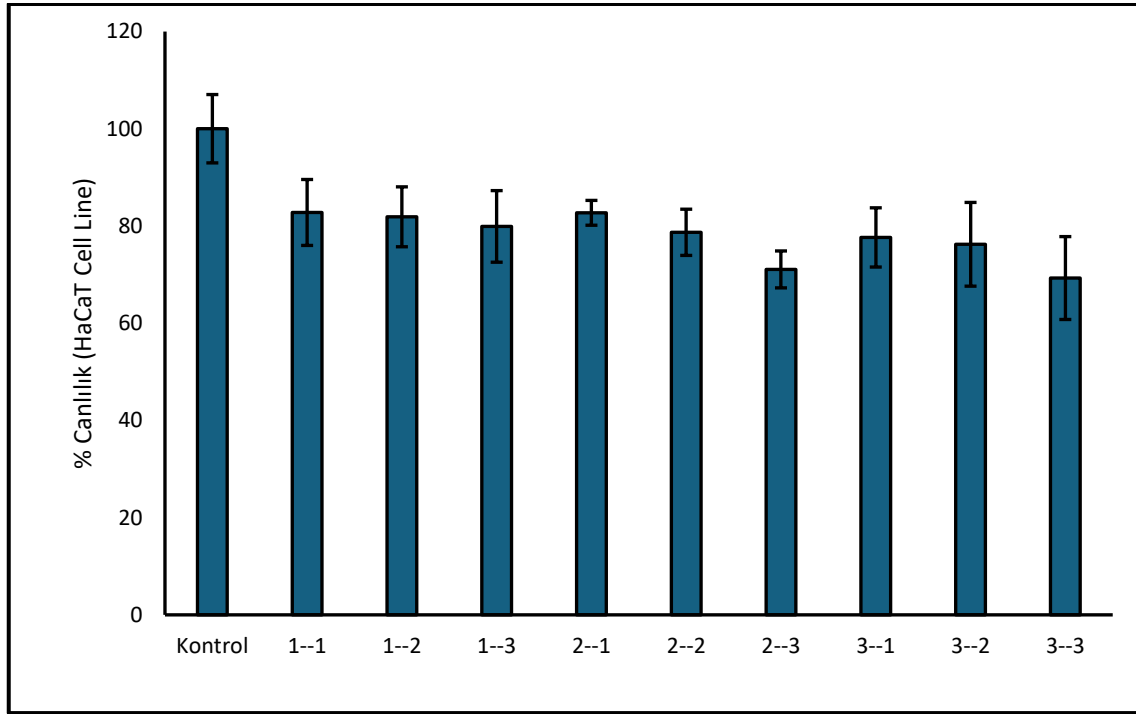
4.3.1. AgNP Kolloidal Çözelti Örneklerinin Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi

AgNP taşıyıcılı polimer esaslı üç farklı nanokompozit formülasyonun hücre canlılığı üzerindeki etkisi, yüzeye uygulanmadan önce sıvı halde test edilerek biyoyumluluk açısından ön değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Her bir örnekte toplam hacim 1 mL olup, toplam AgNO₃ miktarı 3 mg'dır. Stok çözeltiler kullanılmıştır. Bu çözeltilerin kolloid haldeki sitotoksik potansiyeli, HaCaT hücre hattı kullanılarak MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Şekil 4.11'de sunulan sonuçlara göre, kontrol grubuna kıyasla tüm örneklerde hücre canlılığında belirgin bir şekilde azalma görülmüştür. Sadece besiyeri ile inkübe edilen kontrol grubunun canlılığı %100 kabul edilerek, diğer gruptaki canlılık belirlenmiştir. Örnek 1 grubu varyantlarında hücre canlılığı %82 iken, Örnek 2 grubunda canlılık ortalama %78'dir. Örnek 3' e ait varyantlarda en düşük canlılık oranı saptanmıştır.

Tablo 4.2 AgNP taşıyıcılı biyoyumlu nanokompozitlerin kolloidal formdaki kompozitlerin hücre canlılığı

Örnek Numaraları	Örnek İsimleri	AgNP Konsantrasyonu (mg/ml)	% Canlılık
Kontrol	Kontrol	-	100,014±7,03
1--1	AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	82,785±6,78
1--2		0,75 mg/ml AgNP	81,890±6,16
1--3		0,375 mg/ml AgNP	79,913±7,37
2--1	AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA	1,5 mg/ml AgNP	82,713±2,56
2--2		1,5 mg/ml AgNP	78,701±4,75
2--3		0,375 mg/ml AgNP	71,068±3,80
3--1	AgNP Taşıyıcılı CMC/ODA-MMT/MA	1,5 mg/ml AgNP	77,648±6,09
3--2		1,5 mg/ml AgNP	76,234±8,61
3--3		0,375 mg/ml AgNP	69,293±8,53



Şekil 4.21 AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT (1-1: 1,50 mg/mL; 1-2 0,75 mg/mL AgNO₃, 1-3: 0,375 mg/mL AgNO₃), AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA (2-1: 1,50 mg/mL; 2-2 0,75 mg/mL AgNO, 2-3: 0,375 mg/mL AgNO₃) ve AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT (1-1: 1,50 mg/mL; 1-2 0,75 mg/mL AgNO, 1-3: 0,375 mg/mL AgNO₃) kolloid çözeltilerinin sitotoksikite analizleri.

Bu test, kaplama öncesi kolloidal formların toksik potansiyelini ortaya koymak açısından önemlidir. Tüm kompozitlerin kolloidal çözeltilerinin hücre canlılığını ortalama %70'in üzerinde koruduğunu göstermektedir. Tüm kompozitlerin serbest formları ortalama %70'in üzerinde canlılık göstermiştir. Kullanılan kolloidal formların konsantrasyonu PMMA yüzeylerine kaplanan nanokompozit miktarına göre belirlenmiştir. Kolloidal çözelti ile kaplanmış yüzeyler arasında gözlenen sitotoksik farklar, ajanların immobilizasyonunun hücrelere doğrudan temasını sınırlandırdığını ve biyoyumluluğu arttırdığını göstermektedir. Bu farkın daha belirgin hale gelip gelmediğini, yüzeye kaplanmış formlar üzerinde yapılacak olan hücre canlılık testleri ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. (Bkz. Bölüm 4.3.2)

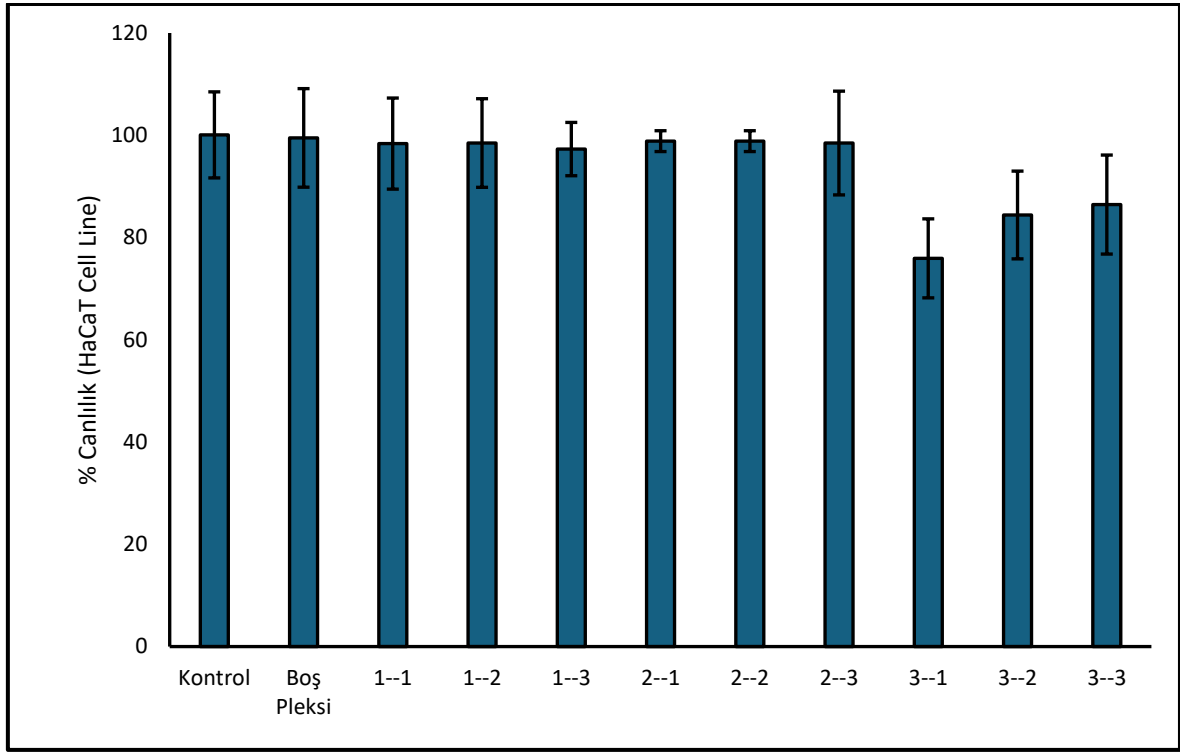
4.3.2. MTT Yöntemi ile HaCaT Hücre Hattında Hücresel Canlılık Analizi

EDS analizlerinden elde edilen gümüş oranları temel alınarak, her bir örnek için MTT analizine uygun olacak şekilde kontrollü seyreltilmiş ekstraktlar hazırlanmıştır. Böylece, hücre canlılığı testlerinde kullanılan örneklerin içerdiği AgNP miktarları yüzeyde tespit edilen değerlerle orantılı olacak şekilde standardize edilmiştir. Yapılan MTT analizlerinde, gümüş nanopartikül oranı arttıkça HaCaT hücre canlılığında anlamlı bir azalma

gözlemlenmiştir. 3-1 numaralı PMMA örneği $75,926 \pm 5,62$ canlılık gösterirken, 3-3 numaralı örneğindeki canlılık $86,444 \pm 1,82$ olarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Sonuçlar ISO 10993-5 standardında belirtilen sitotoksosite kabul kriterleri ile karşılaştırılmıştır. Standartta göre %70'in altında hücre canlılığı tespit eden örnekler sitotoksik, üzerindeki ise biyoyumlu kabul edilmektedir. Çalışmada kullanılan örnekler ortalama %75'in üzerinde canlılık göstermiştir. Nanokompozitlerin koloidal formlarının toksisitesi HaCaT hücrelerine daha yüksektir. Bir yüzeye kaplama yapılması toksisiteyi azaltmaktadır. 1-3 numaralı örneğin serbest formu $79,913 \pm 7,37$ canlılık gösterirken, aynı kompozit PMMA yüzeye kaplandığında toksisitesi $97,296 \pm 5,21$ olarak belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Tablo 4.3 AgNP taşıyıcılı biyoyumlu nanokompozitler ile kaplanan PMMA örneklerine ait sitotoksosite sonuçları

Örnek Numaraları	Örnek İsimleri	AgNP Konsantrasyonu (mg/ml)	% Canlılık
Kontrol	Kontrol	-	$100,074 \pm 8,42$
Boş Pleksi	Boş Pleksi	-	$99,481 \pm 9,64$
1--1	AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	$98,370 \pm 8,91$
1--2		0,75 mg/ml AgNP	$98,481 \pm 8,67$
1--3		0,375 mg/ml AgNP	$97,296 \pm 5,21$
2--1	AgNP Taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA	1,5 mg/ml AgNP	$94,675 \pm 1,39$
2--2		1,5 mg/ml AgNP	$98,852 \pm 2,04$
2--3		0,375 mg/ml AgNP	$93,037 \pm 5,22$
3--1	AgNP Taşıyıcılı CMC/ODA-MMT/MA	1,5 mg/ml AgNP	$75,926 \pm 5,62$
3--2		1,5 mg/ml AgNP	$84,407 \pm 6,65$
3--3		0,375 mg/ml AgNP	$86,444 \pm 1,82$



Şekil 4.22 PMMA'ya kaplanmış olan AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT (1-1: 1,50 mg/ml; 1-2: 0,75 mg/ml; 1-3: 0,375 mg/ml AgNO₃), AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA (2-1: 1,50 mg/ml; 2-2: 0,75 mg/ml; 2-3: 0,375 mg/ml AgNO₃) ve AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT (3-1: 1,50 mg/ml; 3-2: 0,75 mg/ml; 3-3: 0,355 mg/ml AgNO₃) örneklerin MTT Analizi

Sonuçlar, gümüş içeriği arttıkça yüzeye geçen iyonik gümüş miktarının da arttığını ve bu durumun hücre canlılığı üzerinde hafif inhibisyon oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, tüm gruplar için canlılık oranlarının %70'in üzerinde olması, kaplanan yüzeylerin sitotoksik etki gösterdiğini ve biyoyumlu olduğunu desteklemektedir. ISO 10993-5 standardına göre kaplanan yüzeylerin sitotoksik olmadığını ve güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

İncelenen literatür çalışmalarında, yüzeye immobilize edilmiş AgNP'lerin kolloidal formlara kıyasla daha düşük sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Bunun temel nedeninin, gümüş iyonlarının salınım hızındaki farklılık olduğunu belirtmektedir. Gümüş iyonları kolloidal formda hücresel düzeyde daha güçlü bir sitotoksik etkiye sahip olup, oksidatif stres oluşturarak hücre zar bütünlüğünü bozmakta ve mitokondriyal aktiviteyi inhibe etmektedir [106]. Grade et al., (2012) [156] AgNP'leri agar hidrojel matrisi içerisine immobilize edilmesinin, kolloidal süspansiyonlara kıyasla salınım davranışına ve biyoyumluluğa etkilerini incelemiştir. Çalışma bulguları, hidrojel matrisi kullanılarak sabitlenen AgNP'lerin kontrolsüz dağılmayı ve gümüş iyonlarının hızlı salınımını belirgin biçimde sınırladığını ortaya koymuştur. Araştırmacılar, bu kontrollü salınım

mekanizmasının fibroblast hücrelerinde toksisiteyi anlamlı düzeyde azalttığını; buna karşın, kolloidal süspansiyonlarda hızlı iyon salınımı nedeniyle sitotoksite eşiğinin çok daha kısa sürede aşıldığını bildirmiştir.

4.4. Canlı/Ölü Hücre Boyaması ile Kaplanmış Yüzeylerin Antibakteriyel Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Bu bölümde, farklı polimer matrisler içinde formüle edilmiş AgNP taşıyıcılı kaplamalar, PMMA yüzeylerine uygulanmış ve bu yüzeylerde oluşan biyofilmler incelenmiştir. Biyofilm yapılarının analizi için canlı/ölü hücre boyama yöntemi kullanılmış, ardından lazer taramalı konfokal mikroskop (CLSM) ile 10 µm ölçekli görüntüler elde edilmiştir. Kaplama işlemi sonrasında numunelere, steril koşullar altında bakteri inokülasyonu yapılmış ve petri kapları içerisinde 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresinin tamamlanmasının ardından, canlı/ölü hücre boyama işlemi uygulanmış numuneler görüntüleme için mikroskop platformuna yerleştirilmiştir. Görüntüleme sırasında, metabolik olarak aktif canlı hücreler yeşil floresan sinyali ile, membran bütünlüğü bozulmuş ölü hücreler ise kırmızı floresan sinyali ile tespit edilmiştir.

4.4.1. Kontrol Grubu Biyofilm Örneklerinde Canlı/Ölü Hücre Dağılımının Analiz Edilmesi

CLSM ile elde edilen görüntüler, yüzeylerin antibakteriyel etkinliğini değerlendirmek amacıyla MATLAB yazılımı ile analiz edilmiş, sayısallaştırılmış ve elde edilen veriler Tablo 4.4’te sunulmuştur. İstatistiksel değerlendirmeler Bölüm 4.4.1.1’de verilmiştir.

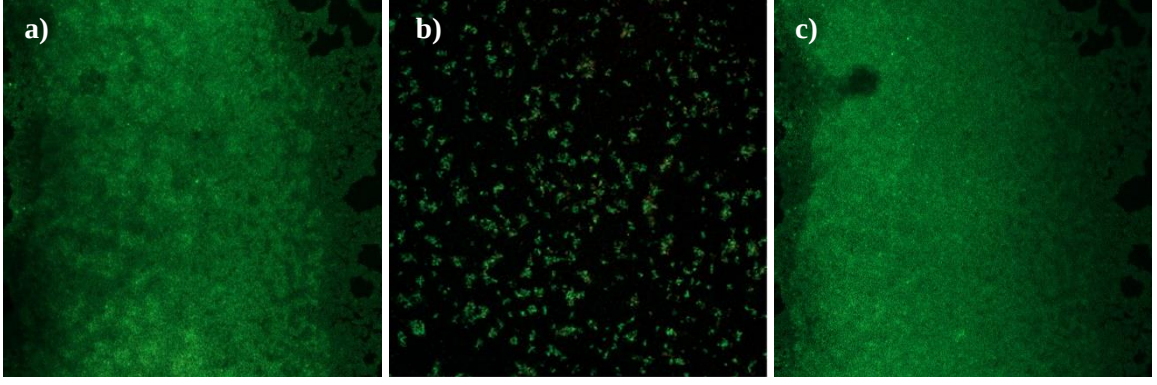
Kontrol grubu örneklerinde Şekil 4.23 (a–c), sırasıyla a) *S. aureus* (ATCC 29213), b) *S. epidermidis* (ATCC 12228) ve c) *E. faecalis* (ATCC 29212) suşlarının PMMA yüzeyler üzerindeki biyofilmleri gözlemlenmiştir. Görsel inceleme sonucunda:

a) (*S. aureus*): Yoğun yeşil sinyal, düşük kırmızı sinyal yalnızca ortada dağınık olarak görünmektedir.

b) (*S. epidermidis*): Yeşil sinyal yoğunluğu baskın, kırmızı sinyal görünmemektedir.

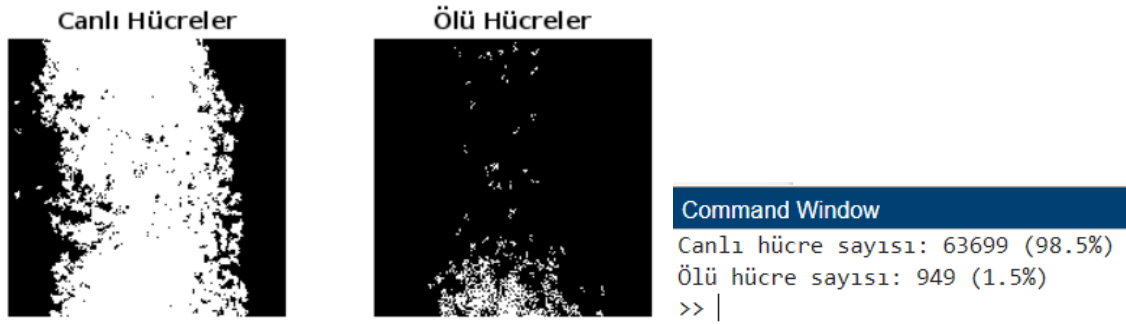
c) (*E. faecalis*): Yeşil sinyal oldukça yüksek, kırmızı sinyal ise görünmemektedir.

Yeşil floresan sinyalin baskın olması, hücre zar bütünlüğünün korunduğunu ve bakterilerin canlılığını sürdürdüğünü göstermektedir. Kırmızı sinyalin düşük seviyede olması ise, antibakteriyel etkinlik bulunmayan kontrol yüzeylerinde bakteri yaşamının devam ettiğini doğrulamaktadır.

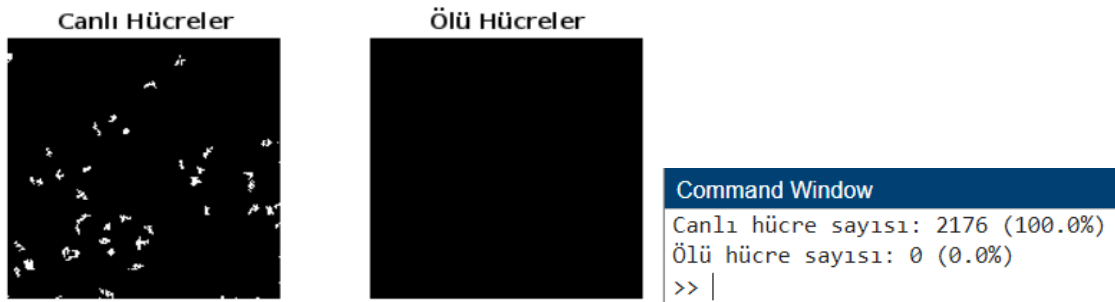


Şekil 4.23 Kontrol grubu örneklerinde; a) *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), b) *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) ve c) *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) suşlarına ait PMMA yüzeylerindeki biyofilm oluşumları

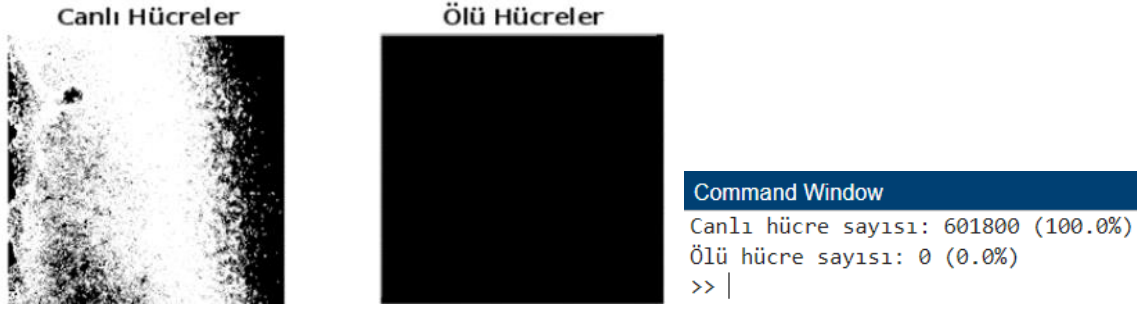
Görsellerde yeşil (canlı hücreler) ve kırmızı (ölü hücreler) piksel yoğunlukları Matlab üzerinden maskeleme yöntemi ile görselleştirilmiştir. Canlı/ölü hücre oranları ayrı ayrı hesaplanmış; toplam piksel sayısına oranlanarak yüzdeleri belirlenmiştir. Bu sayısal analiz sonuçları Tablo 4.4’te sunulmuştur.



Şekil 4.24 Şekil 4.23 a’da görülen biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.25 Şekil 4.23 b’de görülen biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.26 Şekil 4.23 c’de görülen biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)

Tablo 4.4 Şekil 4.13’te görülen biyofilmlerin % canlı/ ölü hücre analizi

Bakteri Türleri	Canlı %	Ölü %
<i>Staphylococcus aureus</i>	%98,5	%1,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	%100	%0
<i>Enterococcus faecalis</i>	%100	%0

Elde edilen veriler, kontrol grubu yüzeylerinde antibakteriyel etkinliğin bulunmadığını açıkça göstermektedir. *S. aureus* örneklerinde %98,5 oranında canlı hücre tespit edilmiş, yalnızca orta alt bölgelerde %1,5 seviyesinde kırmızı floresan sinyal gözlemlenmiştir. *S. epidermidis* ve *E. faecalis* örneklerinde ise kırmızı sinyal tespit edilmemiş, tüm hücrelerin canlı olduğu belirlenmiştir.

Görsel inceleme bulguları ile MATLAB analiz sonuçları uyumlu olup, yeşil floresan sinyalin baskınlığı hücre zar bütünlüğünün korunduğunu, kırmızı sinyalin yok denecek kadar az olması ise bakteriyel canlılığın yüksek seviyede sürdüğünü doğrulamaktadır.

4.4.2. *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) Suşunun Biyofilm Örneklerinde Canlı/Ölü Hücre Dağılımı

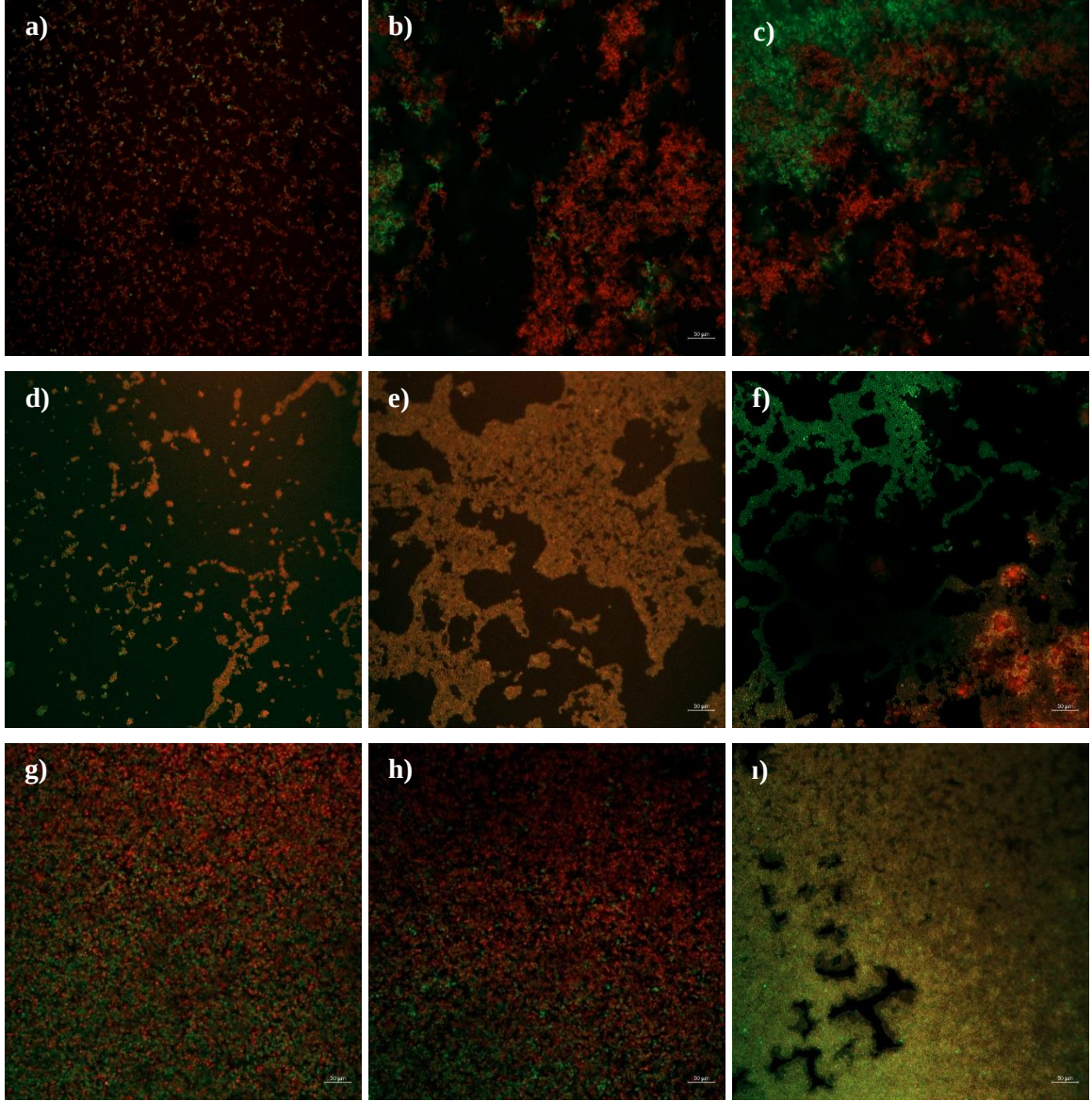
İnkübasyonu tamamlanan örnekler, 10 µm ölçekli skala referansı kullanılarak lazer taramalı konfokal mikroskop ile görüntülenmiştir. Görseller, farklı kaplama tipleri ve AgNO₃ konsantrasyonlarına göre sınıflandırılmıştır:

Örnek 1 (AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT kaplama): a (S1c1), b (S1c2), c (S1c3)

Örnek 2 (AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA kaplama): d (S2c1), e (S2c2), f (S2c3)

Örnek 3 (AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplama): g (S3c1), h (S3c2), i (S3c3)

Her örnek grubunda sırasıyla 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP kullanılmıştır.

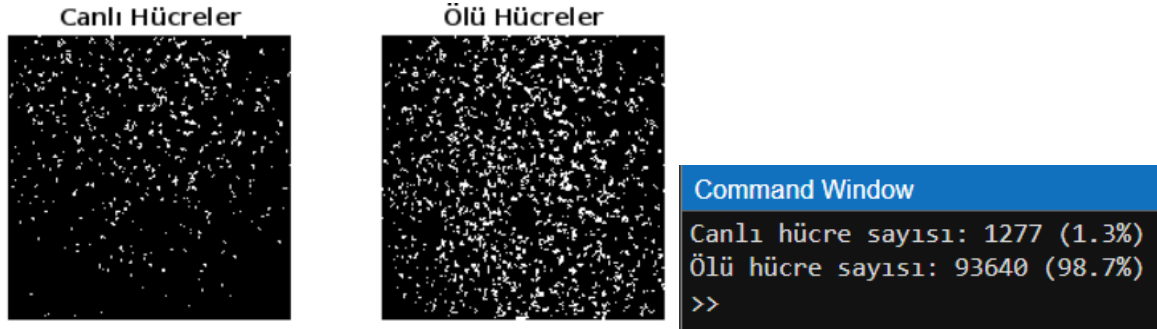


Şekil 4.27 *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) biyofilmlerinde, farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplamaların 1,5 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücre dağılımının CLSM görüntüleri. a–c: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT; d–f: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA; g–i: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplamalar.

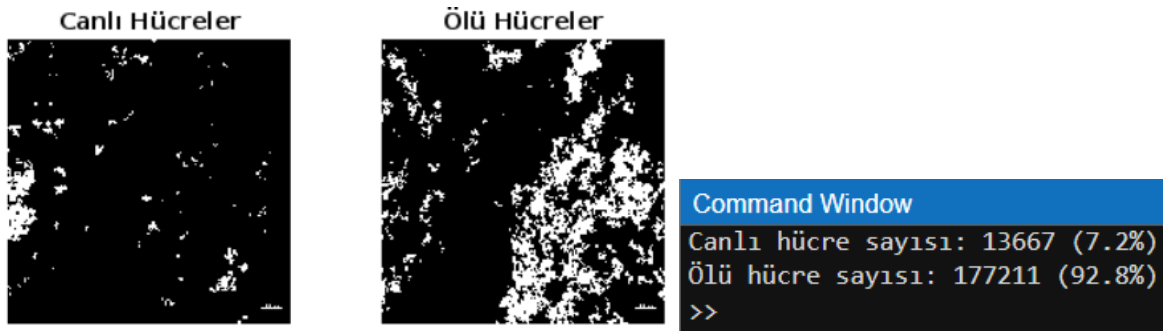
Şekil 4.27’te görüldüğü üzere tüm kaplama tiplerinde yüksek gümüş konsantrasyonunda (1,5 mg AgNP) kırmızı floresan sinyali baskın yapıda gözlemlenmiş olup, bu biyofilm yapılarında hücre ölüm oranı yüksek bulunmuştur. Orta konsantrasyonda (0,75 mg AgNP) yeşil floresan sinyalinde artış gözlenmiş, bu durum hücre canlılığının kısmen geri döndüğünü göstermektedir. En düşük konsantrasyonda (0,375 mg AgNP) ise yeşil floresans baskın hale gelmiş, hücre canlılığı tüm kaplama örneklerinde maksimum seviyeye ulaşmıştır.

Kaplamaların biyofilm üzerindeki etkisi, CLSM görüntülerinin MATLAB ortamında işlenmesiyle kantitatif olarak belirlenmiştir. Görsellerde yeşil (canlı) ve kırmızı (ölü)

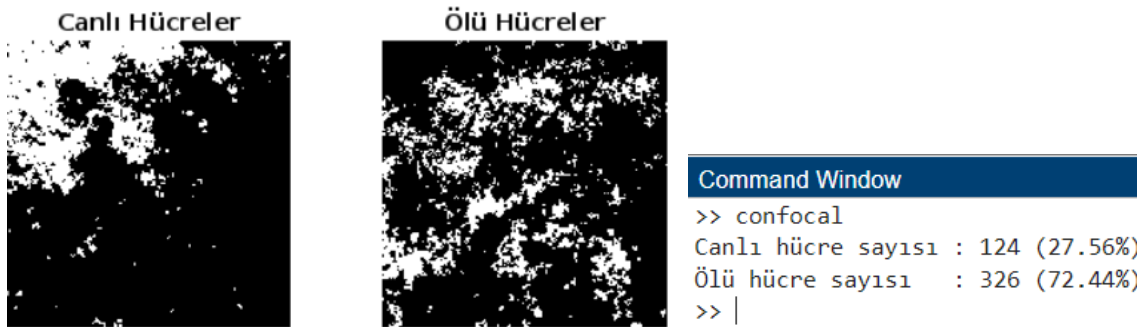
kanallar ayrıştırılarak kontrast iyileştirme, gürültü azaltma ve eşikleme (Otsu yöntemi) uygulanmış, ardından piksel alanı analizi ile canlı/ölü hücre yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen kantitatif veriler, farklı kaplama tipleri ve AgNP konsantrasyonları için Tablo 4.5’te sunulmuştur.



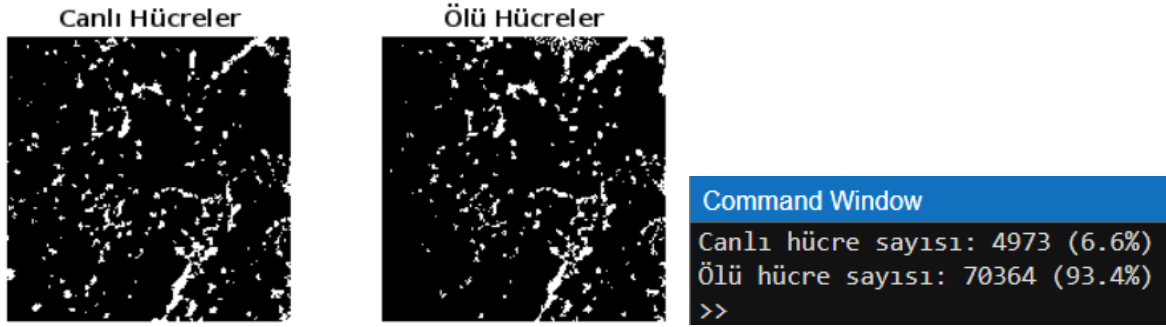
Şekil 4.28 Şekil 4.27 a’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



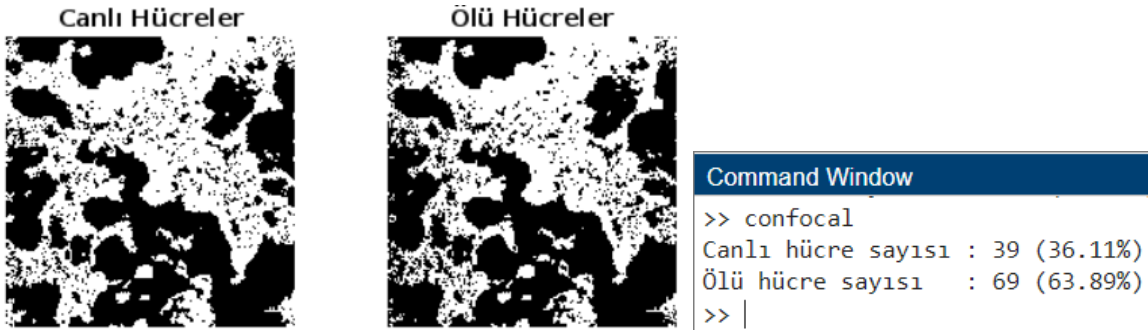
Şekil 4.29 Şekil 4.27 b’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



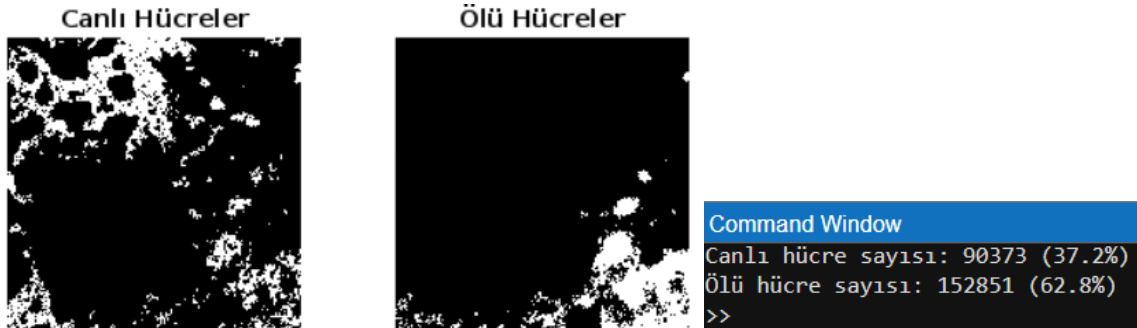
Şekil 4.30 Şekil 4.27 c’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



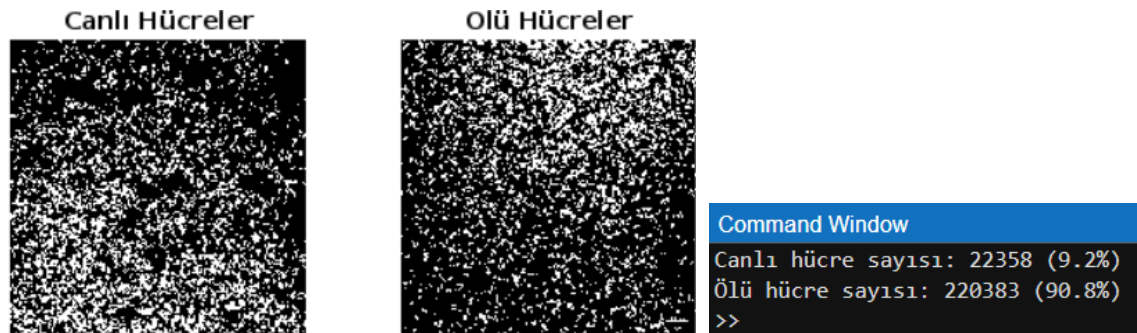
Şekil 4.31 Şekil 4.27 d’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



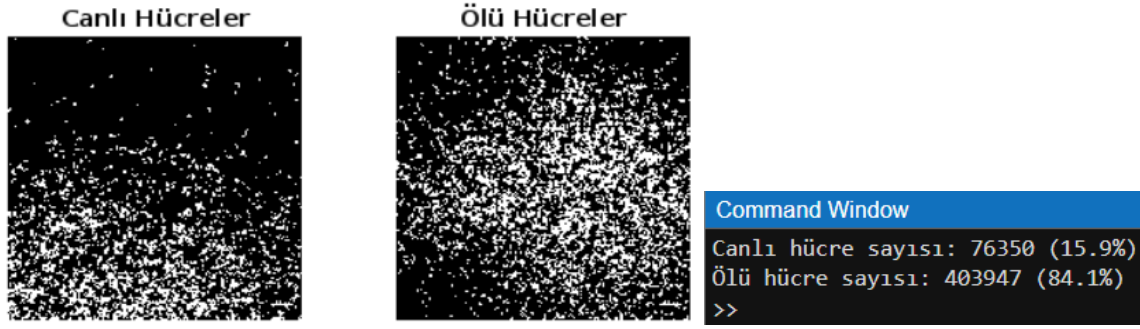
Şekil 4.32 Şekil 4.27 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



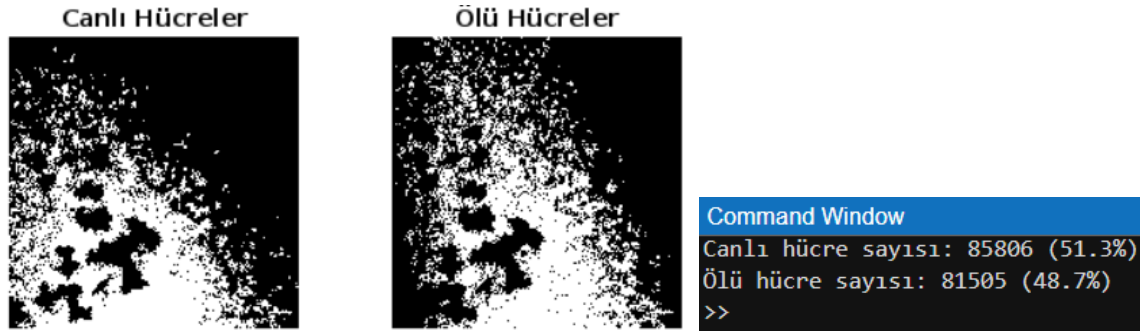
Şekil 4.33 Şekil 4.27 f’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.34 Şekil 4.27 g’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.35 Şekil 4.27 h’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.36 Şekil 4.27 ı’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)

Tablo 4.5 Şekil 4.27’te görülen kaplama uygulanmış yüzeyler üzerinde oluşan biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi

Örnek Türleri	Örnek Tipleri	Gümüş miktarı	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	
			Canlı %	Ölü %
S1c1	AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	%1,3	%98,7
S1c2		0,75 mg/ml AgNP	%7,2	%92,8
S1c3		0,375 mg/ml AgNP	%27,56	%72,44
S2c1	AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA	1,5 mg/ml AgNP	%6,6	%93,4
S2c2		0,75 mg/ml AgNP	%36,11	%63,89
S2c3		0,375 mg/ml AgNP	%37,2	%62,8
S3c1	AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	%9,2	%90,8
S3c2		0,75 mg/ml AgNP	%15,9	%84,1
S3c3		0,375 mg/ml AgNP	%51,3	%48,7

MATLAB görüntü işleme analizi ile elde edilen veriler (Tablo 4.5), *S.aureus* biyofilmlerinde canlı ve ölü hücre oranlarının gümüş konsantrasyonu ve kaplama tipine bağlı olarak belirgin şekilde değiştiğini göstermektedir. En yüksek bakterisidal etki, AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT kaplama ve 1,5 mg AgNP içeren S1c1 örneğinde gözlenmiş olup,

bu örnekte ölü hücre oranı %98,7 olarak belirlenmiştir. PVP'nin hidrofilik yapısı ve düşük bariyer direnci, AgNP'lerin matriks içinde homojen dağılmasını ve gümüş iyonlarının hızlı salınımını kolaylaştırarak kısa sürede yüksek hücre ölümüne yol açmıştır [157], [158].

Orta konsantrasyonda (0,75 mg AgNP) özellikle S2c2 (%36,11 canlı) ve S2c3 (%37,2 canlı) örneklerinde, S1c2'ye (%7,2 canlı) kıyasla daha yüksek canlı hücre oranı tespit edilmiştir. Bu durum, çok bileşenli kaplama matrislerinde iyon salınımının daha yavaş gerçekleşmesi ve bakterisidal etkinin azalması ile açıklanabilir.

En düşük gümüş konsantrasyonunda (0,375 mg AgNP) ise en yüksek canlı hücre oranı AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplamalı S3c3 örneğinde (%51,3) elde edilmiştir. Bu durum, kaplama matriksinin yapısal özelliklerinin ve Ag⁺ iyonu salınım kinetiğinin birleşik etkisiyle açıklanabilir. Matriksin bileşiminde yer alan CMC ve MA polimerleri, yüksek hidrofilik karakterleri sayesinde su moleküllerini absorbe ederek gümüş iyonlarının salınımını modüle edebilmekte, polimer zincirleri arasında yer alan hidrojen bağları ve çapraz bağlanma bölgeleri iyon difüzyonunu yavaşlatmaktadır [159], [160].

Literatür incelendiğinde, AgNP'lerin Gram-pozitif bakterilere karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MIC) değerleri, planktonik *S. aureus* hücreleri için çoğunlukla 1–5 µg/mL aralığında olduğu görülmüştür [161]. Ancak biyofilm formunda bu değer, EPS bariyeri nedeniyle genellikle 5–10 kat artmaktadır. EPS matriksi, polisakkaritler, proteinler ve DNA'dan oluşarak Ag⁺ iyonlarının hücre zarına ulaşmasını kısmen engeller ve iyonların bağlanarak etkisizleşmesine neden olur [162]. *S. aureus*, Gram-pozitif, katalaz ve koagülaz pozitif, küresel şekilli bir bakteridir. Kalın peptidoglikan tabakası ve teiktoik asitler, çevresel streslere ve bazı antibiyotiklere direncini artırır. Biyofilm oluşturma yeteneği, polimerik matriks içinde korunma sağlayarak antimikrobiyal duyarlılığı azaltır [163], [164].

Kalishwaralal et al. (2010) tarafından yapılan çalışmada, *S. aureus* ve *S. epidermidis*'in kolloidal formdaki biyo-film-lerinde AgNP uygulamasının bakteri canlılığını konsantrasyona bağlı olarak azalttığı, ancak düşük dozlarda (100 nM (yaklaşık 10 µg/mL)) biyofilm yapısının kısmen korunduğu belirtilmiştir. Düşük AgNP konsantrasyonlarında (100 nM (yaklaşık 10 µg/mL)) biyofilm metabolik aktivitesinin sürdüğünü, yüksek konsantrasyonlarda ise >%90 oranında canlılık kaybı olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada kullanılan gümüş nanopartiküller (AgNP), kolloidal süspansiyon formunda sentezlenmiş olup, biyofilm-ler üzerine doğrudan uygulanmıştır [165]. Bu yöntem, nanopartiküllerin çözeltide serbest halde bulunması ve bakteri hücreleriyle doğrudan temas ederek iyon salınımı yapması esasına dayanmaktadır. Kolloidal form, hızlı bir etki başlangıcı sağlayabilmekle birlikte, partiküllerin zamanla aglomerasyon eğilimi göstermesi ve yüzeyde

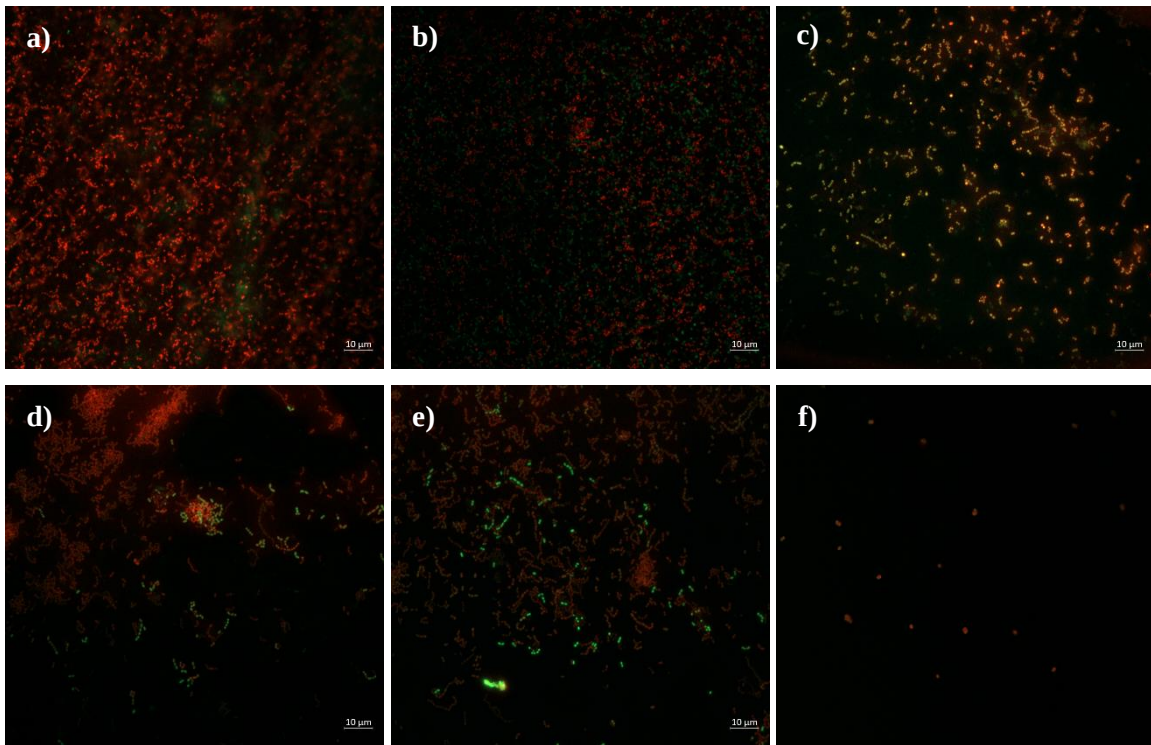
homojen dağılımın kontrolsüz olması gibi sınırlılıklara sahiptir.

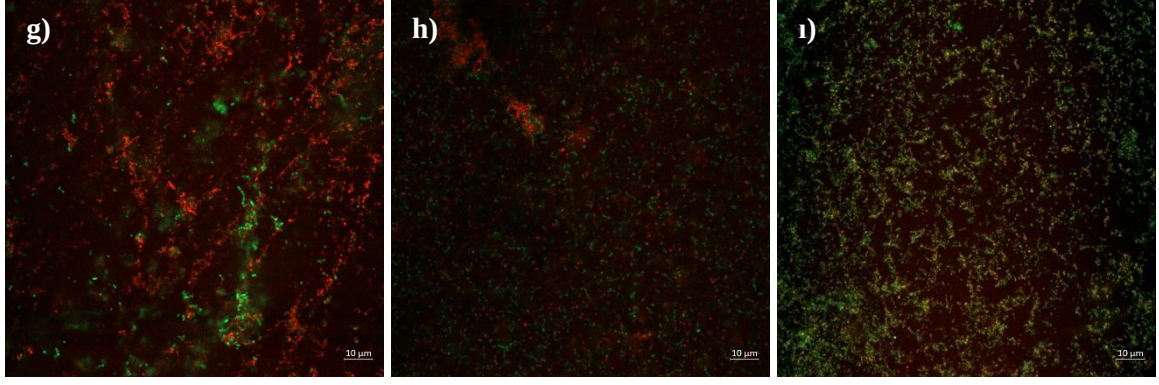
Bu çalışmada elde edilen bulgular, PMMA üzerine kaplanan AgNP dozunun biyofilm içerisindeki antibakteriyel etkinlikte kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Özellikle kaplanan yüzeylerdeki gümüş nanopartikül miktarı azaldıkça, yüzeye etki eden iyon yoğunluğu da düşmekte ve buna bağlı olarak bakterisidal etki zayıflamaktadır.

4.4.3. *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) Suşunun Biyofilm Örneklerinde Canlı/Ölü Hücre Dağılımı

S. epidermidis biyofilmlerine karşı üç farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplama (PVP/ODA-MMT, PVP/ODA-MMT/MA, CMC/MA/ODA-MMT) 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında CLSM ile incelenmiştir. 10 µm skala referansı ile örnekler şu şekilde sınıflandırılmıştır:

Örnek 1: a (S1c1), b (S1c2), c (S1c3), Örnek 2: d (S2c1), e (S2c2), f (S2c3), Örnek 3: g (S3c1), h (S3c2), ı (S3c3)

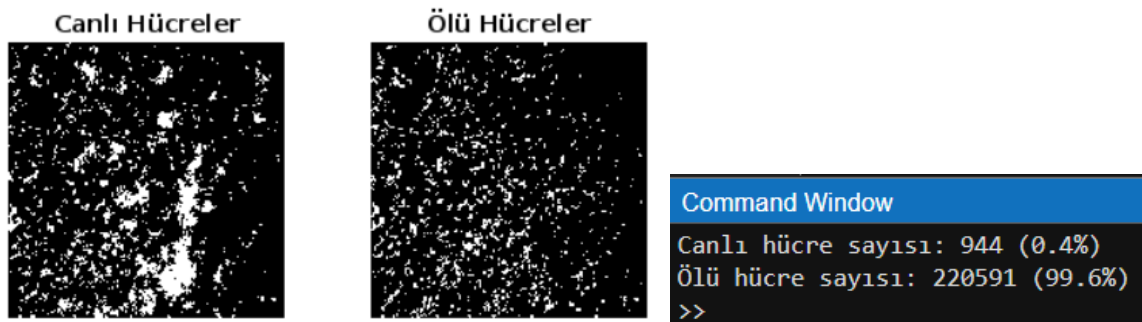




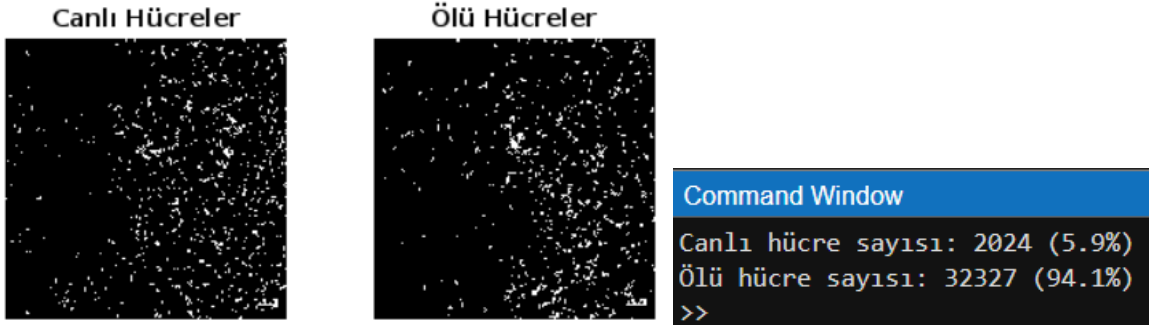
Şekil 4.37 *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) biyofilmlerinde, farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplamaların 1,5 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücre dağılımının CLSM görüntüleri. a–c: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT; d–f: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA; g–i: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplamalar.

Şekil 4.37’de görüldüğü üzere, tüm kaplama tiplerinde yüksek gümüş konsantrasyonunda (1,50 mg AgNP) (a-d-g) kırmızı floresans sinyali belirgin şekilde baskın olup, biyofilm yapı içerisinde hücre ölüm oranının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Orta düzey konsantrasyonda (0,75 mg AgNP) (b-e-h) yeşil floresans yoğunluğunda artış gözlenmiş, bu da hücre canlılığının kısmen korunduğunu göstermektedir. En düşük konsantrasyonda (0,375 mg AgNP) (e-f-i) ise yeşil floresans baskın hale gelmiş ve canlı hücre oranı tüm kaplama gruplarında maksimum seviyeye ulaşmıştır.

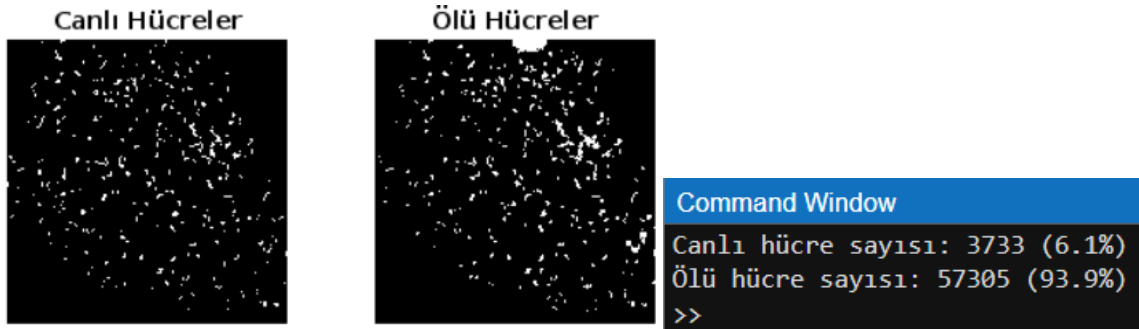
Biyofilmler üzerindeki kaplama etkisinin kantitatif değerlendirilmesi, CLSM görüntülerinin MATLAB yazılımı ile analiz edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, görüntülerdeki yeşil ve kırmızı kanallar ayrı ayrı işlenmiş; kontrast artırma, gürültü giderme ve Otsu eşikleme algoritması uygulanmıştır. Daha sonra piksel tabanlı alan ölçümü yapılarak canlı ve ölü hücre yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen kantitatif sonuçlar, farklı kaplama türleri ve AgNP konsantrasyonlarına göre Tablo 4.6’da sunulmuştur ve sonuçlar karşılaştırılarak tartışılmıştır.



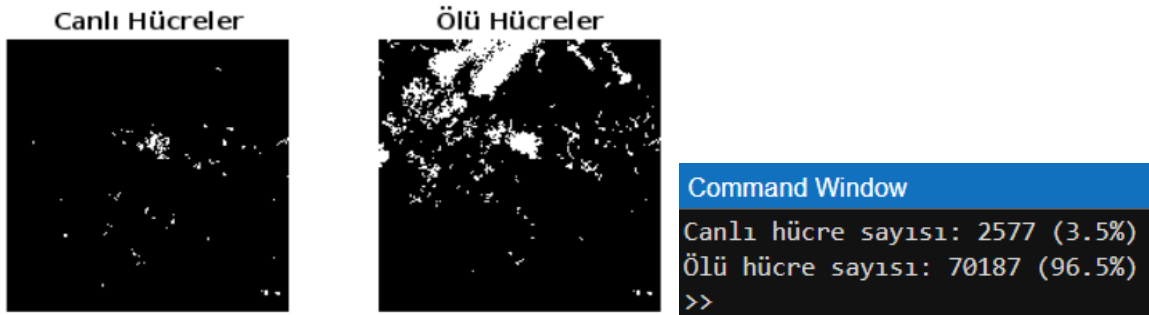
Şekil 4.38 Şekil 4.37 a’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



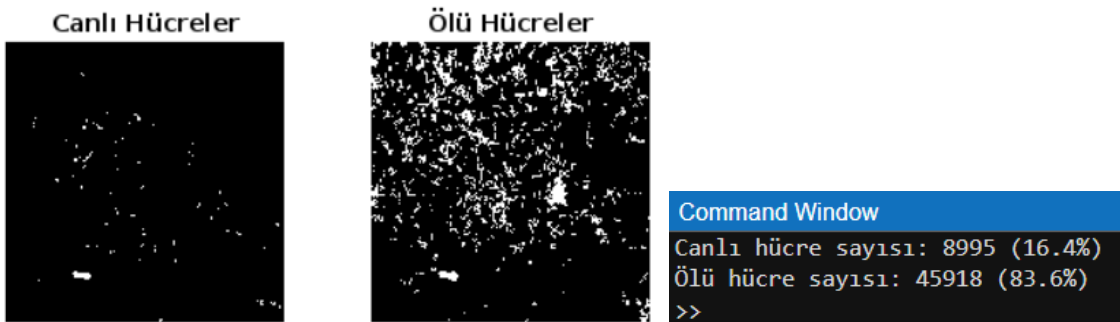
Şekil 4.39 Şekil 4.37 b’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



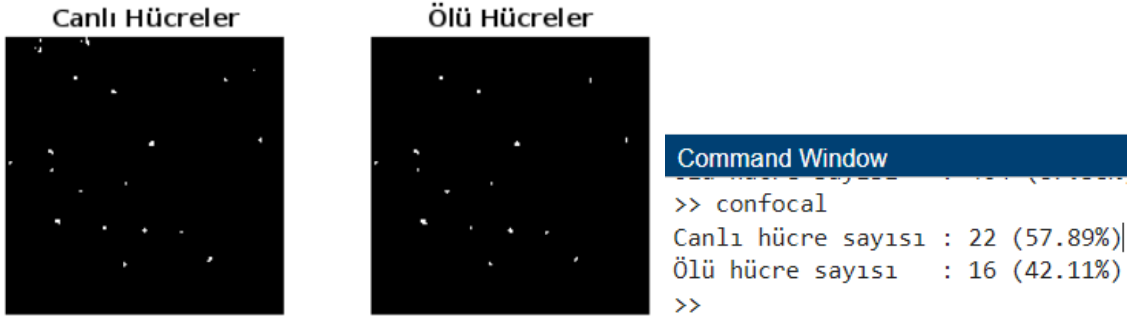
Şekil 4.40 Şekil 4.37 c’da görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



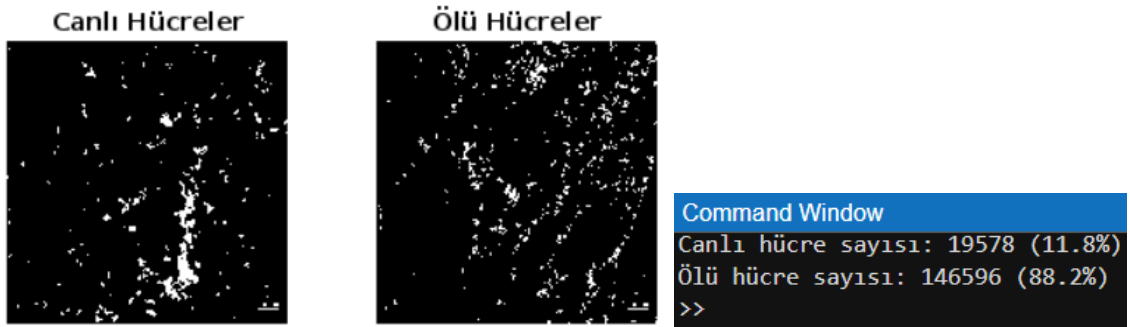
Şekil 4.41 Şekil 4.37 d’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



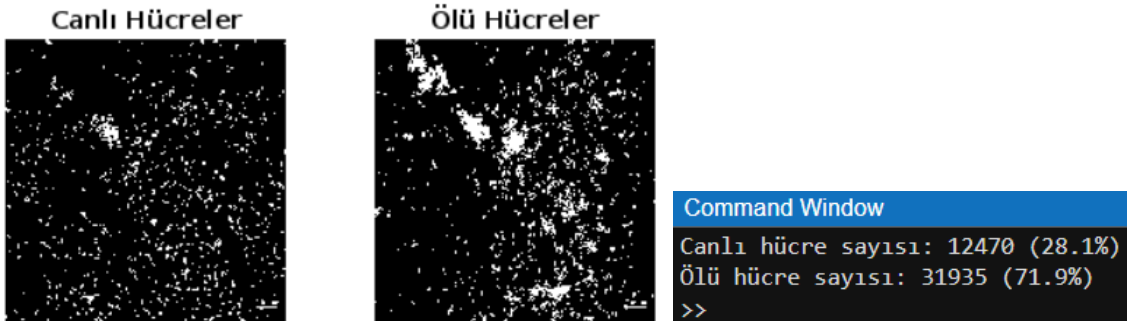
Şekil 4.42 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



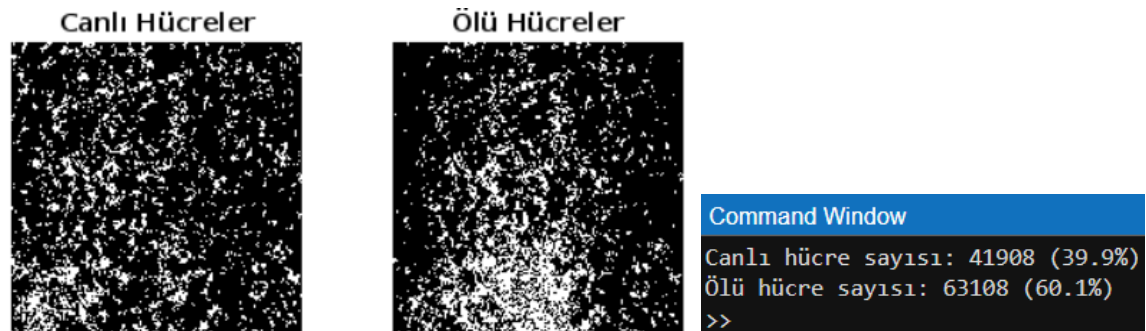
Şekil 4.43 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.44 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.45 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.46 Şekil 4.37 e’de görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)

Tablo 4.6 Şekil 4.37’te görülen kaplama üzerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi

Örnek Türleri	Örnek Tipleri	Gümüş miktarı	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	
			Canlı %	Ölü %
S1c1	AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	%0,4	%99,6
S1c2		0,75 mg/ml AgNP	%5,9	%94,1
S1c3		0,375 mg/ml AgNP	%6,1	%93,9
S2c1	AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA	1,5 mg/ml AgNP	%3,5	%96,5
S2c2		0,75 mg/ml AgNP	%16,4	%83,6
S2c3		0,375 mg/ml AgNP	%57,89	%42,11
S3c1	AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	%11,8	%88,2
S3c2		0,75 mg/ml AgNP	%28,1	%71,9
S3c3		0,375 mg/ml AgNP	%39,9	%60,1

Tablodan elde edilen veriler, *S. epidermidis* biyofilmlerinde gümüş nanopartikül konsantrasyonu ile hücre canlılığı arasındaki ilişkinin belirgin olduğunu ortaya koymaktadır. Yüksek konsantrasyonda (1,50 mg AgNP) tüm kaplama gruplarında ölü hücre oranı %88’in üzerinde olup, en yüksek bakterisidal etki %99,6 ölü hücre oranı ile AgNPtaşıyıcılı PVP/ODA-MMT kaplamasında (S1c1) gözlenmiştir. Bu durum, yüksek düzeyde salınan gümüş iyonlarının hücre membranı yapısını bozarak ve metabolik aktiviteleri inhibe ederek biyofilm yapısını neredeyse tamamen ortadan kaldırdığını göstermektedir.

Orta konsantrasyonda (0,75 mg AgNP) canlı hücre oranları belirgin şekilde artmış, ancak bu artış kaplama tipine göre farklılık göstermiştir. Özellikle AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA kaplamasında (S2c2, %16,4 canlı) ve AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplamasında (S3c2, %28,1 canlı) hücre canlılığı yüksek konsantrasyona kıyasla anlamlı derecede yükselmiştir. Bu durum, daha düşük iyon salınımının biyofilm içerisindeki hücrelerin bir kısmının hayatta kalmasına olanak tanıdığını düşündürmektedir.

En düşük konsantrasyonlarda (0,375 mg AgNP) bazı gruplarda hücre canlılığı maksimum seviyeye ulaşmıştır. Özellikle S2c3 (%57,89 canlı) ve S3c3 (%39,9 canlı) gruplarında gözlenen yüksek canlılık oranı, düşük iyon salınımının bakterisidal etkiyi sınırladığını göstermektedir. Ancak S1c3’te (%6,1 canlı) düşük konsantrasyona rağmen canlılık oranının düşük kalması, PVP/ODA-MMT kaplamasının düşük dozlarda dahi etkin gümüş salınımı yapabildiğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak, gümüş konsantrasyonu ile hücre ölüm oranı arasında pozitif bir korelasyon, kaplama tipi ile canlılık düzeyi arasında ise belirgin bir farklılık bulunmaktadır. Bu bulgular, kaplama bileşiminin gümüş salınım kinetiği üzerinde doğrudan etkili olduğunu ve dolayısıyla biyofilm inhibisyon seviyesini belirlediğini göstermektedir.

Elde edilen veriler, gümüş konsantrasyonunun *S. epidermidis* biyofilm canlılığı üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Literatürde de benzer şekilde, yüksek konsantrasyonlarda (>1 mg/mL eşdeğer Ag^+ salınımı) gümüş nanoparçacıkların *S. epidermidis* biyofilmlerinde %90'dan fazla hücre ölümüne yol açtığı, düşük konsantrasyonlarda ise biyofilm yapısının kısmen korunduğu bildirilmektedir [165].

Çalışmamızda gözlenen, özellikle düşük konsantrasyonlarda (0,375 mg AgNO_3) canlı hücre oranının yüksek olması, Lara et al. (2010) tarafından da benzer şekilde rapor edilmiş, burada düşük iyon salınımının bakterisidal etkinliği sınırlandırdığı belirtilmiştir [166]. Ayrıca, kaplama tipine bağlı farklılıklar, gümüş salınım kinetiğinin biyofilm inhibisyon seviyesini belirlemede kritik bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır.

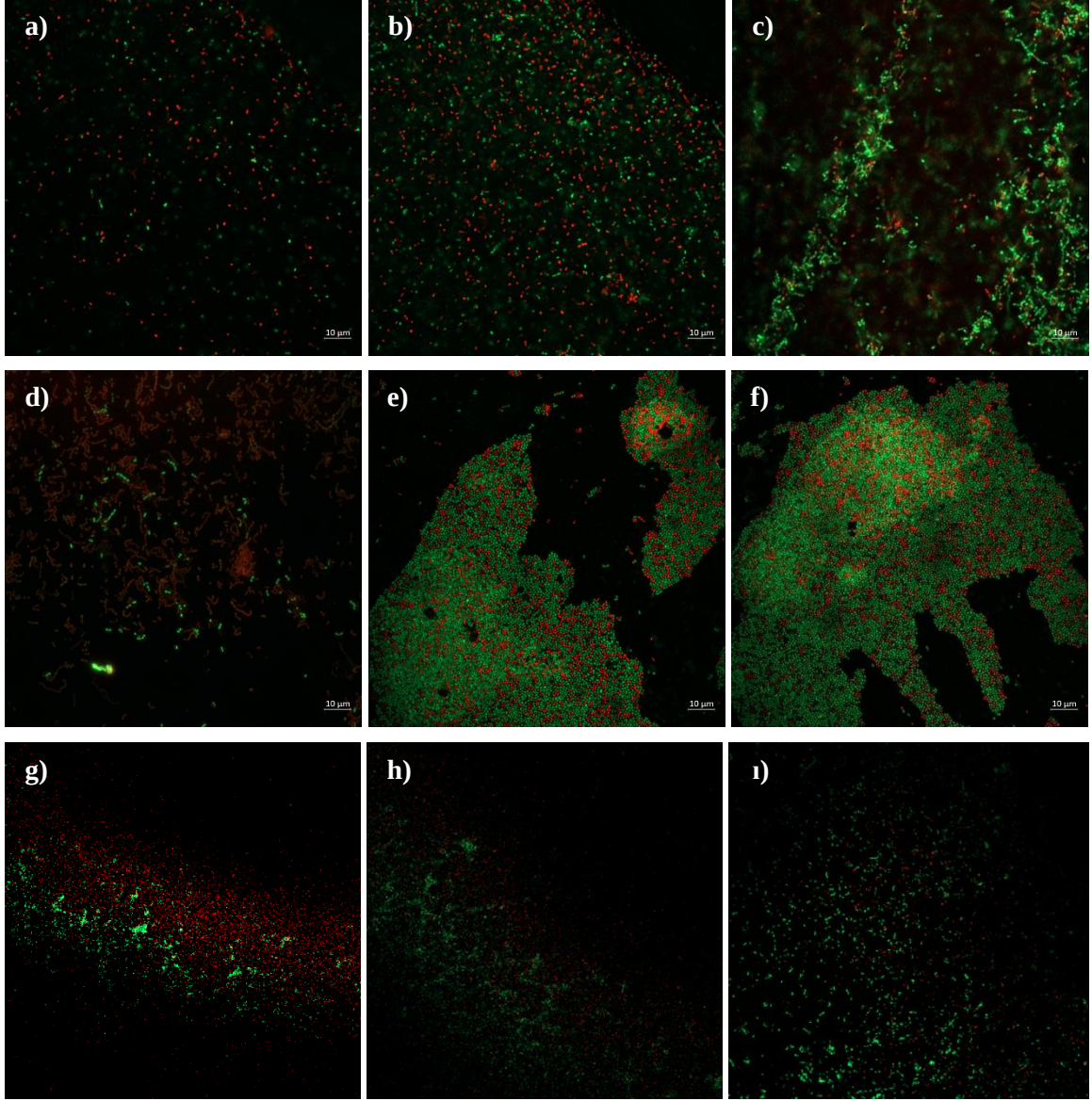
S. epidermidis, insan deri ve mukozasında doğal olarak bulunan bir koagülaz-negatif stafilokok türüdür ve özellikle kateter, protez ve implant gibi tıbbi cihaz yüzeylerinde biyofilm oluşturarak hastane kaynaklı enfeksiyonlara yol açabilmektedir [163].

Literatürde, planktonik *S. epidermidis* hücrelerinin gümüş iyonlarına karşı MIC değerleri genellikle 1–5 $\mu\text{g/mL}$ seviyesindeyken, biyofilm formu için bu değer 10 katına kadar çıkabildiği rapor edilmektedir [167]. Bu durum, bizim çalışmamızda düşük gümüş konsantrasyonlarında biyofilm canlılığının korunmasını, yüksek konsantrasyonlarda ise güçlü bakterisidal etkinin ortaya çıkmasını açıklamaktadır.

4.4.4. *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) Suşu Konfokal Mikroskop Analizi

Enterococcus faecalis biyofilmlerine yönelik olarak, üç farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplama türü (PVP/ODA-MMT, PVP/ODA-MMT/MA ve CMC/MA/ODA-MMT) 1,50 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında hazırlanmış ve CLSM ile değerlendirilmiştir. 10 μm 'lik ölçek çubuğu referans alınarak elde edilen görüntüler şu şekilde kodlanmıştır:

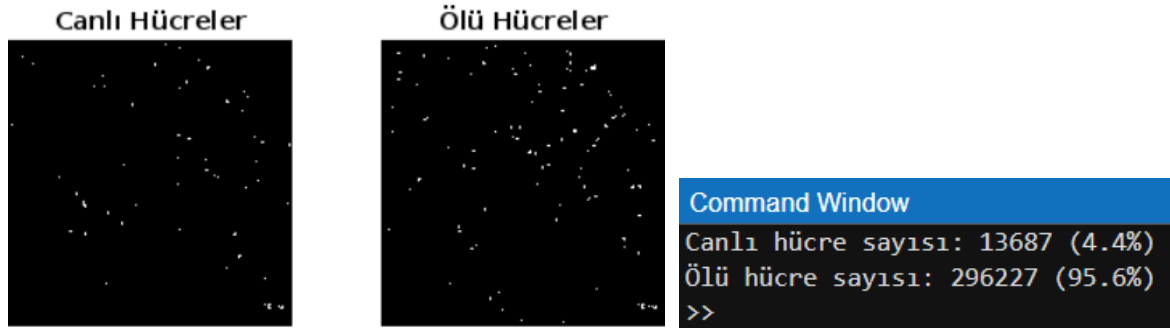
- Örnek 1: a (S1c1), b (S1c2), c (S1c3)
- Örnek 2: d (S2c1), e (S2c2), f (S2c3)
- Örnek 3: g (S3c1), h (S3c2), ı (S3c3)



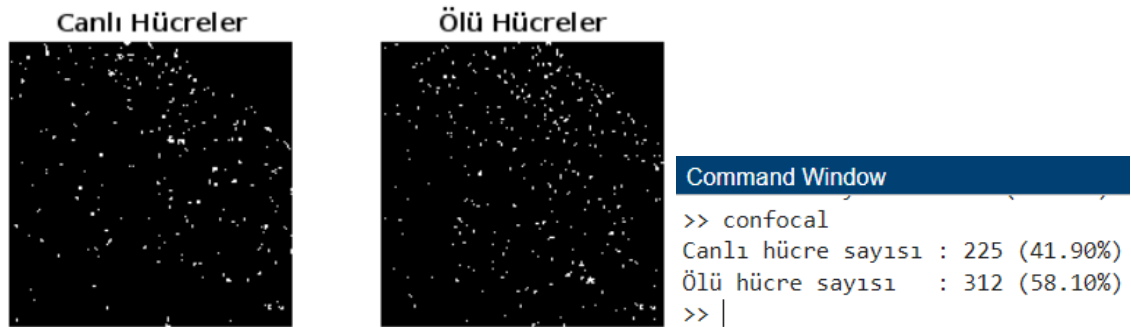
Şekil 4.47 *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) kaplama yüzeylerinde biyofilmlerinde, farklı AgNP taşıyıcılı nanokompozit kaplamaların 1,5 mg, 0,75 mg ve 0,375 mg AgNP konsantrasyonlarında canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücre dağılımının CLSM görüntüleri. a–c: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT; d–f: AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA; g–i: AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT kaplamalar.

Şekil 4.47’te görüldüğü üzere, *E. faecalis* biyofilmleri üzerinde uygulanan tüm kaplama tiplerinde yüksek gümüş konsantrasyonunda (1,50 mg AgNP) (a–d–g) kırmızı floresans sinyali belirgin şekilde baskın olup, bu durum biyofilm yapısında hücre ölüm oranının oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Orta düzey konsantrasyonda (0,75 mg AgNP) (b–e–h) yeşil floresans yoğunluğunda belirgin bir artış gözlenmiş, bu da hücre canlılığının kısmen korunduğunu işaret etmektedir. En düşük konsantrasyonda (0,375 mg AgNP) (c–f–i) ise yeşil floresans baskın hale gelmiş ve canlı hücre oranı tüm kaplama gruplarında maksimum seviyeye ulaşmıştır.

Kaplamaların biyofilmler üzerindeki etkisi kantitatif olarak CLSM görüntülerinin MATLAB ortamında işlenmesi ile değerlendirilmiştir. Analiz sürecinde, görüntülerdeki yeşil (canlı) ve kırmızı (ölü) kanallar ayrı ayrı işlenmiş; kontrast artırma, gürültü azaltma ve Otsu eşikleme algoritması uygulanmıştır. Daha sonra piksel tabanlı alan ölçümü yapılarak canlı ve ölü hücre yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen sayısal sonuçlar, farklı kaplama tipleri ve AgNP konsantrasyonları için Tablo 4.7’de sunulmuş, bulgular literatür verileriyle karşılaştırılarak tartışılmıştır.



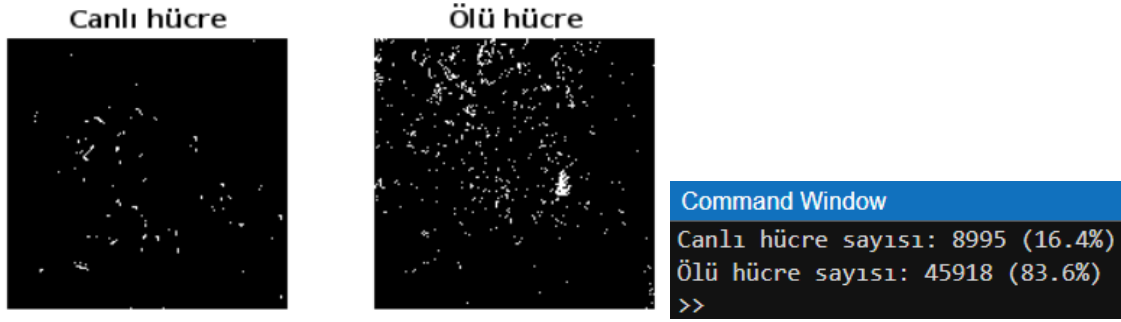
Şekil 4.48 Şekil 4.47 a’da görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



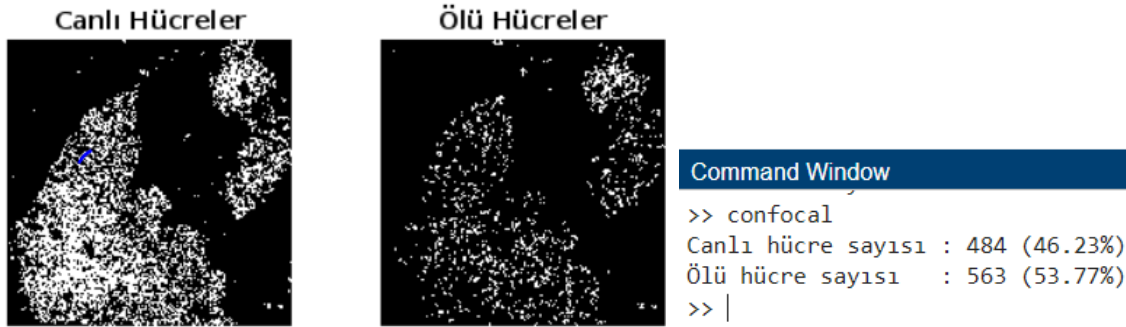
Şekil 4.49 Şekil 4.47 b’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



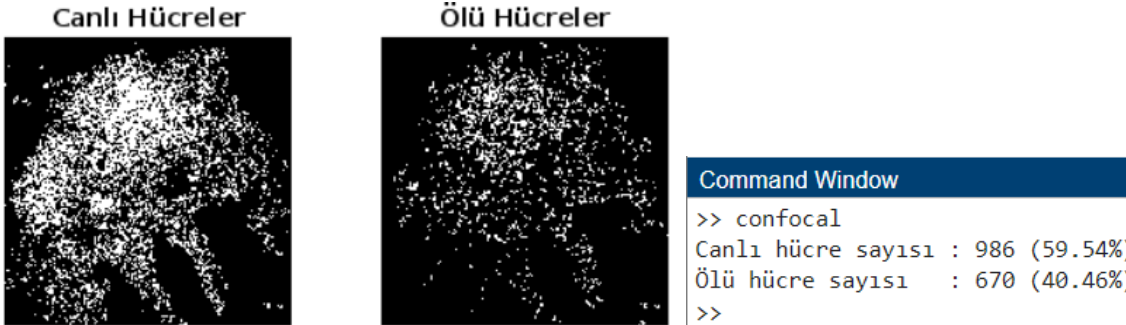
Şekil 4.50 Şekil 4.47 c’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



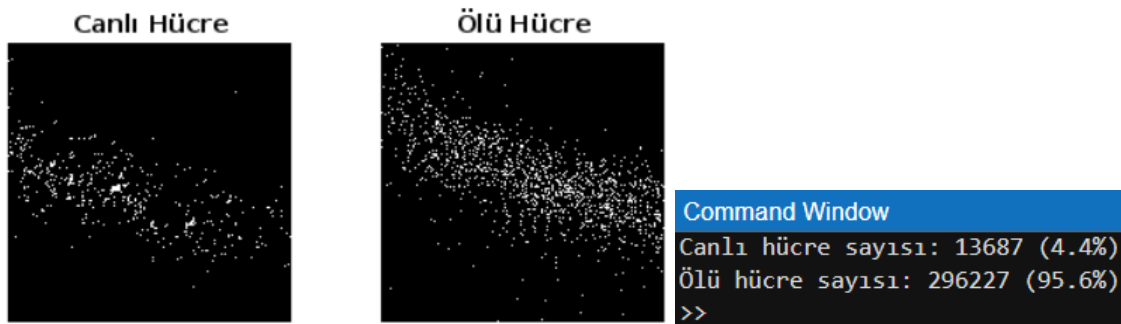
Şekil 4.51 Şekil 4.47 d’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.52 Şekil 4.47 e’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



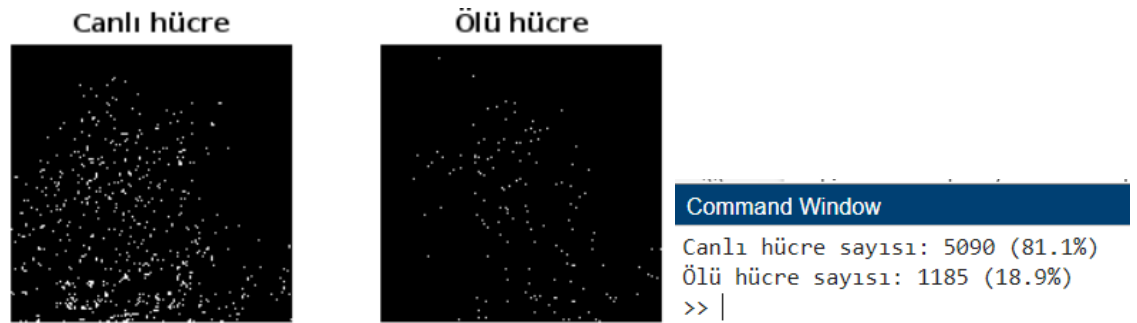
Şekil 4.53 Şekil 4.47 f’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.54 Şekil 4.47 g’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.55 Şekil 4.47 h’da görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)



Şekil 4.56 Şekil 4.47 h’da görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi (MATLAB’da analiz edilmiştir.)

Tablo 4.4 Şekil 4.47’de görülen kaplama yüzeylerindeki biyofilmlerin canlı/ ölü hücre analizi

Örnek Türleri	Örnek Tipleri	Gümüş miktarı	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	
			Canlı %	Ölü %
S1c1	AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	%4,4	%95,6
S1c2		0,75 mg/ml AgNP	%41,9	%58,1
S1c3		0,375 mg/ml AgNP	%56,6	%43,4
S2c1	AgNP taşıyıcılı PVP/ODA-MMT/MA	1,5 mg/ml AgNP	%16,4	%83,6
S2c2		0,75 mg/ml AgNP	%46,23	%53,77
S2c3		0,375 mg/ml AgNP	%59,54	%40,46
S3c1	AgNP taşıyıcılı CMC/MA/ODA-MMT	1,5 mg/ml AgNP	%4,4	%95,6
S3c2		0,75 mg/ml AgNP	%44,0	%56,0
S3c3		0,375 mg/ml AgNP	%81,1	%18,9

Tablo 4.4’te görülen sonuçlara göre, *E. faecalis* biyofilmleri üzerinde farklı kaplama tiplerinin ve AgNP konsantrasyonlarının etkisini açıkça ortaya koymaktadır. Yüksek konsantrasyonda (S1c1, S2c1, S3c1 – 1,50 mg AgNP) tüm kaplama gruplarında ölü hücre oranı %83,6 ile %95,6 arasında değişmekte olup, bu değerler güçlü bir antibakteriyel etkinin göstergesidir. Özellikle S1c1 ve S3c1 örneklerinde ölü hücre oranının %95,6 seviyesine

ulaşması, bu iki kaplamanın yüksek dozda oldukça güçlü bir bakterisidal etki sağladığını göstermektedir.

Orta konsantrasyonda (S1c2, S2c2, S3c2 – 0,75 mg AgNP) canlı hücre oranları artmış, %41,9 – %46,23 – %44,0 aralığında gözlenmiştir. Bu durum, gümüş iyonu salınımının azalmasıyla birlikte hücre ölüm oranının düştüğünü ve kısmi bir biyofilm korunumu olduğunu göstermektedir.

En düşük konsantrasyonda (S1c3, S2c3, S3c3 – 0,375 mg AgNP) ise canlı hücre oranı %56,6 ile %81,1 arasında değişmiş, özellikle S3c3'te %81,1 canlı hücre oranıyla biyofilmin büyük oranda korunabildiği görülmüştür. Bu bulgular, kaplamaların antibakteriyel etkisinin konsantrasyona bağımlı olarak azaldığını açık biçimde ortaya koymaktadır.

Literatürde, AgNP'lerin *E. faecalis* biyofilmlerine karşı yüksek etkinlik gösterdiği, bunun gümüş iyonlarının hücre membranını bozarak, protein ve DNA yapısına zarar vererek ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini artırarak gerçekleştiği rapor edilmiştir [168], [169]. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda AgNP'lerin biyofilm matrisine penetre olabilme kabiliyeti, biyofilm formundaki bakterilerin direnç mekanizmalarını önemli ölçüde kırmaktadır [169].

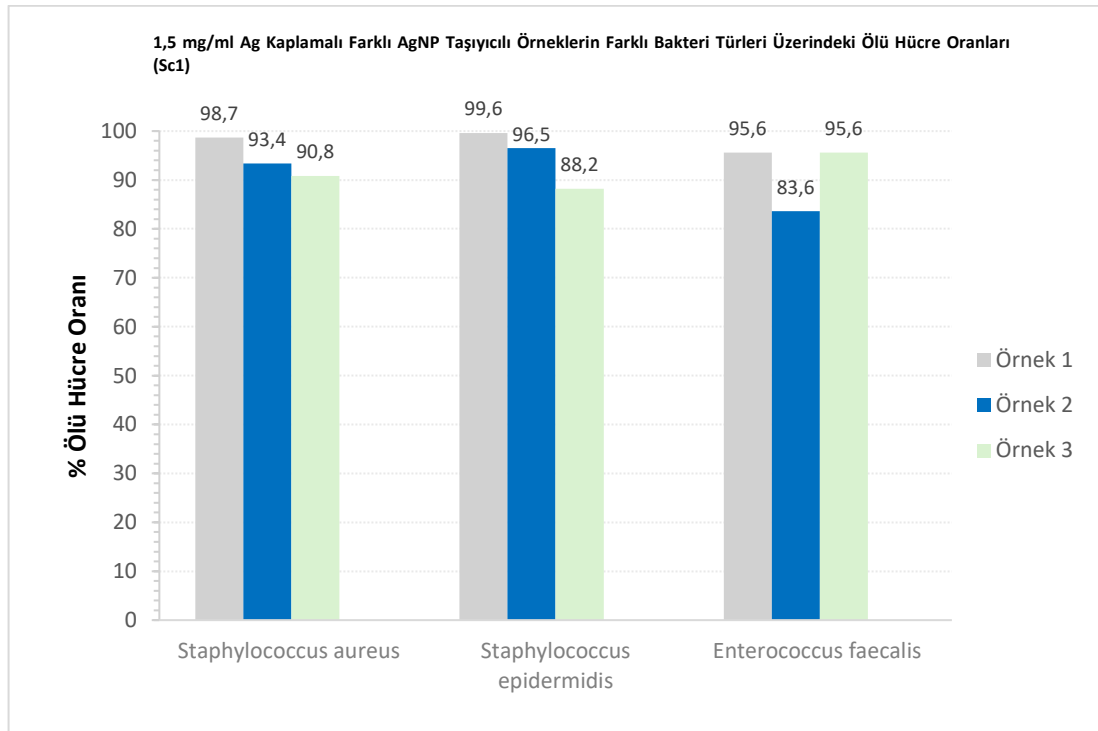
E. faecalis, Gram-pozitif, fakültatif anaerob bir bakteridir ve özellikle endodontik enfeksiyonlar, kronik yara enfeksiyonları ve kateter ilişkili enfeksiyonlar, hastane enfeksiyonları gibi tıbbi ve medikal açıdan önemli biyofilm kaynaklı hastalıklarda rol oynamaktadır [170]. Literatürde, bu bakterinin biyofilm formuna geçtiğinde antibiyotiklere karşı direncinin serbest (planktonik) formuna göre 1000 kata kadar artabildiği bildirilmiştir [170], [171]. Bu yüksek direnç, biyofilm matrisinin antibiyotiklerin difüzyonunu kısıtlaması, hücrelerin metabolik olarak yavaşlaması ve stres yanıt genlerinin aktive olması ile ilişkilidir.

Bu çalışmada elde edilen veriler, AgNP içeren kaplamaların özellikle yüksek konsantrasyonda *E. faecalis* biyofilmlerine karşı güçlü bir antibakteriyel etki sergilediğini göstermektedir. Buna karşın, düşük konsantrasyonlarda (0,375 mg AgNP) hücre ölüm oranı belirgin şekilde düşmüş ve canlı hücre yüzdesi artmıştır. Bu durum, *E. faecalis*'in biyofilm formunda sahip olduğu direnç mekanizmalarıyla ilişkilendirilebilir. Literatürde, bu bakterinin yoğun ekzopolisakkarit (EPS) matriksi üretmesi, dentin tübüllerine derinlemesine penetre olması, metabolizmasını yavaşlatarak “persister” hücreler oluşturması ve düşük pH koşullarında proton pompa aktivitesi ile hayatta kalabilmesi gibi özellikler, düşük konsantrasyonlu antimikrobiyal ajanlara karşı tolerans geliştirmesine neden olduğu bildirilmiştir [170], [171]. Bu nedenle, düşük dozlarda AgNP etkinliği sınırlı kalırken, yüksek dozlarda çoklu etki mekanizmaları sayesinde biyofilm yapısı önemli ölçüde

bozulabilmektedir [168], [169].

4.4.5. Farklı Konsantrasyonlardaki AgNP Taşıyıcılı Biyoyumlu Nanokompozit Kaplamaların Gram-pozitif Bakteri Biyofilmleri Üzerindeki Antibakteriyel Etkisi

Grafikler, farklı konsantrasyonlarda PMMA yüzeylerine uygulanmış AgNP taşıyıcılı biyoyumlu polimer kaplamaların, üç farklı Gram-pozitif bakteri türünün oluşturduğu biyofilmler üzerindeki doz–yanıt ilişkisini göstermektedir.



Şekil 4.57 1,5 mg/ml AgNP taşıyıcılı kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc1).

Şekil 4.57’de görülen grafiğe göre, 1,5 mg/ml gümüş (Ag) kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc1); Örnek 1, tüm bakteri türlerinde %95’in üzerinde ölü hücre oranı ile en yüksek antibakteriyel aktiviteyi göstermiş, özellikle *S. epidermidis*’te %99,6 ile maksimum etkiye ulaşmıştır. Örnek 2, *S. aureus* ve *S. epidermidis*’te yüksek etki (%93,4 ve %96,5) sergilerken, *E. faecalis*’te etkinlik %83,6’ya gerilemiştir. Örnek 3 ise *E. faecalis*’te %95,6 ile güçlü bir etki gösterirken, *S. aureus* ve *S. epidermidis*’te etkinlik sırasıyla %90,8 ve %88,2 seviyelerinde kalmıştır.

Şekil 4.57’de sunulan sonuçlara göre 1,5 mg/ml konsantrasyon, çalışmada en uygun

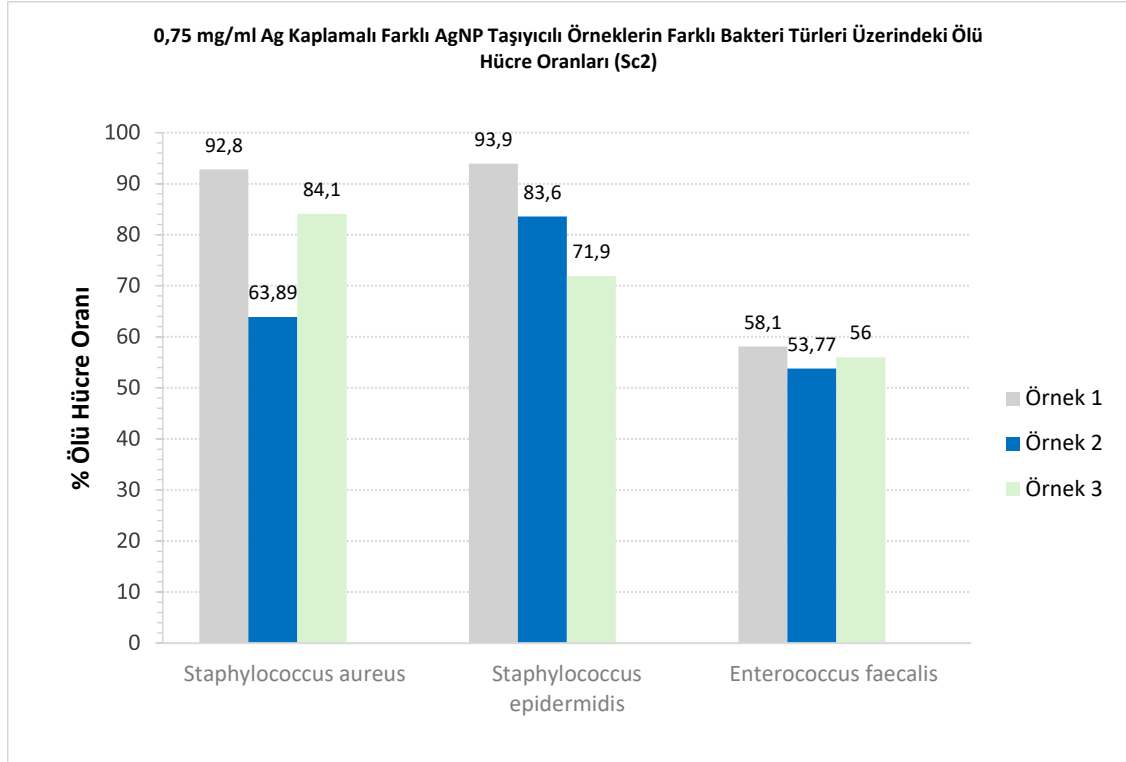
doz olarak belirlenmiştir. Bunun temel nedeni, bu dozun hem biyoyumlu karakter göstermesi hem de toksisite sınırlarını aşmamasıdır. Ayrıca, test edilen tüm nanokompozitler bu konsantrasyonda en yüksek antibakteriyel inhibisyon oranını sergilemiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda bakteri inhibisyon etkinliği yetersiz kalırken, daha yüksek dozların ise biyoyumluluk açısından risk oluşturabileceği değerlendirilmektedir. Dolayısıyla, 1,5 mg/ml konsantrasyon; optimum antibakteriyel etki, düşük toksisite ve biyoyumlu yapının birlikte sağlandığı kritik denge noktası olarak seçilmiştir.

Bu çalışmada belirtilen 1,5 mg/ml değerinin, doğrudan yüzeye immobilize edilen miktarı ifade etmediği; 1 ml çözelti içinde 1,5 mg AgNP bulunduğu, kaplama işlemi için ise bu çözeltiden yalnızca 200 µL kullanılarak yüzeye uygulandığı dikkate alınmalıdır.

Literatürde incelenen çalışmaların büyük çoğunluğu, antibakteriyel etkinliği kolloidal formda sentezlenen AgNP'ler üzerinden rapor etmiştir. Örneğin, 10–20 nm boyutlu AgNP'lerin çok düşük konsantrasyonlarda dahi *MRSA*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerinde yüksek antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir[172]. Yine, yalnızca 0.002 mg kolloidal AgNP'nin 17.5 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğu veya 15 µg/mL düzeyindeki AgNP'lerin *K. pneumoniae* üzerinde anlamlı inhibisyon sağladığı raporlanmıştır [173], [174]. Daha yüksek konsantrasyonlarda, örneğin 500 mg/ml ksantan zatkı stabilize AgNP nanokompoziti, farklı bakterilerde 10–12 mm çapında inhibisyon bölgeleri oluşturmuştur [175].

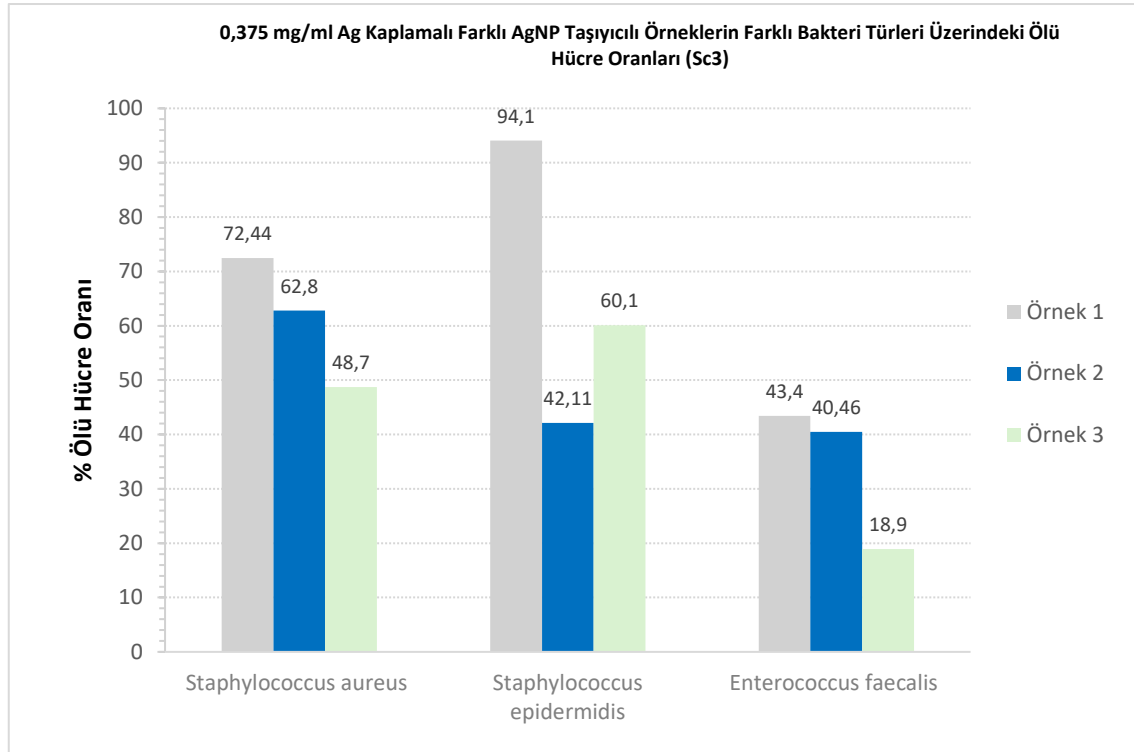
Bu literatür bulguları, kolloidal AgNP'lerin antibakteriyel etkinliğini net biçimde ortaya koysa da bu sistemler biyolojik ortamda stabilite sorunları, aglomerasyon eğilimi ve toksisite riskleri taşımaktadır.

Bu tez çalışmasının özgün katkısı, antibakteriyel etkinliği yalnızca kolloidal formda değil, polimer matrislere immobilize edilmiş AgNP nanokompozitler üzerinden değerlendirmiş olmasıdır. Kullanılan 1,5 mg/ml AgNP çözeltisinden yüzeye 200 µL kaplama ile elde edilen nanokompozitler, hem kolloidal formlardaki etkinlik seviyeleriyle karşılaştırılabilir düzeyde yüksek antibakteriyel etki göstermiş hem de biyoyumluluk ve toksisite açısından daha güvenli bir sistem sunmuştur.



Şekil 4.58 0,75 mg/ml AgNP taşıyıcılı kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc2).

Şekil 4.58’de görülen grafiğe göre, 0,75 mg/ml AgNP oranında farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc2) incelenmiştir. Örnek 1, *S. aureus* (%92,8) ve *S. epidermidis* (%93,9) üzerinde yüksek antibakteriyel aktivite gösterirken, *E. faecalis*’te etkinlik %58,1’e düşmüştür. Örnek 2, *S. epidermidis*’te %83,6 ile iyi düzeyde etki sergilerken, *S. aureus*’ta etkinlik %63,89’a, *E. faecalis*’te ise %53,77’ye kadar gerilemiştir. Örnek 3, *S. aureus* (%84,1) ve *S. epidermidis* (%71,9) üzerinde orta düzeyde aktivite göstermiş, *E. faecalis*’te ise %56 ile Örnek 2’ye yakın bir değer elde edilmiştir.



Şekil 4.59 0,375 mg/ml AgNP taşıyıcılı kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc2).

Şekil 4.59’da görülen grafiğe göre, 0,375 mg/mL gümüş (Ag) kaplamalı farklı AgNP taşıyıcılı polimer kaplamaların, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis* biyofilmleri üzerindeki ölü hücre oranları (Sc3) değerlendirilmiştir. Örnek 1, düşük kaplama konsantrasyonunda dahi *S. epidermidis* üzerinde %94,1 ile yüksek bir antibakteriyel etki göstermiş, *S. aureus*’ta ise bu değer %72,44’e, *E. faecalis*’te %43,4’e kadar düşmüştür. Örnek 2, *S. aureus*’ta %62,8, *S. epidermidis*’te %42,11 ve *E. faecalis*’te %40,46 oranında ölü hücre tespit edilerek düşük ila orta düzeyde etki göstermiştir. Örnek 3, *S. aureus* (%48,7) ve *S. epidermidis* (%60,1) üzerinde sınırlı etki sergilerken, *E. faecalis*’te etkinlik %18,9 ile oldukça düşük seviyede kalmıştır.

Bakteri biyofilmlerinde ekstraselüler polimerik substanslar (EPS), hücrelerin salgıladığı polisakkaritler, proteinler, ekstraselüler DNA ve lipidlerden oluşan üç boyutlu bir matriks yapısıdır. EPS, hücreleri yüzeye ve birbirine bağlayarak biyofilmin mekanik dayanıklılığını artırırken, aynı zamanda antimikrobiyal maddelere karşı fiziksel bir bariyer görevi görür. Bu bariyerin AgNP ve gümüş iyonlarının biyofilmin derin katmanlarına difüzyonunu sınırladığı, böylece etkinin konsantrasyona ve temas süresine bağımlı hale geldiği taranan literatürlerde bildirilmiştir [176].

İncelenen literatür taramalarında *S. aureus* biyofilmlerinin 10–20 nm boyutlu AgNP'lere duyarlı olduğu, bu partiküllerin genellikle 390–420 nm LSPR pikinde yüksek öldürücülük gösterdiği [177] ve biyofilm yoğunluğunun düşük konsantrasyonlarda iyon penetrasyonunu sınırladığı [178] bildirilmektedir.

Örnek 1'in düşük konsantrasyonda bile *S. epidermidis* biyofilmlerine karşı yüksek etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Yapılan literatür taramalarında *S. epidermidis*'in kalın peptidoglikan tabakası ile yüksek direnç sergilediği ancak küçük boyutlu ve yüzey modifiye edilmiş AgNP'lerin kalın peptidoglikan tabakası tabakasına daha iyi nüfuz ederek antibakteriyel etkinliği artırdığı [179], [180] bildirilmektedir. Bulgularımız bu mekanizma ile uyumludur.

E. faecalis, düşük gümüş konsantrasyonlarına karşı en dirençli tür olarak öne çıkmaktadır. *Enterococcus faecalis* yüksek EPS üretimi yapar, bu koruyucu matriks gümüş iyonlarının serbest difüzyonunu engeller [181]. Kishen et al. (2008) [182] çalışmalarında, EPS yoğunluğunun yüksek olduğu biyofilmlerde AgNP'lerin antibakteriyel etkisinin belirgin şekilde azaldığı ve etkili inhibisyon için daha yüksek konsantrasyon (>1 mg/mL) ile daha uzun maruz kalma süresine ihtiyaç duyulduğu rapor edilmiştir. Bulgularımızda da *E. faecalis*'in düşük konsantrasyonlarda (0,375 mg/ml) düşük inhibisyon oranı (%18,9–43,4) göstermesi, EPS tabakasının bu koruyucu etkisi ile uyumludur.

5. SONUÇLAR

Dünya çapında yenidoğan enfeksiyonlarının, her yıl yaklaşık 1,6 milyon bebeğin yaşamını kaybetmesine yol açtığı ve bu ölümlerin tüm yenidoğan ölümlerinin yaklaşık %40'ını oluşturduğu bilinmektedir.

Bu tez çalışmasında, PMMA yüzeyleri üzerine *drop-casting* yöntemiyle uygulanan, görünür ışıkla aktive olabilen AgNP içeren üç farklı (PVP/ODA-MMT, PVP/MA/ODA-MMT, CMC/MA/ODA-MMT) antibakteriyel kaplamaların yüzey morfolojisi, kimyasal ve fiziksel yapısı, optik özellikleri, antimikrobiyal etkinliği ve biyoyumluluğu farklı teknikler ile incelenmiştir.

Görünür ışık aktivasyonu için mavi ışık (450 nm) kullanılmıştır; çünkü bu dalga boyu AgNP'lerin LSPR pikine yakın olup fotokatalitik aktiviteyi ve gümüş iyonu salınımını maksimize ederek antibakteriyel etkinliği artırmaktadır.

UV-Vis analizleri, biyoyumlu polimer nanokompozitlerde AgNP oluşumunu doğrulamış ve λ_{max} 409, 441 ve 391 nm'de gözlenen belirgin LSPR bantları, örneklerin görünür bölgede etkin plazmonik uyarılabilirliğe sahip olduğunu göstermiştir.

Drop-casting yönetimiyle yapılan kaplamalar içerisindeki Ag çekirdek polimer kaplama şekli uzamış elipsoid şeklinde olup, yarı homojen şeklinde dağılmıştır. EDS elementel analizinin sonuçları Ag karakterize enerji piki olan 3 eV'da çok düşük yoğunlukta bir pik göstermektedir. Bu da nanokompozit içinde gümüş miktarın %2 altında olduğunu ispatlamaktadır.

XRD analizleri, 38,27° ve 44,42° pikleriyle fcc yapıya ait AgNP'lerin kristalin ve nanometrik boyutta oluşumunu doğrulamıştır.

Bu çalışmada, AgNP'lerin yüzeye kaplanarak immobilize edilmesinin, kolloidal formlara kıyasla hücre canlılığını daha yüksek seviyede koruduğu belirlenmiştir. Bu durum, kontrollü gümüş iyonu salınımının sitotoksitesiteyi azaltarak biyoyumluluğu arttırdığını göstermektedir.

Bu çalışmada, PMMA yüzeylerine kaplanan farklı konsantrasyonlardaki üç AgNP taşıyıcılı polimer kaplamanın Gram-pozitif biyofilmler üzerindeki etkisi incelenmiş; kaplama konsantrasyonu arttıkça antibakteriyel etkinin yükseldiği, *S. epidermidis*'in düşük dozlarda dahi yüksek inhibisyon gösterdiği, yoğun EPS matriksine sahip *E. faecalis*'in ise en dirençli tür olduğu belirlenmiştir.

Seçilen doz (1,5 mg/ml), test edilen aralıkta ($\leq 1,5$ mg/ml) geliştirilen tüm biyoyumlu polimer matrislerde maksimum antibakteriyel inhibisyon sağladığı için optimum kabul

edilmiştir.

Elde edilen bulgular, geliştirilen kaplamaların enfeksiyon zincirini kırmada etkili bir strateji sunduğunu ve geleneksel dezenfeksiyon prosedürlerine tamamlayıcı ya da alternatif bir yaklaşım olabileceğini göstermektedir. Yenidoğan yoğun bakım koşullarında enfeksiyon kontrolü açısından bu metodolojinin uygulanabilirliği, salgın riskini azaltmaya ve hasta güvenliğini artırmaya yönelik önemli bir katkı sunmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] WHO, “Neonatal mortality rate (0 to 27 days) per 1000 live births) (SDG 3.2.2).” Accessed: Feb. 15, 2025. [Online]. Available: [https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/neonatal-mortality-rate-\(per-1000-live-births\)](https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/neonatal-mortality-rate-(per-1000-live-births)).
- [2] S. Telang, “Lactoferrin: A critical player in neonatal host defense,” Sep. 04, 2018, *MDPI AG*. doi: 10.3390/nu10091228..
- [3] A. Collins, J. H. Weitkamp, and J. L. Wynn, “Why are preterm newborns at increased risk of infection?,” Jan. 30, 2018, *BMJ Publishing Group*. doi: 10.1136/archdischild-2017-313595.
- [4] S. Niewiesk, “Maternal antibodies: Clinical significance, mechanism of interference with immune responses, and possible vaccination strategies,” 2014, *Frontiers Media S.A.* doi: 10.3389/fimmu.2014.00446.
- [5] A. Gagneur, D. Pinquier, and C. Quach, “Immunization of preterm infants,” *Hum Vaccin Immunother*, vol. 11, no. 11, pp. 2556–2563, Aug. 2015, doi: 10.1080/21645515.2015.1074358.
- [6] G. Görak ve N. Dede, “YENİDOĞANDA HASTANE ENFEKSİYONLARI EPİDEMİYOLOJİSİ VE KONTROLÜ,” *Florence Nightingale J Nurs*, vol. 9, no. 36, pp. 11–17, Sep. 2015, Accessed: Mar. 08, 2025. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/tr/pub/fnjn/issue/9042/112739#article_cite
- [7] M. Reboux, M. Chavignon, A. Tristan, F. Plaisant, F. Laurent, and M. Butin, “Disinfection of incubators in neonatal intensive care units: impact of steam pulverization on bacterial colonization,” *Antimicrob Resist Infect Control*, vol. 12, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1186/s13756-023-01226-y.
- [8] W. Zingg, K. M. Posfay-Barbe, and D. Pittet, “Healthcare-associated infections in neonates.”

- [9] D. Kotsanas *et al.*, “A nonclonal outbreak of vancomycin-sensitive *Enterococcus faecalis* bacteremia in a neonatal intensive care unit,” *Infect Control Hosp Epidemiol*, vol. 40, no. 10, pp. 1116–1122, Oct. 2019, doi: 10.1017/ice.2019.202.
- [10] Mariani M *et al.*, “Bacterial invasive infections in a neonatal intensive care unit: a 13 years microbiological report from an Italian tertiary care centre,” *J Prev Med Hyg*, vol. 62, no. 2, pp. E162–E166, Jul. 2020, doi: 10.15167/2421-4248/jpmh2020.61.2.1401.
- [11] F. Pimentel de Araujo *et al.*, “An outbreak of skin infections in neonates due to a *Staphylococcus aureus* strain producing the exfoliative toxin A,” *Infection*, vol. 46, no. 1, pp. 49–54, Feb. 2018, doi: 10.1007/s15010-017-1084-2.
- [12] R. M. Fortunov, K. G. Hulten, W. A. Hammerman, E. O. Mason Jr, and S. L. Kaplan, “Community-Acquired *Staphylococcus aureus* Infections in Term and Near-Term Previously Healthy Neonates,” *Pediatrics*, vol. 118, no. 3, pp. 874–881, Sep. 2006, doi: 10.1542/peds.2006-0884.
- [13] M. S. Scamardo, P. Dolce, E. P. Esposito, F. Raimondi, M. Triassi, and R. Zarrilli, “Trends, risk factors and outcomes of healthcare-associated infections in a neonatal intensive care unit in Italy during 2013-2017,” *Ital J Pediatr*, vol. 46, no. 1, Mar. 2020, doi: 10.1186/s13052-020-0799-3.
- [14] S. Watkin *et al.*, “Two-step or one-step – are all methods for neonatal incubator decontamination equal?,” *Journal of Hospital Infection*, Nov. 2024, doi: 10.1016/j.jhin.2024.07.012.
- [15] M. Chavignon *et al.*, “Persistent microbial contamination of incubators despite disinfection,” *Pediatr Res*, vol. 90, no. 6, pp. 1215–1220, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41390-021-01407-8.
- [16] G. Moore *et al.*, “Detection, survival, and persistence of *Staphylococcus capitis* NRCS-A in neonatal units in England,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 140,

pp. 8–14, Oct. 2023, doi: 10.1016/j.jhin.2023.06.030.

- [17] I. Lange *et al.*, “Influence of the incubator as direct patient environment on bacterial colonization of neonates,” *Microorganisms*, vol. 9, no. 12, Dec. 2021, doi: 10.3390/microorganisms9122533.
- [18] D. Hitaka *et al.*, “Assessment of Alcohol Exposure from Alcohol-Based Disinfectants among Premature Infants in Neonatal Incubators in Japan,” *JAMA Netw Open*, vol. 6, no. 2, p. E230691, Feb. 2023, doi: 10.1001/jamanetworkopen.2023.0691.
- [19] M. A. Vasarhelyi, M. Alles, S. Kuenkaikaew, and J. Littley, “The acceptance and adoption of continuous auditing by internal auditors: A micro analysis,” *International Journal of Accounting Information Systems*, vol. 13, no. 3, pp. 267–281, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.accinf.2012.06.011.
- [20] I. Francolini, C. Vuotto, A. Piozzi, and G. Donelli, “Antifouling and antimicrobial biomaterials: an overview,” Apr. 01, 2017, *Blackwell Munksgaard*. doi: 10.1111/apm.12675.
- [21] T. Xia *et al.*, “Comparison of the Mechanism of Toxicity of Zinc Oxide and Cerium Oxide Nanoparticles Based on Dissolution and Oxidative Stress Properties,” *ACS Nano*, vol. 2, no. 10, pp. 2121–2134, Oct. 2008, doi: 10.1021/nn800511k.
- [22] T. M. Doherty, A. Hu, and I. Salik, *Physiology, Neonatal*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2025. [Online]. Available: <http://europepmc.org/books/NBK539840>
- [23] M. O. Visscher, R. Adam, S. Brink, and M. Odio, “Newborn infant skin: Physiology, development, and care,” *Clin Dermatol*, vol. 33, no. 3, pp. 271–280, 2015, doi: 10.1016/j.clindermatol.2014.12.003.

- [24] E. K. Toruner and N. Altay, “Riskli Yenidoğanlarda Enteral Beslenme ve Bakım,” *Çağdaş Tıp Dergisi*, vol. 3, no. 3, pp. 227–233, Sep. 2013.
- [25] S. Doğru and A. Topan, “Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesine Prematüre Bebeği Yatan Ebeveynlere Verilen Yatış Eğitiminin Stres Düzeylerine Etkisi,” *Journal of Pediatric Emergency and Intensive Care Medicine(Turkey)*, vol. 8, no. 1, pp. 26–36, Apr. 2021, doi: 10.4274/cayd.galenos.2020.07769.
- [26] WHO, “Newborn mortality,” World Health Organization. Accessed: Nov. 13, 2024. [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/newborn-mortality>
- [27] E. O. Ohuma *et al.*, “National, regional, and global estimates of preterm birth in 2020, with trends from 2010: a systematic analysis,” *The Lancet*, vol. 402, no. 10409, pp. 1261–1271, Oct. 2023, doi: 10.1016/S0140-6736(23)00878-4.
- [28] E. O. Ohuma *et al.*, “National, regional, and global estimates of preterm birth in 2020, with trends from 2010: a systematic analysis,” *The Lancet*, vol. 402, no. 10409, pp. 1261–1271, Oct. 2023, doi: 10.1016/S0140-6736(23)00878-4.
- [29] N. H. Hillman, S. G. Kallapur, and A. H. Jobe, “Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life,” Dec. 2012. doi: 10.1016/j.clp.2012.09.009.
- [30] A. H. Jansen and V. Chernick, “Onset of breathing and control of respiration,” *Semin Perinatol*, vol. 12, no. 2, p. 104—112, Apr. 1988, [Online]. Available: <http://europepmc.org/abstract/MED/3293221>
- [31] J. Berhrsin and A. Gibson, “Cardiovascular system adaptation at birth.”
- [32] N. H. Hillman, S. G. Kallapur, and A. H. Jobe, “Physiology of transition from intrauterine to extrauterine life,” Dec. 2012. doi: 10.1016/j.clp.2012.09.009.
- [33] S. B. Hooper, G. R. Polglase, and A. B. Te Pas, “A physiological approach to the timing of umbilical cord clamping at birth,” Jul. 01, 2015, *BMJ Publishing*

Group. doi: 10.1136/archdischild-2013-305703.

- [34] A. M. Rudolph, "Circulation Research BRIEF REVIEW Distribution and Regulation of Blood Flow in the Fetal and Neonatal Lamb." [Online]. Available: <http://ahajournals.org>
- [35] A. M. Rudolph, "FETAL AND NEONATAL PULMONARY CIRCULATION Further ANNUAL REVIEWS," 1979. [Online]. Available: www.annualreviews.org
- [36] E. A. Dunne, C. P. F. O'Donnell, B. Nakstad, and L. K. McCarthy, "Thermoregulation for very preterm infants in the delivery room: a narrative review," May 01, 2024, *Springer Nature*. doi: 10.1038/s41390-023-02902-w.
- [37] H. Asakura, "Fetal and neonatal thermoregulation," *Journal of Nippon Medical School*, vol. 71, no. 6, pp. 360–370, 2004.
- [38] G. G. Power, "Biology of temperature: the mammalian fetus," *J Dev Physiol*, vol. 12, no. 6, pp. 295–304, 1989.
- [39] E. A. Dunne, C. P. F. O'Donnell, B. Nakstad, and L. K. McCarthy, "Thermoregulation for very preterm infants in the delivery room: a narrative review," May 01, 2024, *Springer Nature*. doi: 10.1038/s41390-023-02902-w.
- [40] K. Cramer, N. Wiebe, L. Hartling, E. Crumley, and S. Vohra, "Heat loss prevention: A systematic review of occlusive skin wrap for premature neonates," Dec. 2005. doi: 10.1038/sj.jp.7211392.
- [41] N. D. Çinar and T. M. Filiz, "Neonatal thermoregulation," *Journal of Neonatal Nursing*, vol. 12, no. 2, pp. 69–74, 2006, doi: 10.1016/j.jnn.2006.01.006.
- [42] W. A. Silverman, "Dunham's premature infants," *Academic Medicine*, vol. 36, no. 7, p. 843, 1961.

- [43] M. W. Platt and S. Deshpande, “Metabolic adaptation at birth,” in *Seminars in Fetal and neonatal Medicine*, Elsevier, 2005, pp. 341–350.
- [44] A. Collins, J. H. Weitkamp, and J. L. Wynn, “Why are preterm newborns at increased risk of infection?,” Jan. 30, 2018, *BMJ Publishing Group*. doi: 10.1136/archdischild-2017-313595.
- [45] N. Rutter, “Applied physiology: the newborn skin,” *Current Paediatrics*, vol. 13, no. 3, pp. 226–230, 2003, doi: [https://doi.org/10.1016/S0957-5839\(03\)00008-3](https://doi.org/10.1016/S0957-5839(03)00008-3).
- [46] Jelka. Zupan and Elisabeth. Åhman, *Neonatal and perinatal mortality : country, regional and global estimates*. World Health Organization, 2006.
- [47] J. E. Lawn, S. Cousens, and J. Zupan, “4 Million neonatal deaths: When? Where? Why?,” *The Lancet*, vol. 365, no. 9462, pp. 891–900, Mar. 2005, doi: 10.1016/S0140-6736(05)71048-5.
- [48] WHO, “Preterm birth,” Word Health Organization. Accessed: Nov. 14, 2024. [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
- [49] B. J. Manley, L. W. Doyle, M. W. Davies, and P. G. Davis, “Fifty years in neonatology,” *J Paediatr Child Health*, vol. 51, no. 1, pp. 118–121, Aug. 2015, doi: 10.1111/jpc.12798.
- [50] T. N. K. Raju, A. S. Buist, C. J. Blaisdell, M. Moxey-Mims, and S. Saigal, “Adults born preterm: a review of general health and system-specific outcomes,” Sep. 01, 2017, *Blackwell Publishing Ltd*. doi: 10.1111/apa.13880.
- [51] N. Kültürsay, “The status of women and of maternal and perinatal health in Turkey,” 2011.
- [52] Y. SenayTopuz, “Progress Related to Maternal and Neonatal Health in Turkey,”

J Neonatal Biol, vol. 03, no. 02, 2014, doi: 10.4172/2167-0897.1000131.

- [53] W. A. Carlo *et al.*, “Newborn-Care Training and Perinatal Mortality in Developing Countries A BS TR AC T.”
- [54] L. G. Pokvić, L. Spahić, and A. Badnjević-Čengiđ, *Inspection and Testing of Pediatric and Neonatal Incubators*. Springer, Cham, 2024. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-031-43444-0_14.
- [55] G. Görak and N. Dede, “YENİDOĞANDA HASTANE ENFEKSİYONLARI EPİDEMİYOLOJİSİ VE KONTROLÜ,” *Florence Nightingale J Nurs*, vol. 9, no. 36, pp. 11–17, 2015.
- [56] B. T. HAZUKA, “Prevention of Infection in the Nursery,” *Nursing Clinics of North America*, vol. 15, no. 4, pp. 825–831, 1980, doi: [https://doi.org/10.1016/S0029-6465\(22\)00593-X](https://doi.org/10.1016/S0029-6465(22)00593-X).
- [57] J. S. Remington, J. O. Klein, C. B. Wilson, V. Nizet, and Y. A. Maldonado, *Infectious Diseases of The Fetus Newborn Infant*, Seventh Edition. Philadelphia: W.B. Saunders, 2011. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6400-8.00044-4>.
- [58] D. Harbeson, R. Ben-Othman, N. Amenyoğbe, and T. R. Kollmann, “Outgrowing the immaturity myth: The cost of defending from neonatal infectious disease,” *Front Immunol*, vol. 9, no. MAY, May 2018, doi: [10.3389/fimmu.2018.01077](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01077).
- [59] Korones, Sheldon B, and Jean Lancaster, “High-Risk Newborn Infants: The Basis for Intensive Nursing Care,” in *Medical Journal of Australia*, 4 th Ed., vol. 2, S. B. and J. L. orones, Ed., St. Louis: Mosby: Mosby Company, 1978, pp. 9–10. doi: <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1978.tb116057.x>.
- [60] R. Clark, R. Powers, R. White, B. Bloom, P. Sanchez, and D. K. Benjamin, “Nosocomial infection in the NICU: A medical complication or unavoidable

problem?,” Jun. 2004. doi: 10.1038/sj.jp.7211120.

- [61] L. Porter *et al.*, “How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A scoping review,” May 01, 2024, *W.B. Saunders Ltd.* doi: 10.1016/j.jhin.2024.01.023.
- [62] L. C. Downey, P. B. Smith, and D. K. Benjamin, “Risk factors and prevention of late-onset sepsis in premature infants,” *Early Hum Dev*, vol. 86, no. SUPPL. 1, pp. 7–12, 2010, doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.012.
- [63] M. Fattorini *et al.*, “Public Health since the beginning: Neonatal incubators safety in a clinical setting,” *J Infect Public Health*, vol. 11, no. 6, pp. 788–792, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.03.001>.
- [64] M. Chavignon *et al.*, “Persistent microbial contamination of incubators despite disinfection,” *Pediatr Res*, vol. 90, no. 6, pp. 1215–1220, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41390-021-01407-8.
- [65] M. Reboux, M. Chavignon, A. Tristan, F. Plaisant, F. Laurent, and M. Butin, “Disinfection of incubators in neonatal intensive care units: impact of steam pulverization on bacterial colonization,” *Antimicrob Resist Infect Control*, vol. 12, no. 1, Dec. 2023, doi: 10.1186/s13756-023-01226-y.
- [66] I. Lange *et al.*, “Influence of the incubator as direct patient environment on bacterial colonization of neonates,” *Microorganisms*, vol. 9, no. 12, Dec. 2021, doi: 10.3390/microorganisms9122533.
- [67] T. A. Taylor and C. G. Unakal, *Staphylococcus aureus Infection*. StatPearls [Internet], 2023. Accessed: Jun. 04, 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
- [68] D. Firdevs ERDEMİR ArGör Arzu AKMAN ArGör Gülzade UYSAL Esra POLATER Ahu ÇIRLAK Başkent Üniversitesi Bağlıca Kampusu Eskişehir yolu and K. Bağlıca, “YENİ-YENİDEN TANIMLANAN ENFEKSİYONLAR

VE ENFEKSİYON KONTROLÜ EMERGING AND REEMERGING
INFECTIONS AND INFECTION CONTROL,” 2011.

- [69] M. M. Dinges, P. M. Orwin, and P. M. Schlievert, “Exotoxins of *Staphylococcus aureus*,” 2000. [Online]. Available: <https://journals.asm.org/journal/cmr>
- [70] Lee E and Anjum F., *Staphylococcus epidermidis Infection*. StatPearls Publishing, 2023. Accessed: Jun. 07, 2025. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563240/>
- [71] M. C. García-Sáenz, A. Arias-Puente, M. J. Fresnadillo-Martinez, and A. Matilla-Rodriguez, “In vitro adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses,” *J Cataract Refract Surg*, vol. 26, no. 11, 2000, [Online]. Available: https://journals.lww.com/jcrs/fulltext/2000/11000/in_vitro_adhesion_ofstaphylococcus_epidermidis.35.aspx
- [72] S. M. K. Schoenfelder, C. Lange, M. Eckart, S. Hennig, S. Kozytska, and W. Ziebuhr, “Success through diversity - How *Staphylococcus epidermidis* establishes as a nosocomial pathogen,” Aug. 2010. doi: 10.1016/j.ijmm.2010.04.011.
- [73] Y. Dong, C. P. Speer, and K. Glaser, “Beyond sepsis: *Staphylococcus epidermidis* is an underestimated but significant contributor to neonatal morbidity,” Jan. 01, 2018, *Taylor and Francis Inc*. doi: 10.1080/21505594.2017.1419117.
- [74] A. Daca and T. Jarzembowski, “From the Friend to the Foe—*Enterococcus faecalis* Diverse Impact on the Human Immune System,” Feb. 01, 2024, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/ijms25042422.
- [75] M. Lleo, B. Bonato, M. C. Tafi, G. Caburlotto, D. Benedetti, and P. Canepari,

- “Adhesion to medical device materials and biofilm formation capability of some species of enterococci in different physiological states,” *FEMS Microbiol Lett*, vol. 274, no. 2, pp. 232–237, Sep. 2007, doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00836.x.
- [76] V. Korten and B. E. Murray, “The nosocomial transmission of enterococci,” *Curr Opin Infect Dis*, vol. 6, no. 4, Aug. 1993, [Online]. Available: https://journals.lww.com/co-infectiousdiseases/fulltext/1993/08000/the_nosocomial_transmission_of_enterococci.2.aspx
- [77] M. Katsikogianni and Y. F. Missirlis, “Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions,” *Eur Cell Mater*, vol. 8, no. 3, pp. 37–57, 2004.
- [78] D. Pavithra and M. Doble, “Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants—issues and prevention,” *Biomedical Materials*, vol. 3, no. 3, p. 034003, 2008.
- [79] H. H. Tuson and D. B. Weibel, “Bacteria-surface interactions,” May 05, 2013, *Royal Society of Chemistry*. doi: 10.1039/c3sm27705d.
- [80] M. L. Bari and S. Kawamoto, “Process Hygiene: Types of Sterilant,” in *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, Elsevier Inc., 2014, pp. 216–225. doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00273-1.
- [81] M. L. W. Knetsch and L. H. Koole, “New strategies in the development of antimicrobial coatings: The example of increasing usage of silver and silver nanoparticles,” Mar. 2011. doi: 10.3390/polym3010340.
- [82] M. Ramasamy and J. Lee, “Recent nanotechnology approaches for prevention and treatment of biofilm-associated infections on medical devices,” *Biomed Res Int*, vol. 2016, 2016, doi: 10.1155/2016/1851242.
- [83] I. Banerjee, R. C. Pangule, and R. S. Kane, “Antifouling coatings: recent

- developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms,” *Advanced materials*, vol. 23, no. 6, pp. 690–718, 2011.
- [84] K. G. Neoh and E.-T. Kang, “Combating bacterial colonization on metals via polymer coatings: relevance to marine and medical applications,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 3, no. 8, pp. 2808–2819, 2011.
- [85] H. Shintani, “Modification of medical device surface to attain anti-infection,” *Trends Biomater. Artif. Organs*, vol. 18, no. 1, pp. 1–8, 2004.
- [86] R. N. S. Sodhi, V. P. Sahi, and M. W. Mittelman, “Application of electron spectroscopy and surface modification techniques in the development of anti-microbial coatings for medical devices,” *J Electron Spectros Relat Phenomena*, vol. 121, no. 1–3, pp. 249–264, 2001.
- [87] L. Li, S. Molin, L. Yang, and S. Ndoni, “Sodium dodecyl sulfate (SDS)-loaded nanoporous polymer as anti-biofilm surface coating material,” *Int J Mol Sci*, vol. 14, no. 2, pp. 3050–3064, 2013.
- [88] V. Antoci Jr *et al.*, “The inhibition of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation by vancomycin-modified titanium alloy and implications for the treatment of periprosthetic infection,” *Biomaterials*, vol. 29, no. 35, pp. 4684–4690, 2008.
- [89] B. Gottenbos, H. C. van der Mei, F. Klatter, P. Nieuwenhuis, and H. J. Busscher, “In vitro and in vivo antimicrobial activity of covalently coupled quaternary ammonium silane coatings on silicone rubber,” *Biomaterials*, vol. 23, no. 6, pp. 1417–1423, 2002.
- [90] S. V Pavlukhina *et al.*, “Noneluting enzymatic antibiofilm coatings,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 4, no. 9, pp. 4708–4716, 2012.
- [91] X. Khoo, P. Hamilton, G. A. O’Toole, B. D. Snyder, D. J. Kenan, and M. W.

- Grinstaff, "Directed assembly of PEGylated-peptide coatings for infection-resistant titanium metal," *J Am Chem Soc*, vol. 131, no. 31, pp. 10992–10997, 2009.
- [92] C. R. Arciola, D. Campoccia, P. Speziale, L. Montanaro, and J. W. Costerton, "Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials," *Biomaterials*, vol. 33, no. 26, pp. 5967–5982, 2012.
- [93] B. S. Atiyeh, M. Costagliola, S. N. Hayek, and S. A. Dibo, "Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature," *burns*, vol. 33, no. 2, pp. 139–148, 2007.
- [94] A. J. Huh and Y. J. Kwon, "'Nanoantibiotics': a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era," *Journal of controlled release*, vol. 156, no. 2, pp. 128–145, 2011.
- [95] Z.-M. Xiu, J. Ma, and P. J. J. Alvarez, "Differential effect of common ligands and molecular oxygen on antimicrobial activity of silver nanoparticles versus silver ions," *Environ Sci Technol*, vol. 45, no. 20, pp. 9003–9008, 2011.
- [96] S. Khorrami, A. Zarrabi, M. Khaleghi, M. Danaei, and M. R. Mozafari, "Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties," *Int J Nanomedicine*, pp. 8013–8024, 2018.
- [97] V. S. Ramkumar *et al.*, "Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties," *Biotechnology reports*, vol. 14, pp. 1–7, 2017.
- [98] V. S. Ramkumar *et al.*, "Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties," *Biotechnology reports*, vol. 14, pp. 1–7, 2017.

- [99] S. Khorrami, A. Zarrabi, M. Khaleghi, M. Danaei, and M. R. Mozafari, "Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties," *Int J Nanomedicine*, pp. 8013–8024, 2018.
- [100] V. T. Noronha *et al.*, "Silver nanoparticles in dentistry," *Dental Materials*, vol. 33, no. 10, pp. 1110–1126, 2017.
- [101] R. Shanmuganathan *et al.*, "An enhancement of antimicrobial efficacy of biogenic and ceftriaxone-conjugated silver nanoparticles: green approach," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 11, pp. 10362–10370, 2018.
- [102] S. Khorrami, F. Jafari Najafabadi, A. Zarepour, and A. Zarrabi, "Is Astragalus gossypinus honey a natural antibacterial and cytotoxic agent? An investigation on A. gossypinus honey biological activity and its green synthesized silver nanoparticles," *Bionanoscience*, vol. 9, no. 3, pp. 603–610, 2019.
- [103] I. X. Yin, J. Zhang, I. S. Zhao, M. L. Mei, Q. Li, and C. H. Chu, "The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry," 2020, *Dove Medical Press Ltd*. doi: 10.2147/IJN.S246764.
- [104] C. Liao, Y. Li, and S. C. Tjong, "Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles," *Int J Mol Sci*, vol. 20, no. 2, p. 449, 2019.
- [105] L. Li *et al.*, "Silver nanoparticles induce protective autophagy via Ca²⁺/CaMKK β /AMPK/mTOR pathway in SH-SY5Y cells and rat brains," *Nanotoxicology*, vol. 13, no. 3, pp. 369–391, 2019.
- [106] R. Shanmuganathan *et al.*, "An enhancement of antimicrobial efficacy of biogenic and ceftriaxone-conjugated silver nanoparticles: green approach," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 11, pp. 10362–10370, 2018.

- [107] T. G. Meikle, B. P. Dyett, J. B. Strachan, J. White, C. J. Drummond, and C. E. Conn, "Preparation, characterization, and antimicrobial activity of cubosome encapsulated metal nanocrystals," *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 12, no. 6, pp. 6944–6954, 2020.
- [108] M. Saravanan, S. Arokiyaraj, T. Lakshmi, and A. Pugazhendhi, "Synthesis of silver nanoparticles from *Phenerochaete chrysosporium* (MTCC-787) and their antibacterial activity against human pathogenic bacteria," *Microb Pathog*, vol. 117, pp. 68–72, 2018.
- [109] A. Pugazhendhi, D. Prabakar, J. M. Jacob, I. Karuppusamy, and R. G. Saratale, "Synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Gelidium amansii* and its antimicrobial property against various pathogenic bacteria," *Microb Pathog*, vol. 114, pp. 41–45, 2018.
- [110] I. X. Yin *et al.*, "Developing biocompatible silver nanoparticles using epigallocatechin gallate for dental use," *Arch Oral Biol*, vol. 102, pp. 106–112, 2019.
- [111] E. Matijevic, "Preparation and properties of uniform size colloids," *Chemistry of materials*, vol. 5, no. 4, pp. 412–426, 1993.
- [112] C. Baker, A. Pradhan, L. Pakstis, D. J. Pochan, and S. I. Shah, "Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles," *J Nanosci Nanotechnol*, vol. 5, no. 2, pp. 244–249, 2005.
- [113] A. Roy, M. Joshi, B. S. Butola, and S. Ghosh, "Evaluation of biological and cytocompatible properties in nano silver-clay based polyethylene nanocomposites," *J Hazard Mater*, vol. 384, p. 121309, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121309>.
- [114] J. Chang, Y. U. An, and G. S. Sur, "Poly (lactic acid) nanocomposites with various organoclays. I. Thermomechanical properties, morphology, and gas permeability," *J Polym Sci B Polym Phys*, vol. 41, no. 1, pp. 94–103, 2003.

- [115] J.-H. Chang, Y. U. An, D. Cho, and E. P. Giannelis, "Poly (lactic acid) nanocomposites: comparison of their properties with montmorillonite and synthetic mica (II)," *Polymer (Guildf)*, vol. 44, no. 13, pp. 3715–3720, 2003.
- [116] E. P. Giannelis, R. Krishnamoorti, and E. Manias, "Polymer-silicate nanocomposites: model systems for confined polymers and polymer brushes," in *Polymers in confined environments*, Springer, 1999, pp. 107–147.
- [117] J. D. F. Ramsay, S. W. Swanton, and J. Bunce, "Swelling and dispersion of smectite clay colloids: determination of structure by neutron diffraction and small-angle neutron scattering," *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, vol. 86, no. 23, p. 3919, 1990.
- [118] M. B. Ahmad, K. Shameli, M. Darroudi, W. M. Z. W. Yunus, and N. A. Ibrahim, "Synthesis and characterization of silver/clay nanocomposites by chemical reduction method," *Am J Appl Sci*, vol. 6, no. 11, p. 1909, 2009.
- [119] Y. U. Gao and Y. Yu, "Deposition of silver nanoparticles on montmorillonite platelets by chemical plating," *J Mater Sci*, vol. 37, no. 23, pp. 5083–5087, 2002.
- [120] M. B. Ahmad, K. Shameli, M. Darroudi, W. M. Z. W. Yunus, and N. A. Ibrahim, "Synthesis and characterization of silver/clay nanocomposites by chemical reduction method," *Am J Appl Sci*, vol. 6, no. 11, p. 1909, 2009.
- [121] S. S. Salem *et al.*, "Synthesis of Silver Nanocomposite Based on Carboxymethyl Cellulose: Antibacterial, Antifungal and Anticancer Activities," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 16, Aug. 2022, doi: 10.3390/polym14163352.
- [122] J.-J. Hwang and T.-W. Ma, "Preparation, morphology, and antibacterial properties of polyacrylonitrile/montmorillonite/silver nanocomposites," *Mater Chem Phys*, vol. 136, no. 2, pp. 613–623, 2012, doi:

<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2012.07.034>.

- [123] J. H. Yeum, J. H. Park, I. K. Kim, and I. W. Cheong, “20 Electrospinning Fabrication and Characterization of Water Soluble Polymer/Montmorillonite/Silver Nanocomposite Nanofibers out of Aqueous Solution.” [Online]. Available: www.intechopen.com
- [124] P. Prema, S. Thangapandiyan, and G. Immanuel, “CMC stabilized nano silver synthesis, characterization and its antibacterial and synergistic effect with broad spectrum antibiotics,” *Carbohydr Polym*, vol. 158, pp. 141–148, 2017, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.083>.
- [125] M. A. Pedroza-Toscano, S. López-Cuenca, M. Rabelero-Velasco, E. D. Moreno-Medrano, A. P. Mendizabal-Ruiz, and R. Salazar-Peña, “Silver Nanoparticles Obtained by Semicontinuous Chemical Reduction Using Carboxymethyl Cellulose as a Stabilizing Agent and Its Antibacterial Capacity,” *J Nanomater*, vol. 2017, 2017, doi: [10.1155/2017/1390180](https://doi.org/10.1155/2017/1390180).
- [126] N. S. Alahmadi, J. W. Betts, T. Heinze, S. M. Kelly, A. Koschella, and J. D. Wadhawan, “Synthesis and antimicrobial effects of highly dispersed, cellulose-stabilized silver/cellulose nanocomposites,” *RSC Adv*, vol. 8, no. 7, pp. 3646–3656, 2018.
- [127] U. Bunyatova, M. Ben Hammouda, and J. Y. Zhang, “Preparation of injectable hydrophilic dextran/AgNPs nanocomposite product: White light active biomolecules as an antitumor agent,” *Int J Biol Macromol*, vol. 245, Aug. 2023, doi: [10.1016/j.ijbiomac.2023.125215](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125215).
- [128] P. Han, W. Martens, E. R. Waclawik, S. Sarina, and H. Zhu, “Metal nanoparticle photocatalysts: synthesis, characterization, and application,” *Particle & Particle Systems Characterization*, vol. 35, no. 6, p. 1700489, 2018.
- [129] B. J. Wiley, S. H. Im, Z.-Y. Li, J. McLellan, A. Siekkinen, and Y. Xia, “Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through

shape-controlled synthesis,” 2006, *ACS Publications*.

- [130] M. A. Noginov *et al.*, “The effect of gain and absorption on surface plasmons in metal nanoparticles,” *Applied Physics B*, vol. 86, no. 3, pp. 455–460, 2007.
- [131] U. Bunyatova, I. C. Kocum, K. E. Turkmen, O. E. Haberal, O. Kocak, and H. C. Koca, “Novel concept on in situ syntheses and investigation of photon energy effect on AgNP size with a custom build device for enhanced antimicrobial efficiency,” *Journal of Nanoparticle Research*, vol. 24, no. 12, Dec. 2022, doi: 10.1007/s11051-022-05612-2.
- [132] U. Bunyatova, Z. Rzayev, I. C. Koçum, M. Şimşek, and M. B. Yürüksoy, “Fabrication and characterization of AgNPs incorporated PVA/ODA-MMT and PVP/ODA-MMT nanofiber structures by green electrospinning nanotechnology as excellent conducting and bioengineering nanomaterial,” in *Acta Physica Polonica A*, Polish Academy of Sciences, Apr. 2016, pp. 431–435. doi: 10.12693/APhysPolA.129.431.
- [133] A. Barakat, E. A. Kamoun, S. H. EL-Moslami, M. B. Ghazy, and A. Fahmy, “Photo-curable carboxymethylcellulose composite hydrogel as a promising biomaterial for biomedical applications,” *Int J Biol Macromol*, vol. 207, pp. 1011–1021, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.201>.
- [134] Z. M. O. Rzayev, U. Bunyatova, J. F. Lovell, W. Shen, T. Thomay, and A. Cartwright, “Ag-carried CMC/functional copolymer/ODA-Mt wLED-treated NC and their responses to brain cancer cells,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 92, pp. 463–476, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.05.032>.
- [135] L. Wang, L. Hui, and W. Su, “Superhydrophobic modification of nanocellulose based on an octadecylamine/dopamine system,” *Carbohydr Polym*, vol. 275, p. 118710, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118710>.

- [136] Z. M. O. Rzayev, B. Şenol, and E. A. Soylemez, “Functional Copolymer/Organo-MMT Nanoarchitectures. VIII. Synthesis, Morphology and Thermal Behavior of Poly(maleic anhydride-alt-acrylamide)-Organo-MMT Clays Nanohybrids,” *Engineering*, vol. 03, no. 01, pp. 73–82, 2011, doi: 10.4236/eng.2011.31009.
- [137] A. Almatroudi, “Silver nanoparticles: synthesis, characterisation and biomedical applications,” vol. 15, no. 1, pp. 819–839, 2020, doi: doi:10.1515/biol-2020-0094.
- [138] A. Kövilein, C. Kubisch, L. Cai, and K. Ochsenreither, “Malic acid production from renewables: a review,” Mar. 01, 2020, *John Wiley and Sons Ltd*. doi: 10.1002/jctb.6269.
- [139] N. E. BEKTUR AYKANAT and S. KAÇAR, “T-47D Meme Kanseri Hücreleri Üzerinde Kurkuminin Doz Bağımlı Etkisinin İncelenmesi,” *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, vol. 47, no. 2, pp. 241–245, Aug. 2021, doi: 10.32708/uutfd.963295.
- [140] C. Zanette *et al.*, “Silver nanoparticles exert a long-lasting antiproliferative effect on human keratinocyte HaCaT cell line,” *Toxicology in Vitro*, vol. 25, no. 5, pp. 1053–1060, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.tiv.2011.04.005.
- [141] J. R. Postgate, “A microbial way of death,” *New Scientists*, vol. 122, pp. 43–47, 1989.
- [142] M. Berney, F. Hammes, F. Bosshard, H. U. Weilenmann, and T. Egli, “Assessment and interpretation of bacterial viability by using the LIVE/DEAD BacLight kit in combination with flow cytometry,” *Appl Environ Microbiol*, vol. 73, no. 10, pp. 3283–3290, May 2007, doi: 10.1128/AEM.02750-06.
- [143] S. M. Stocks, “Mechanism and use of the commercially available viability stain, BacLight,” *Cytometry A*, vol. 61, no. 2, pp. 189–195, 2004.

- [144] ThermoFisher, “LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit Protocol,” ThermoFisher. Accessed: Jul. 15, 2025. [Online]. Available: <https://www.thermofisher.com/tr/en/home/references/protocols/cell-and-tissue-analysis/protocols/live-dead-baclight-bacterial-viability-protocol.html>
- [145] Melike İrem YILMAZ, Prof. Dr. Ulviye BUNYATOVA, Dr. Öğr. Üyesi Kübra ERKAN TÜRKMEN, and Öğr. Gör. Dr. Ebru ERDAL, “Kuvöz Kanopisi Yüzeyine Uygulanan Yeni Selüloz Bazlı Nanokompozit Kaplamanın Geliştirilmesi Ve Keratinosit Hücre Hattı (HaCaT) Üzerinde Biyouyumluluk Analizi,” in *IV. INTERNATIONAL CANAKKALE SCIENTIFIC STUDIES CONGRESS*, ASSOC. PROF. BURCAK CAGLA GARIPAGAOGLU, Ed., Çanakkale: (ACADEMY OF SCIENTIFIC AND EDUCATIONAL STUDIES PUBLICATIONS, Jan. 2025, pp. 281–289. Accessed: Jul. 17, 2025. [Online]. Available: <https://kongreases.com/wp-content/uploads/2025/02/CANAKKALE-KITAP.pdf>
- [146] A. Abbaslı, K. E. Türkmen, D. C. Eren, and E. Yildirim, “Antibacterial abilities of Vancomycin interactions in PDEGMA brushes fabricated by interface-mediated PET-RAFT polymerization on implant surfaces,” *J Mater Chem B*, May 2025, doi: 10.1039/d5tb00888c.
- [147] K. Wang, Z. Liu, T. Zhang, Y. Qin, and X. Yang, “Structural transition of synthesized silver nanoparticles under irradiation,” *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 570, pp. 89–95, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.03.004>.
- [148] G. F. Kopytov *et al.*, “The Influence of Ultraviolet Radiation Intensity on the Formation of Silver Nanoparticles by Cavitation-Diffusion Photochemical Reduction,” *Russian Physics Journal*, vol. 67, no. 2, pp. 156–161, Feb. 2024, doi: 10.1007/s11182-024-03102-7.
- [149] B. Kannan *et al.*, “Antidiabetic activity of silver nanoparticles from green synthesis using *Lonicera japonica* leaf extract,” *RSC Adv*, Aug. 2016.

- [150] P. D. Jayanti *et al.*, “Localized surface plasmon resonance properties of green synthesized Ag/rGO composite nanoparticles utilizing *Amaranthus viridis* extract for biosensor applications,” *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, vol. 9, no. 3, p. 100747, 2024, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2024.100747>.
- [151] D. Paramelle, A. Sadovoy, S. Gorelik, P. Free, J. Hobley, and D. G. Fernig, “A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra,” *Analyst*, vol. 139, no. 19, pp. 4855–4861, 2014, doi: 10.1039/C4AN00978A.
- [152] G. C. Bond, “Metal-Catalysed Reactions of Hydrocarbons, Springer Science+ Business Media, Inc., N,” 2005.
- [153] E. Hutter and J. H. Fendler, “Exploitation of Localized Surface Plasmon Resonance,” *Advanced Materials*, vol. 16, pp. 1685–1706, Aug. 2004, doi: 10.1002/adma.200400271.
- [154] W. H. Eisa, T. A. Abdel-Baset, E. M. A. Mohamed, and S. Mahrous, “Crosslinked PVA/PVP Supported Silver Nanoparticles: A Reusable and Efficient Heterogeneous Catalyst for the 4-Nitrophenol Degradation,” *J Inorg Organomet Polym Mater*, vol. 27, no. 6, pp. 1703–1711, Nov. 2017, doi: 10.1007/s10904-017-0632-7.
- [155] S. Elyamny, M. Eltarahony, M. Abu-Serie, M. M. Nabil, and A. E. H. B. Kashyout, “One-pot fabrication of Ag @Ag₂O core-shell nanostructures for biosafe antimicrobial and antibiofilm applications,” *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-01687-4.
- [156] S. Grade *et al.*, “Serum albumin reduces the antibacterial and cytotoxic effects of hydrogel-embedded colloidal silver nanoparticles,” *RSC Adv.*, vol. 2, no. 18, pp. 7190–7196, 2012, doi: 10.1039/C2RA20546G.
- [157] N. Durán, M. Durán, M. B. de Jesus, A. B. Seabra, W. J. Fávaro, and G.

Nakazato, “Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity,” *Nanomedicine*, vol. 12, no. 3, pp. 789–799, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>.

[158] M. Rai, A. Yadav, and A. Gade, “Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials,” *Biotechnol Adv*, vol. 27, no. 1, pp. 76–83, 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>.

[159] Z. Hu, G. He, Y. Liu, C. Dong, X. Wu, and W. Zhao, “Effects of surfactant concentration on alkyl chain arrangements in dry and swollen organic montmorillonite,” *Appl Clay Sci*, vol. 75–76, pp. 134–140, 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2013.03.004>.

[160] I. Sondi and B. Salopek-Sondi, “Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria,” *J Colloid Interface Sci*, vol. 275, no. 1, pp. 177–182, Jul. 2004, doi: [10.1016/j.jcis.2004.02.012](https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012).

[161] G. Franci *et al.*, “Silver nanoparticles as potential antibacterial agents,” 2015, *MDPI AG*. doi: [10.3390/molecules20058856](https://doi.org/10.3390/molecules20058856).

[162] T.-F. Mah, “Biofilm-Specific Antibiotic Resistance,” *Future Microbiol*, vol. 7, no. 9, pp. 1061–1072, 2012, doi: [10.2217/fmb.12.76](https://doi.org/10.2217/fmb.12.76).

[163] M. Otto, “Staphylococcus epidermidis — the ‘accidental’ pathogen,” *Nat Rev Microbiol*, vol. 7, no. 8, pp. 555–567, 2009, doi: [10.1038/nrmicro2182](https://doi.org/10.1038/nrmicro2182).

[164] H. Ben Saad *et al.*, “A Mineral and Antioxidant-Rich Extract from the Red Marine Algae *Alsidium corallinum* Exhibits Cytoprotective Effects Against Potassium Bromate-Induced Erythrocyte Oxidative Damages in Mice,” *Biol Trace Elem Res*, vol. 160, no. 1, pp. 85–96, 2014, doi: [10.1007/s12011-014-0025-5](https://doi.org/10.1007/s12011-014-0025-5).

[165] K. Kalishwaralal, S. BarathManiKanth, S. R. K. Pandian, V. Deepak, and S. Gurunathan, “Silver nanoparticles impede the biofilm formation by

Pseudomonas aeruginosa and *Staphylococcus epidermidis*,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 79, no. 2, pp. 340–344, 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.04.014>.

[166] H. H. Lara, N. V Ayala-Nuñez, L. Ixtepan-Turrent, and C. Rodriguez-Padilla, “Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1,” *J Nanobiotechnology*, vol. 8, no. 1, p. 1, 2010, doi: 10.1186/1477-3155-8-1.

[167] N. Singh, J. Rajwade, and K. M. Paknikar, “Transcriptome analysis of silver nanoparticles treated *Staphylococcus aureus* reveals potential targets for biofilm inhibition,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 175, pp. 487–497, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.12.032.

[168] Y. N. Slavin, J. Asnis, U. O. Häfeli, and H. Bach, “Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity,” Oct. 03, 2017, *BioMed Central Ltd*. doi: 10.1186/s12951-017-0308-z.

[169] M. K. Rai, S. D. Deshmukh, A. P. Ingle, and A. K. Gade, “Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria,” *J Appl Microbiol*, vol. 112, no. 5, pp. 841–852, May 2012, doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x.

[170] J. A. Mohamed and D. B. Huang, “Biofilm formation by enterococci,” *J Med Microbiol*, vol. 56, no. 12, pp. 1581–1588, 2007, doi: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47331-0>.

[171] C. H. Stuart, S. A. Schwartz, T. J. Beeson, and C. B. Owatz, “*Enterococcus faecalis*: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment,” *J Endod*, vol. 32, no. 2, pp. 93–98, Feb. 2006, doi: 10.1016/j.joen.2005.10.049.

[172] M. Guzman, J. Dille, and S. Godet, “Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria,” *Nanomedicine*, vol. 8, no. 1, pp. 37–45, 2012.

- [173] A. Nanda and M. Saravanan, “Biosynthesis of silver nanoparticles from *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE,” *Nanomedicine*, vol. 5, no. 4, pp. 452–456, 2009.
- [174] V. Ahluwalia, J. Kumar, R. Sisodia, N. A. Shakil, and S. Walia, “Green synthesis of silver nanoparticles by *Trichoderma harzianum* and their bio-efficacy evaluation against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumonia*,” *Ind Crops Prod*, vol. 55, pp. 202–206, 2014.
- [175] K. Silva Santos, A. M. Barbosa, L. Pereira da Costa, M. S. Pinheiro, M. B. P. Oliveira, and F. Ferreira Padilha, “Silver nanocomposite biosynthesis: Antibacterial activity against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*,” *Molecules*, vol. 21, no. 9, p. 1255, 2016.
- [176] H.-C. Flemming and J. Wingender, “The biofilm matrix,” *Nat Rev Microbiol*, vol. 8, no. 9, pp. 623–633, 2010, doi: 10.1038/nrmicro2415.
- [177] M. Rai, A. Yadav, and A. Gade, “Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials,” *Biotechnol Adv*, vol. 27, no. 1, pp. 76–83, 2009, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>.
- [178] K. Kalishwaralal, S. BarathManiKanth, S. R. K. Pandian, V. Deepak, and S. Gurunathan, “Silver nanoparticles impede the biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 79, no. 2, pp. 340–344, Sep. 2010, doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.04.014.
- [179] H. Rohde, S. Frankenberger, U. Zähringer, and D. Mack, “Structure, function and contribution of polysaccharide intercellular adhesin (PIA) to *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and pathogenesis of biomaterial-associated infections,” *Eur J Cell Biol*, vol. 89, no. 1, pp. 103–111, 2010, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2009.10.005>.

- [180] M. Otto, “Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections,” Mar. 2012. doi: 10.1007/s00281-011-0296-2.
- [181] D. Wu, W. Fan, A. Kishen, J. L. Gutmann, and B. Fan, “Evaluation of the Antibacterial Efficacy of Silver Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* Biofilm,” *J Endod*, vol. 40, no. 2, pp. 285–290, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.joen.2013.08.022.
- [182] A. Kishen, Z. Shi, A. Shrestha, and K. G. Neoh, “An Investigation on the Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Cationic Nanoparticulates for Root Canal Disinfection,” *J Endod*, vol. 34, no. 12, pp. 1515–1520, Dec. 2008, doi: 10.1016/j.joen.2008.08.035.

EKLER

EK 1: Sentez Sürecinde Kullanılan Mavi LED'in Teknik Özellikleri

P2N serisi LED'lere ait veri sayfasında (datasheet), tablolar içinde yer alan D tipi (Royal Blue) ve tepe dalga boyu yaklaşık 450 nm olan verilere bakınız.



P2N LED

High Power LED

Introduction

The P2N LED brings industry leading technology to the solid state lighting market with its high quality and performance. With a silicone lens, P2N LEDs feature very high brightness and efficacy, as well as excellent lifetime. P2N LEDs are reflow solderable and the light output decay is less than 10% under crucial test conditions (700mA, ambient 85°C and 85%RH).



With special phosphor technology, warm white P2N LEDs have very good color stability under high temperature conditions. The typical CCT change is less than 50K when the junction temperature reaches 100°C.

Table of Contents

Features.....	1
Characteristics	1
Relative Spectral Power Distribution	4
Typical Light Output Characteristics vs. Junction Temperature	5
Typical Spatial Radiation Pattern	6
Thermal Design	8
Typical Forward L-I Characteristics	9
Typical Forward I-V Characteristics	10
Mechanical Dimensions	11
Shipping Package Information	12
Recommended Solder Pad Design	13
Recommended Soldering Profile	14
Reliability	15

RoHS Compliant

Features

- Excellent Operating Life
- High Efficacy
- Low Thermal Resistance
- Superior ESD Protection
- No UV
- SMD Device
- Instant Light
- Fully Dimmable
- RoHS Compliant

Characteristics

Absolute Ratings

Parameter	Rating
	White Series / Royal Blue / Blue / Green / Amber / Red
DC Forward Current (mA)	700 mA
LED Junction Temperature	125°C
LED Operating Temperature	-40°C~110°C
Storage Temperature	-40°C~110°C
Soldering Temperature	Max. 260°C / Max. 10sec. (JEDEC 020c)
ESD Sensitivity	2,000 V HBM (JESD-22A-114-B)
Reverse Voltage	Not designed to be driven in reverse bias (VR ≤ 5V)
Preconditioning	Acc. to JEDEC Level 2

General Characteristics at 350Ma

Part number	Color	Typ CRI	Dominant Wavelength λ_d Peak Wavelength λ_p *		$2\theta_{1/2}$ degree	Temperature Coefficient of Vf (mV/°C) $\Delta V_F / \Delta T_J$	Thermal Resistance Junction to Lead (°C/W) RO_{J-L}
			Min	Max			
P2N-W	Daylight	70	4750K	7000K	150	-3	10
	Warm White	80	2600K	3700K	125	-3	10
P2N-R	Red	-	620	635	140	-	10
P2N-S	Super Red	-	655*	665*	140	-	10
P2N-A	Amber	-	580	600	140	-	10
P2N-G	Green	-	520	535	140	-3	10
P2N-B	Blue	-	460	470	140	-3	10
P2N-D	Royal Blue	-	440*	460*	140	-3	10

Notes :

1. The CCT is measured with an accuracy of $\pm 200K$
2. The peak/dominant wavelength is measured with an accuracy of $\pm 1nm$

Luminous Flux and Forward Voltage

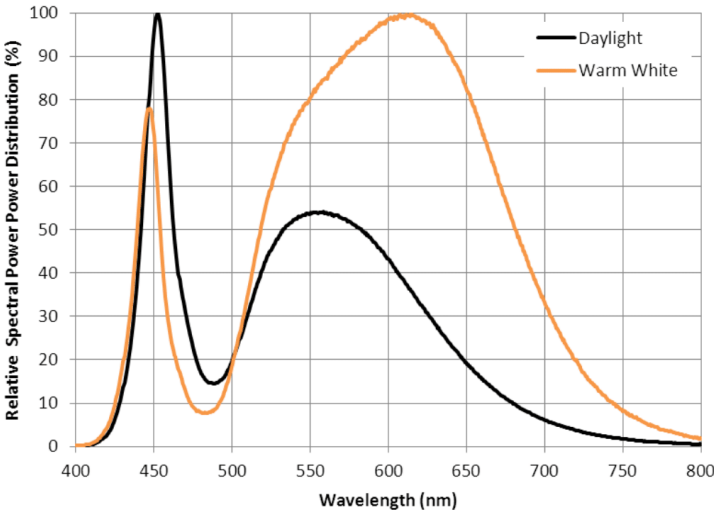
Part number	Color	Performance at Test Current (350mA)				Performance at 700mA
		Group	Minimum Luminous Flux (lm)	VF		Typical Luminous Flux (lm) or
				Min	Max	
P2N-W	Daylight	U3	100	2.8	3.8	170
		VA	110	2.8	3.8	185
		VB	120	2.8	3.8	200
		VC	130	2.8	3.8	220
	Warm white	VD	140	2.8	3.8	240
		UA	80	2.8	3.8	141
		U2	90	2.8	3.8	160
		U3	100	2.8	3.8	170
P2N-R	Red	VA	110	2.8	3.8	185
		S1	50	2	3.4	95
		S2	55	2	3.4	100
		T1	65	2	3.4	125
P2N-S	Super Red	TU	75	2	3.4	145
		D1	200*	2	3.4	395*
		D2	240*	2	3.4	460*
		D3	280*	2	3.4	540*
P2N-A	Amber	D4	320*	2	3.4	615*
		R2	45	2	3.4	85
		S1	50	2	3.4	95
		S2	55	2	3.4	100
P2N-G	Green	T1	65	2	3.4	125
		TU	75	2.8	3.8	145
		U2	90	2.8	3.8	175
		U3	100	2.8	3.8	195
P2N-B	Blue	N0	18	2.8	3.8	33
		P1	22	2.8	3.8	40
		P2	26	2.8	3.8	47
		Q1	30	2.8	3.8	54
P2N-D	Royal Blue	E2	440*	2.8	3.8	780*
		E3	480*	2.8	3.8	850*
		E4	520*	2.8	3.8	920*
		E5	560*	2.8	3.8	990*

Notes:

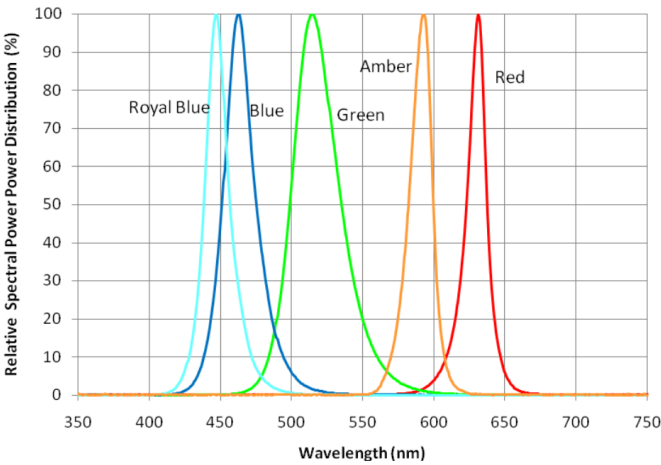
1. Luminous flux is measured with an accuracy of $\pm 10\%$
2. The forward voltage is measured with an accuracy of $\pm 0.1V$

Relative Spectral Power Distribution, Ta=25 °C

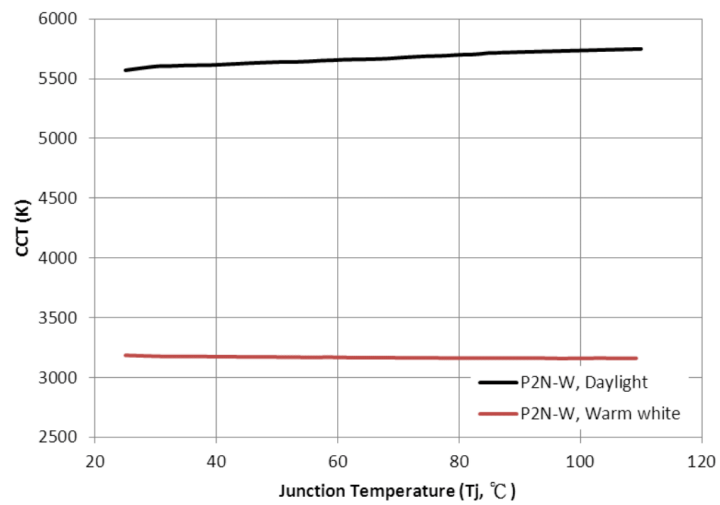
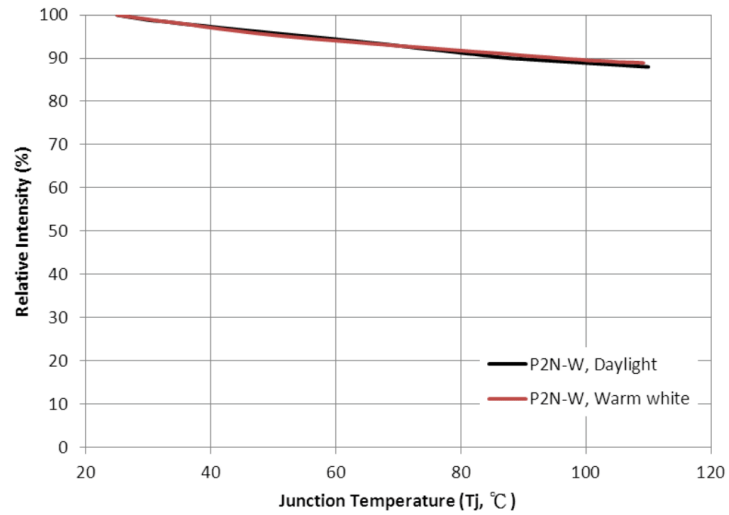
White light



Royal Blue / Blue / Green / Amber / Red

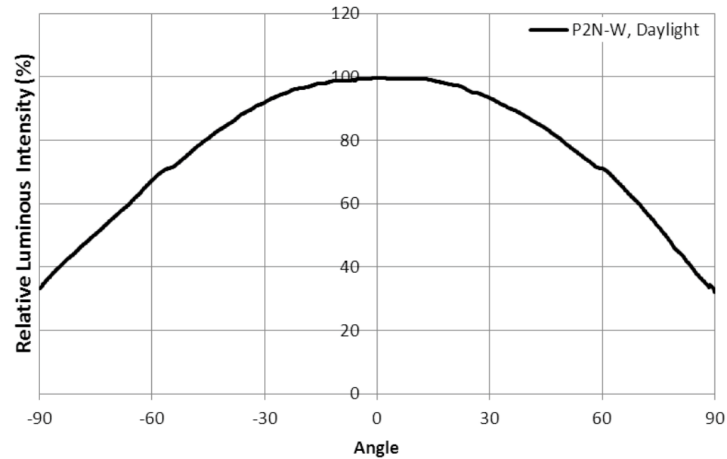


Typical Light Output Characteristics Vs. Temperature

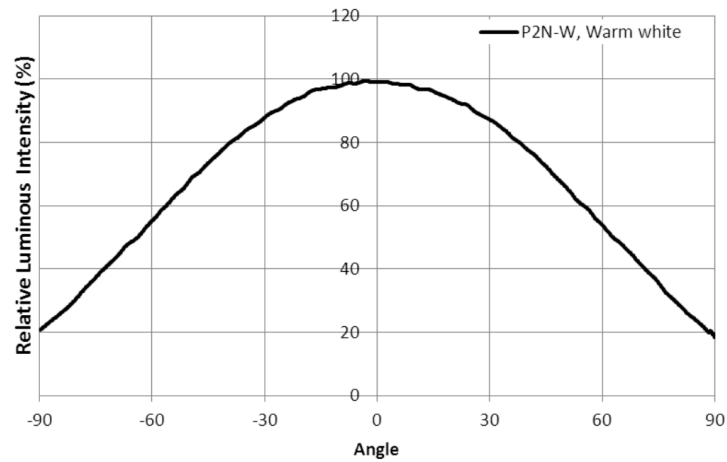


Typical Spatial Radiation Pattern

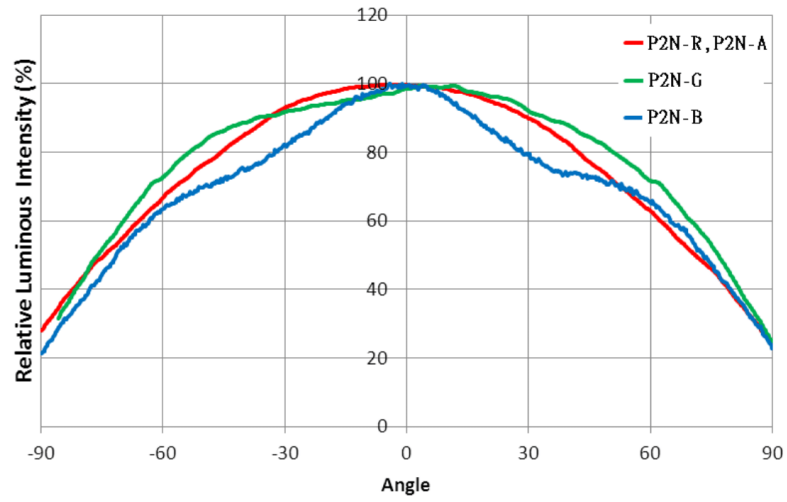
P2N-W, Daylight



P2N-W, Warm White

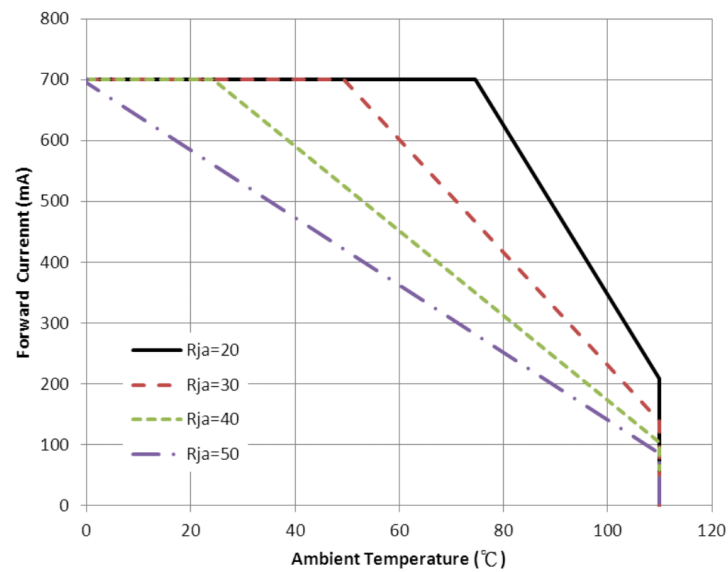


P2N-R, P2N-A, P2N-G, P2N-B



Thermal Design

Thermal design of the end product is important. The thermal resistance between the junction and the solder point (RO_{J-L}) is $10^{\circ}\text{C}/\text{W}$, and the end product should be designed to minimize the thermal resistance from the solder point to ambient in order to optimize the emitter life and optical characteristics. The maximum operation current is determined by the plot of Allowable Forward Current vs. Ambient Temperature.



The junction temperature can be correlated to the thermal resistance between the junction and ambient (R_{ja}) by the following equation.

$$T_j = T_a + R_{ja} \cdot W$$

T_j : LED junction temperature

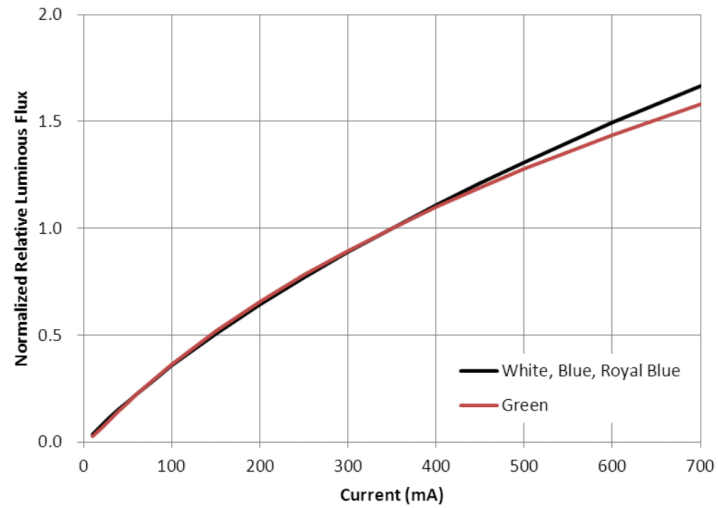
T_a : Ambient temperature

R_{ja} : Thermal resistance between the junction and ambient

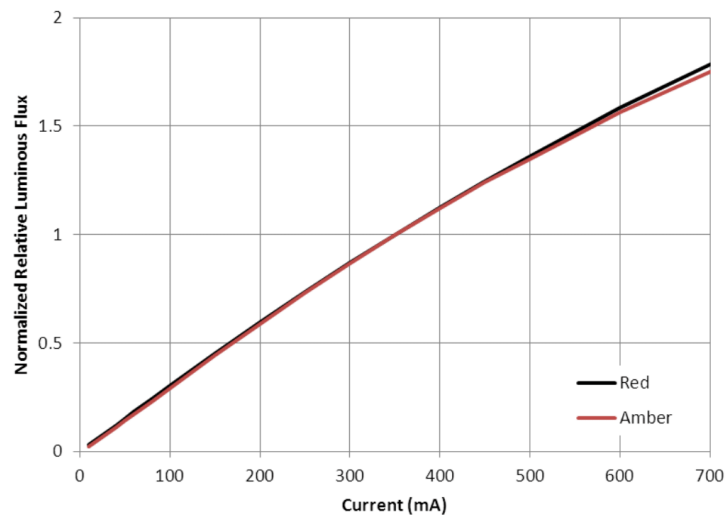
W : Input power ($I_f \cdot V_f$)

Typical Forward L-I Characteristics

White Series/ Green / Blue / Royal Blue

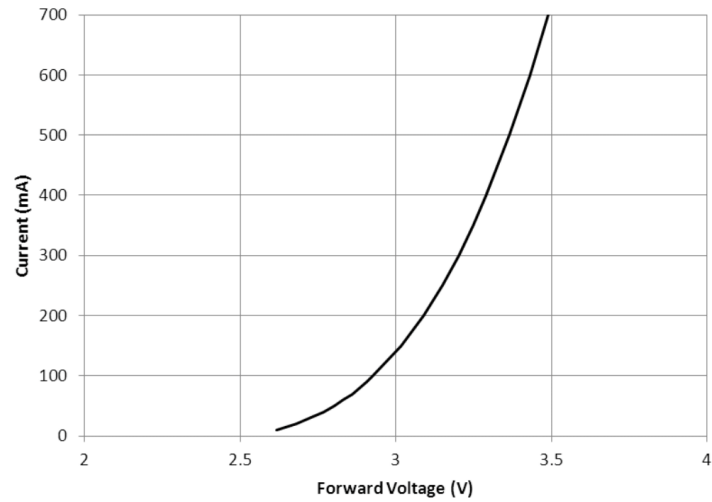


Amber / Red

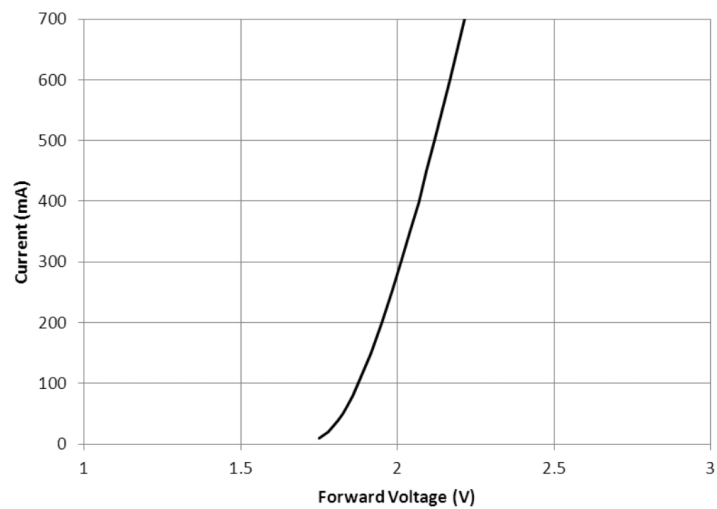


Typical Forward I-V Characteristics

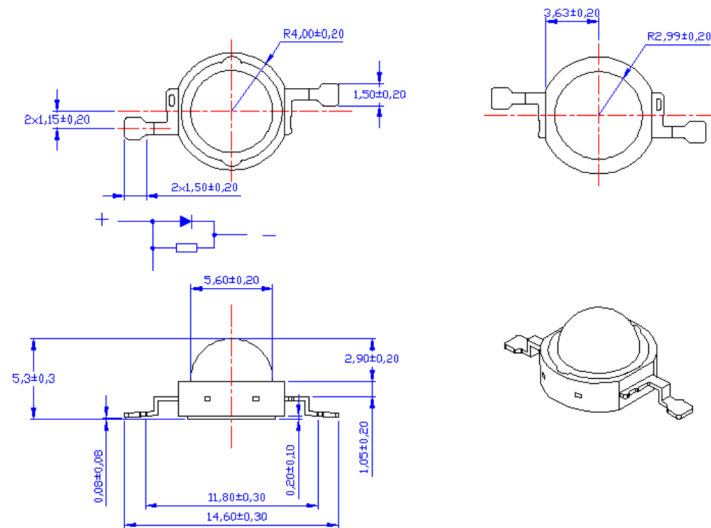
White series/ Green / Blue / Royal Blue



Amber / Red



Mechanical Dimensions

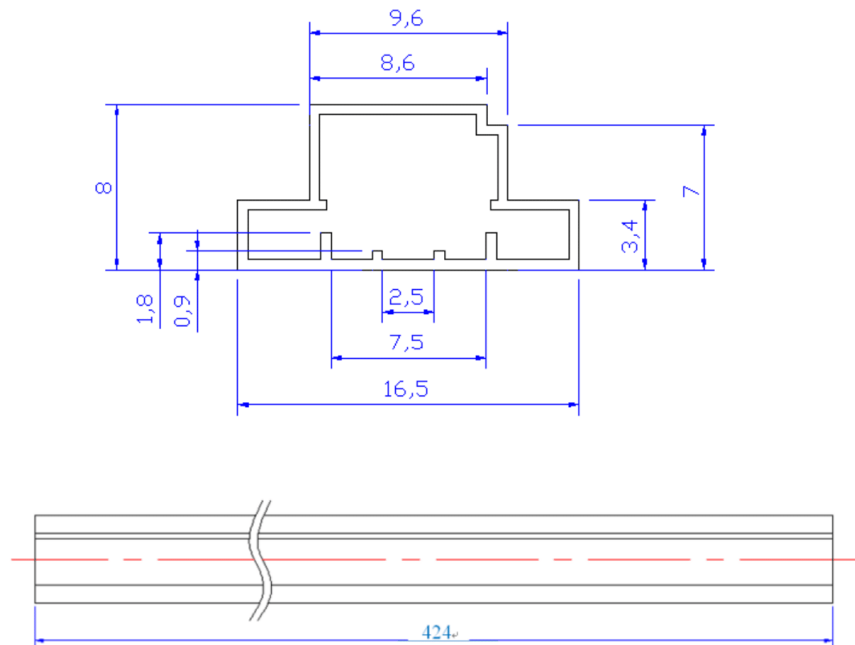


Notes:

1. Drawing is not to scale
2. All dimensions are in millimeter

Shipping Package Information

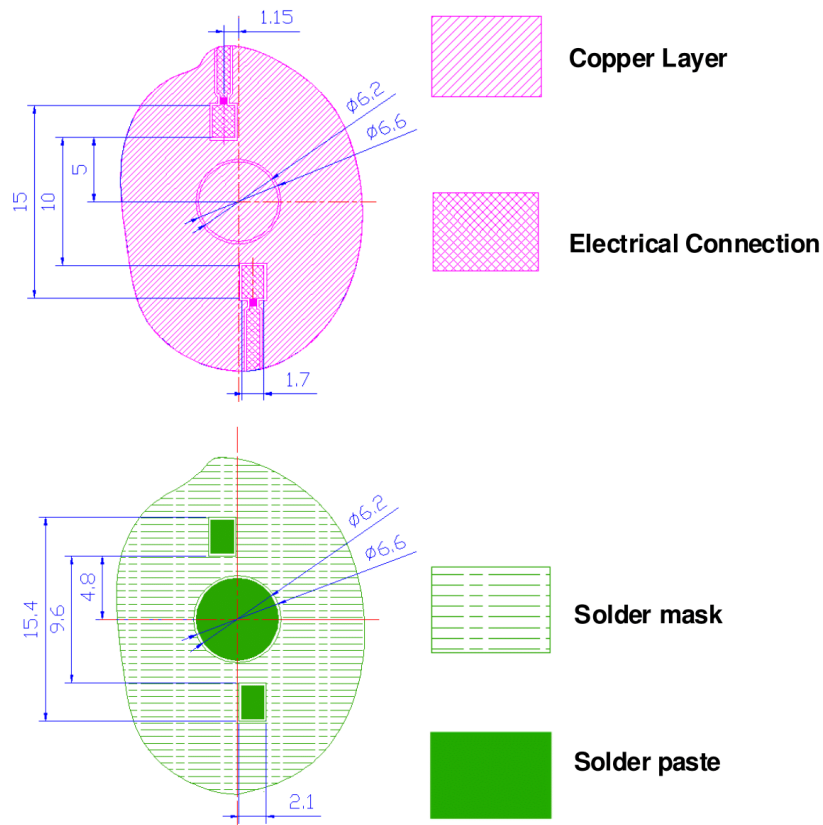
Tube



All dimensions are in millimeter

	Dimensions (L*W*H)	Emitter Quantity
Tube	424*16,7*10,0 mm	50 EA

Recommended Solder Pad Design

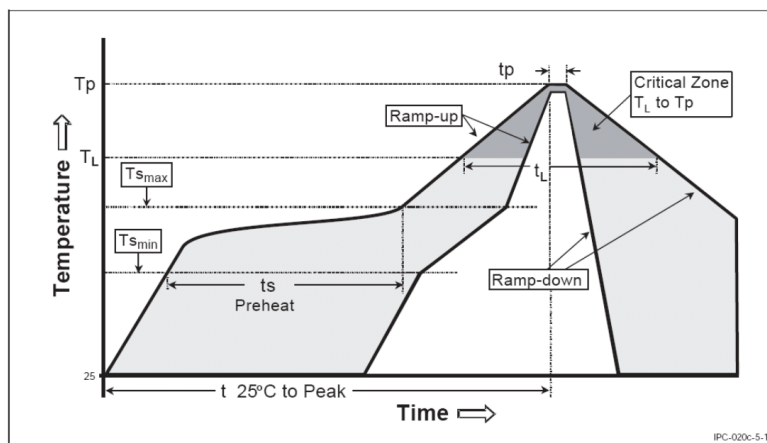


Notes:

1. Drawing is not to scale
2. All dimensions are in millimeter

Recommended Soldering Profile

The LEDs can be soldered using the parameter listed below. As a general guideline, the users are suggested to follow the recommended soldering profile provided by the manufacturer of the solder paste. Although the recommended soldering conditions are specified in the list, reflow soldering at the lowest possible temperature is preferred for the LEDs.



Profile Feature	Sn-Pb Eutectic Assembly	Pb-Free Assembly
Average Ramp-up Rate ($T_{S_{max}}$ to T_p)	3°C/second max.	3°C/second max.
Preheat		
- Temperature Min($T_{S_{min}}$)	100°C	150°C
- Temperature Max($T_{S_{max}}$)	150°C	200°C
- Time($t_{S_{min}}$ to $t_{S_{max}}$)	60-120 seconds	60-180 seconds
Time maintained above:		
- Temperature(T_i)	183°C	217°C
- Time(t_i)	60-150 seconds	60-150 seconds
Peak/classification Temperature(T_p)	215°C	240°C
Time within 5°C of actual Peak Temperature(t_p)	10-30 seconds	20-40 seconds
Ramp-Down Rate	6°C/second max.	6°C/second max.
Time 25°C to Peak Temperature	6 minutes max.	8 minutes max.

Reliability Information

Stress Test	Stress Condition	Stress Duration
Room Temperature Operating Life (RTOL)	Tb=25°C, If=700mA	1000 hours
High Temperature Operating Life (HTOL)	Tb=85°C, If=700mA	1000 hours
Wet High Temperature Operating Life (WHTOL)	Ta=85°C, RH=85%, If=700mA	1000 hours
Temperature Cycles (TMCL)	-40°C/125°C, 15min dwell, 5min transfer	200 cycles
High Temperature Storage Life (HTSL)	Ta=110°C, non-operating	1000 hours
Low Temperature Storage Life (LTOL)	Ta=-40°C non-operating	1000 hours
Solder Heat Resistance (SHR)	240°C, 10 sec	

Failure Criteria:

1. Brightness attenuate difference <10%
2. Forward voltage difference: $\pm 20\%$

Notes:

1. Tb: board temperature
2. Ta: ambient temperature

Notice:

This product is ***not for use, sale, or importation into the United States***. Any agreement, documentation, or communication (in any form, through any medium and for any purpose) related to this product is provided subject to the above disclaimer, and no (and seller hereby disclaims any) indemnification is provided for this product against any infringement claim of intellectual property rights in the United States. The limitations above do not apply to products that are purchased and delivered before October 1, 2012.

About Us

SemiLEDs Corporation is a US based manufacturer of ultra-high brightness LED chips with state of the art fabrication facilities in Hsinchu Science Park, Taiwan. SemiLEDs specializes in the development and manufacturing of vertical LED chips in blue (white), green, and UV using a patented copper alloy base. This unique design allows for higher performance and longer lumen maintenance. In December 2008, The World Economic Forum recognized SemiLEDs innovations with the 2009 Technology Pioneer Award. SemiLEDs is fully ISO 9001:2008 and ISO 14001:2004 Certified.

SemiLEDs is a publicly traded company on NASDAQ Global Select Market (stock symbol "LEDS"). For investor information, please contact us at investors@semileds.com.

For further company or product information, please visit us at www.semileds.com or please contact sales@semileds.com.



ASIA PACIFIC
3F, No. 11, KeJung Rd.
Chu-Nan Site
Hsinchu Science Park
Chu-Nan 350, Miao-Li County
Taiwan, ROC

Tel: +886-37-586788
Fax: +886-37-582688
sales@semileds.com