



**ÇİNKO OKSİT (ZnO)  
NANOPARTİKÜLLERİNİN  
ANTİFUNGAL AKTİVİTESİNİN  
BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

İzel BAHADIR

Eskişehir 2020

**ÇİNKO OKSİT (ZnO) NANOPARTİKÜLLERİNİN ANTİFUNGAL  
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**İzel BAHADIR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Rasime DEMİREL**

**(İkinci Danışman: Prof. Dr. Ender SUVACI)**

**Eskişehir**

**Eskişehir Teknik Üniversitesi**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Ocak 2020**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

İzel BAHADIR'ın "Çinko Oksit (ZnO) Nanopartiküllerinin Antifungal Aktivitesinin Belirlenmesi" başlıklı tezi 15/01/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Jüri Üyeleri</u>	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	Doç. Dr. Rasime DEMİREL	.....
Üye	Prof. Dr. Merih KIVANÇ	.....
Üye	Prof. Dr. İlknur DAĞ	.....

Prof. Dr. Murat TANIŞLI  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

## FINAL APPROVAL FOR THESIS

This thesis titled “Determination of Antifungal Activity of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles” has been prepared and submitted by İzel BAHADIR in partial fulfillment of the requirements in “Eskişehir Technical University Directive on Graduate Education and Examination” for the Degree of Master of Science in Biology Department has been examined and approved on 15/01/2020.

<b><u>Committee Members</u></b>	<b><u>Title, Name and Surname</u></b>	<b><u>Signature</u></b>
Member (Supervisor)	Assoc. Prof. Dr. Rasime DEMİREL	.....
Member	Prof. Dr. Merih KIVANÇ	.....
Member	Prof. Dr. İlknur DAĞ	.....

Prof. Dr. Murat TANIŞLI  
Director of Institute

## ÖZET

# ÇİNKO OKSİT (ZnO) NANOPARTİKÜLLERİNİN ANTİFUNGAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

İzel BAHADIR

Biyoloji Anabilim Dalı

Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2020

Danışman: Doç. Dr. Rasime DEMİREL

(İkinci Danışman: Prof. Dr. Ender SUVACI)

Küfler, çeşitli hava hareketleri ile iç ortamlara sporlarını kolaylıkla taşıyabilirler ve gerekli ortam şartları sağlandığında taşındıkları ortamda hızlı bir şekilde çoğalarak yayılış gösterir. Küflere ait olan sporların etrafa yayılması ile de çeşitli ikincil hastalıkların oluşması için uygun ortam sağlanmış olur. Özellikle hastane, okul, toplu taşıma alanları gibi halka açık yerlerde kişiden kişiye de hastalıkların bulaşmasını kolaylaştırır. Söz konusu mikroorganizma grubunun, iç ortam havasındaki sayısının azaltılması ve daha temiz bir ortam oluşturulması için çeşitli biyomalzemelerin, biyoplastiklerin, boyaların, metal ve cam araç-gereçlerin yapımı artmış durumdadır. Bu çalışmada çinko oksit ve/veya gümüş ile zenginleştirilmiş formlarından oluşan 10 adet özel tasarlanmış nanopartikülün, Türkiye'nin 5 farklı yenidoğan ünitesi iç havasından elde edilmiş olan toplam 39 farklı küf türüne karşı antifungal aktivitesi incelenmiştir. Kuyucuk testi, agar dilüsyon testi, minimum inhibe edici konsantrasyonun belirlenmesi yöntemleri kullanılarak antifungal aktivite incelenmiştir ve etkin dozların etki mekanizmalarının belirlenmesi üzerine uygulama gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, incelenen nanopartiküllerin test mikroorganizmaları üzerinde farklı seviyelerde antifungal etki özelliğine sahip oldukları ve bu etkinin gümüş katkısı ile değişken sonuçlar sergilediği belirlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Çinko oksit, Gümüş, İç hava, Küf, Nanopartikül.

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ZINC OXIDE (ZnO) NANOPARTICLES

İzel BAHADIR

Department of Biology

Programme in Basic and Industrial Microbiology

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, January 2020

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Rasime DEMİREL

(Co-Supervisor: Prof. Dr. Ender SUVACI)

Microfungi can easily carry their spores to indoor environments thanks to various air movements. The microorganisms in question rapidly proliferate and spread in the environment where they are transported when the necessary environmental conditions are provided. As the spores of the microfungi spread out, a suitable environment paves the way for the arising of various secondary diseases. Especially in public places such as hospitals, schools and public transportation areas, it makes the transmission of diseases from person to person easier. The production of various biomaterials, bioplastics, paints, metal and glass equipment has been increased to reduce the number of this microorganism group in indoor air and to create a cleaner environment. In this study, the antifungal activity of 10 different specially designed nanoparticles based from zinc oxide and enriched with silver against was performed against to 39 different microfungus species isolated from indoor air of 5 different newborn units of Turkey. The antifungal activity was investigated by using agar well diffusion, agar dilution, and minimum inhibitory concentration methods and focused on determination of activity mechanisms of effective doses. As a result, we exhibited that test nanoparticles have antifungal activity on different levels and silver doped forms showed variable effects.

**Key words:** Zinc oxide, Silver, Airborne, Microfungi, Nanoparticle.

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde, bana her türlü desteği sağlayan ve bu süreçte tüm bilgi ve tecrübeleri ile her anlamda bana destek olan, değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Rasime DEMİREL'e,

Tez çalışmamın ikinci danışmanlığını üstlenen ve bana nanoteknoloji konusunda bakış açısı kazandıran değerli Prof. Dr. Ender SUVACI'ya,

Tez materyallerinin sağlanması konusunda bana destek olan başta Entekno Endüstriyel Teknolojik ve Nano Malzemeler San. Tic. A. Ş. ve İsmail ŞAHİN'e,

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme ve mikoloji laboratuvarındaki arkadaşlarıma, en içten teşekkürlerimi sunarım.

İzel BAHADIR

## **ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ**

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programıyla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

(İmza)

İzel BAHADIR



15/01/2020

## **STATEMENT OF COMPLIANCE WITH ETHICAL PRINCIPLES AND RULES**

I hereby truthfully declare that this thesis is an original work prepared by me; that I have behaved in accordance with the scientific ethical principles and rules throughout the stages of preparation, data collection, analysis and presentation of my work; that I have cited the sources of all the data and information that could be obtained within the scope of this study, and included these sources in the references section; and that this study has been scanned for plagiarism with “scientific plagiarism detection program” used by Eskişehir Technical University, and that “it does not have any plagiarism” whatsoever. I also declare that, if a case contrary to my declaration is detected in my work at any time, I hereby express my consent to all the ethical and legal consequences that are involved.

(Signature)

İzel BAHADIR

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

BAŞLIK SAYFASI .....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
TABLolar DİZİNİ .....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
GRAFİKLER DİZİNİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiii
1. GİRİŞ .....	1
1.1 Genel bilgi.....	3
1.1.1. Mantarların temel özellikleri.....	3
1.1.2. Mantarların sayısını ve yayılışını etkileyen faktörler .....	4
1.1.3. Mantarların yararları ve zararlı faaliyetleri.....	5
1.1.4. İç hava küfleri ve önemi .....	5
1.1.5. Nanopartiküller, kullanım alanları ve nanopartiküllerin üstün yanları .....	7
1.1.5.1. <i>Nanopartiküller ve kullanım alanları</i> .....	7
1.1.5.2. <i>Nanopartiküllerin üstün yanları</i> .....	7
1.1.6. Nanopartiküllerin küfler üzerine antifungal etkisi.....	8
1.1.7. Nanopartiküllerin etki mekanizmaları .....	9
2. MATERYAL VE YÖNTEM .....	11
2.1. Materyal.....	11

2.1.1. Aktivitesi test edilen nanopartiküller .....	11
2.1.2. Test küfleri.....	13
2.1.3. Besiyerleri ve çözeltiler.....	15
2.1.3.1. <i>Besiyerleri</i> .....	15
<i>Potato dextrose agar besiyerinin hazırlanması</i> .....	16
<i>Potato dextrose broth hazırlanması</i> .....	16
<i>Malt extract agar</i> .....	16
2.1.3.2. <i>Çözeltiler</i> .....	17
<i>% 0.1'lik Tween 80 hazırlanması</i> .....	17
<i>Di metil sülfoksit hazırlanması</i> .....	17
<i>Phosphate buffered saline ve GW hazırlanması</i> .....	17
2.2. Yöntem.....	17
2.2.1. Test küflerinin 3 nokta ekim ile aktive edilmesi .....	17
2.2.2. Aktive edilen test küflerinin spor sayımı .....	17
2.2.3. Kuyucuk testi.....	18
2.2.4. Agar dilüsyon testi .....	18
2.2.5. Minimum inhibe edici konsantrasyonun belirlenmesi .....	19
2.2.6. Ultra yapısal değişimlerin incelenmesi .....	20
3. BULGULAR.....	22
3.1. Kuyucuk testi.....	22
3.2. Agar dilüsyon testi .....	25
3.3. Minimum inhibe edici konsantrasyonun belirlenmesi .....	30
3.4. Maruziyet sonucu oluşan ultra yapısal değişimlerin incelenmesi .....	34
4. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	40
4.1. Sonuç ve Tartışma .....	40
4.2. Öneriler.....	45
KAYNAKÇA.....	46
ÖZGEÇMİŞ	

## TABLolar DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> Aktivitesi test edilecek nanopartiküller .....	11
<b>Tablo 2.2.</b> Test küfleri ve kaynakları .....	13
<b>Tablo 2.3.</b> TEM için kullanılacak küfler ve nanopartiküller .....	20
<b>Tablo 3.1.</b> Zon çapı değerleri .....	22
<b>Tablo 3.2.</b> Nanopartiküllerin etki dereceleri .....	26
<b>Tablo 3.3.</b> Sporlanma derecelerine ait etki değerleri .....	27
<b>Tablo 3.4.</b> Test nanopartiküllerine ait minimum inhibe edici konsantrasyon değerleri.	31

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 1.1. Nanopartiküllerin üstün yanları .....	8
Şekil 1.2. Küf hücreleri üzerine nanopartiküllerin etkisi.....	10
Şekil 2.1. Test nanopartiküllerine ait SEM görüntüleri .....	12
Şekil 2.2. Kuyucuk testi .....	18
Şekil 2.3. Agar dilüsyon testi.....	19
Şekil 2.4. Tek bir nanopartikül için minimum inhibe edici test .....	20
Şekil 3.1. Temsilci mikroorganizmaya ait kuyucuk testi görüntüsü .....	22
Şekil 3.2. Temsilci mikroorganizmaya ait agar dilüsyon testi görüntüsü .....	26
Şekil 3.3. Temsilci mikroorganizmaya ait MİK görüntüsü .....	30
Şekil 3.4. TEM analizinde kullanılacak numuneler .....	34
Şekil 3.5. <i>Aspergillus terrues</i> 'a ait TEM görüntüsü.....	35
Şekil 3.6. <i>Aspergillus tubingensis</i> 'e ait TEM görüntüsü .....	36
Şekil 3.7. <i>Penicillium chrysogenum</i> 'a ait TEM görüntüsü .....	37
Şekil 3.8. <i>Rhizopus microsporus</i> 'a ait TEM görüntüsü.....	38

## GRAFİKLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Grafik 4.1.</b> Orta derecede benzerlik gösteren yüzelik küf sayısı .....	41
<b>Grafik 4.2.</b> Düşük derecede benzerlik gösteren yüzelik küf sayısı.....	42
<b>Grafik 4.3.</b> Nanopartiküllerin farklı dozlarda etkilediği küf sayısı .....	43



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kob	: Koloni Oluşturan Birim
m <sup>3</sup>	: Metreküp
°C	: Santigrat
Ø	: Çap
pH	: Hidrojen Gücü
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
g	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
atm	: Atmosferik Basınç
dk	: Dakika
PDA	: Patates Dekstroz Agar
MEA	: Malt Ekstrat Agar
DMSO	: Di Metil Sülfoksit
PDB	: Patates Dekstroz Broth
PBS	: Phosphate buffered saline
GW	: Glutaraldehyde
MİK	: Minimum İnhibe edici Konsantrasyon
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
SEM	:Taramalı Elektron Mikroskobu
ZnO	: Çinko Oksit
Ag	: Gümüş

## 1.GİRİŞ

Küfler, doğada en yaygın bulunan ökaryotik canlılar olup, su ve organik madde bulunan her ortamda kolaylıkla çoğalma yeteneğine sahiptirler. Saprofitik ve parazitik çeşitleri ile havadan, sudan, topraktan ve bitkilerden izole edilebilirler (Şimşekli vd., 2000).

Küfler, dış ortamda çok fazla bulunurlar ve çeşitli hava hareketleri ile iç ortamlara sporlarını kolaylıkla taşıyabilirler. Söz konusu mikroorganizma gerekli ortam şartları sağlandığında taşındıkları ortamda hızlı bir şekilde çoğalabilme yeteneğine sahiptirler. Bununla birlikte küfler sıcaklık, su, oksijen, pH gibi şartların çok düşük ya da çok yüksek olduğu durumlarda hayatta kalma yeteneğine de sahiptirler (Chao vd., 2002).

Kapalı bir ortamdaki küf sporu konsantrasyonu için sağlık açısından 1000 kob/m<sup>3</sup> sınır değer olarak kabul edilmektedir ve bu koloni sayısının 150-1000 kob/m<sup>3</sup> olması, insan sağlığını etkileyecek problemlere yol açmaktadır (Çöl ve Aksu, 2007).

Çeşitli nedenler ile hastalanan kişilerin hastaneye yatış nedeninin dışında, en erken 48-72 saat sonra ortaya çıkan enfeksiyonlar yani hastane enfeksiyonlarının (Nozokomiyal enfeksiyonlar) yoğunlukları hastanelerde yüksektir (Letrilliart vd., 2001).

Nozokomiyal enfeksiyonlar pek çok hastanede önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır ve bu derece önemli enfeksiyonlar daha fazla ölüm yaşanmasına da neden olabilmektedir (Beggs, 2003).

Hastane enfeksiyonları hastanenin tüm servislerinde ve tüm yaş gruplarında görülebilmektedir. Fakat yaşlı, altta yatan kronik hastalığı olanların yanısıra, çocuk hastalar hastane enfeksiyonu gelişmesi açısından en riskli grubu oluşturmaktadır. Çocuk hastalar arasında hastane enfeksiyonu riski açısından prematüre ve yeni doğanlar ilk sırada yer almaktadırlar (Gürler, 2004).

Hastanelerde hava ile taşınan çoğu mikroorganizma hastane personeli, hastalar ve ziyaretçiler tarafından salınmaktadırlar. Bu durum beraberinde çeşitli bulaşmaları getirmektedir. Binalarda bulunan kişi sayısı ne kadar fazla ise havadaki organizma yükü de o kadar fazladır. Bu nedenle havanın mikroorganizma yükü çok değişkendir. İnsan ve yapılan iş tipine, sayısına bağlı olarak büyük oranda değişiklik göstermektedir (Beggs, 2003).

Türkiye’de iç hava kalitesine dair bir çalışma TÜBİTAK-1001, 111T925 no’lu proje ile gerçekleştirilmiş ve bu çalışmada Türkiye’nin beş farklı ilindeki yeni doğan



unitelerinin iç havasındaki küfler dikkate alınmıştır. Bu çalışma ile de önemli seviyede bir küf probleminin varlığı belirlenmiş ve yayınlanmıştır. Ayrıca çalışma ile belirlenen küf çeşitliliğinin çeşitli hastalıklara özellikle de yenidoğan ünitesindeki hasta profili için önemli hastalıklara neden olabileceği kaydedilmiştir (Demirel vd., 2017). 111T925 no'lu proje çalışması ile ortaya konulmuş olan problem hakkında disiplinler arası tasarlanmış olan bu çalışma ile çözüm önerilerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla Türkiye'nin beş farklı hastanesinde yer alan yenidoğan ünitelerinden elde edilmiş olan küflerin inhibe edilmesi konusunda çeşitli nanopartiküllerin etkinliğinin belirlenmesi üzerine odaklanılmıştır. Test edilen nanopartiküller çinko oksit kökenli olup gümüş zenginleştirmesinin antifungal etkiye katkısının olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir.

## 1.1. Genel Bilgi

### 1.1.1. Mantarların temel özellikleri

Mantarlar (Funguslar), ökaryotik ve hazır organik maddelerle beslenmek zorunda olan heterotrof organizmalardır. Mantar hücrelerinde çeper yapısı, kitin veya selülozun amorf matriks içinde yayılmış mikrofibrillerinden oluşmuş olup temel üreme birimlerini sporlar temsil etmektedir. Sınıflandırmada Mantar alemi içerisinde yer alırlar (Kaşık, 2010).

Mantarlar, fotosentetik pigment içermezler, bu nedenle besinlerini diğer canlıların hazırladığı organik maddelerden genellikle absorpsiyon ile alırlar. Mantarlarda vejetatif yapı tallus adını alır. Tallus, yaklaşık 5 mm çapındaki iplikçiklerin dallanarak çoğalmasından oluşur ve tüm alana yayılır. Vejetatif yapıyı oluşturan iplikçiklerin her birine **hif**, bir türe ait hiflerin tümüne ise **misel** denir. Bazı mantarlarda hifi oluşturan uzun, silindirik hücreler genellikle **septum** denen bölmelerle birbirinden ayrılmaktadırlar (Güven, 2011; Sarıözlü ve Demirel, 2010).

Pek çok mantar, basit inorganik besinleri kullanarak kendi aminoasit, yağ ve vitaminlerini sentezleyebilir fakat heterotrofik olmaları onların bazı maddelerin ayrışmasında rol oynamalarını sınırlar. Eğer substrat ya da besin kaynakları ölü ise saprofitik, canlı ise parazitik olmaktadır (Güven, 2011; Sarıözlü ve Demirel, 2010).

Mantarlarda üreme, eşeyli ve eşeysiz olmak üzere iki tiptir. Eşeyli üreme somatogamie, gametogamie ve gametangiogamie (angiogamie) şeklinde olmaktadır. Eşeysiz üremede karyogami ve mayoz oluşmamaktadır (Kaşık, 2010).

Eşeyli üremenin sınıflandırılması şu şekildedir:

1-Gametogamie: Gametlerin birleşmesi olayıdır. Üçe ayrılmaktadır.

- Isogamie
- Anisogamie
- Oogamie

2-Somatogamie: Somatik yapıların birleşmesi olayıdır. Dörde ayrılmaktadır.

- Hologamie
- Sporoidiogamie
- Sporoidiogamie
- Hyphogamie

3-Angiogamie: Üreme organları birleşir. Dörde ayrılmaktadır.

- Isoangiogamie
- Anisogamie
- Spermatioangiogami
- Hyphoangiogamie

Mantarlardaki gelişmişliğe göre spor oluşturabilme yetenekleri de birtakım farklılıklar sergilemektedir. Mantarlardaki eşeyli üreme sporları şunlardır:

- Oospor: İlkeldir yani az gelişmiştir.
- Zygospor: Rhizopus üyelerinde bulunur.
- Ascospor: Ascomycetes üyelerinde bulunur.
- Basidiospor: Şapkalı mantarlarda bulunur.

Mantarlardaki eşeysiz üreme sporları ise:

- Arthrospor: Hiflerin parçalanması ile oluşur.
- Chlamydospor: Ortam koşulları olumsuzken kalınlaşmış bir çeper oluşturur.
- Conidiospor: Havaya açık olan sporlardır.
- Sporangiospor: *Rhizopus* sp. gibi kese içinde olan sporlardır.
- Blastospor: Mayalar da tomurcuklanmayla gövde üzerinde olan sporlardır (Kaşık, 2010).

### 1.1.2. Mantarların sayısını ve yayılışını etkileyen faktörler

Mantarların diğer canlılar gibi sayısını yani popülasyonunu genişletebilmesi için birtakım koşullar gereklidir. Bu koşulların optimal düzeyde olması gelişimin kontrollü bir şekilde olması demektir. Bu ortam koşulları ise şunlardır;

#### 1-Sıcaklık:

- Optimum; 20°C -40°C
- Psikofil; 0°C-20°C
- Mezofil; 25°C-30°C
- Termofil; 45°C-55°C'dir.

2-pH: Optimum pH=6'dır. Asitli ortamlar tercih edilir.

3- Organik madde: Organik madde olarak sadece metanı kullanamazlar.

**4-Vitaminler:** B kompleks vitamini ve biyotin etkiler.

**5-Nem:** %80-100 oranındadır.

**6-Işık:** UV mutajen etki göstermektedir.

**7-Hava:** Ağır olarak aerobik üyeler bulunmaktadır.

### **1.1.3. Mantarların yararları ve zararları faaliyetleri**

Mantarların yararlı etkileri özellikle endüstriyel ve biyoteknolojik alanlarda artış göstermektedir. Özellikle mantarlardan elde edilen ikincil metabolitler canlı yaşamı için endüstriyel proseslerde kapsamlı bir şekilde yaygınlaşmıştır. İkincil metabolitler, farklı metabolik döngüler sonucu oluşan ve birincil metabolizma ürünlerine göre iz miktarlarda sentezlenen maddelerdir. Aynı zamanda ikincil metabolitler hücrede biriken bileşiklerin hücreden uzaklaştırılması için aracı rol üstlenmektedirler (Akkara ve Tosun, 2014).

Mantarlar, insanlara biyoloji, endüstri ve biyoteknoloji gibi alanlarda yararlı özelliklerini gösterse de bunun yanında bir takım zararlı özelliklere sahiptir. Zararlı faaliyetlerine bakıldığında en yaygın zararları besin çürümesi, mikotoksin oluşumu ve buldukları ortam içerisinde çeşitli kontaminasyonlar yaratarak ikincil enfeksiyonlara sebep olmalarıdır.

Mikotoksinler, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. ve *Alternaria* sp. başta olmak üzere bazı küflerin belirli nem ve ısı koşullarında oluşturdukları metabolitlerdir. En sık karşılaşılan mikotoksinler; aflatoksinler, okratoksin, trikotesen, zearalenon, patulin ve fumonisindir (Soyöz ve Özçelik, 2002).

### **1.1.4. İç hava küfleri ve önemi**

Küfler, mikotoksin üretmelerine ilaveten ihtiyaç duydukları optimum sıcaklık (25 °C) ve nem oranında (% 75-90) hasta bina sendromları (HBS) oluşturarak ikincil enfeksiyonlara yol açmaktadır (Kuhn ve Ghannoum, 2003).

HBS oluşumuna sebep olan etkenler; allerjenler, mantar sporları, bakteriler, virüsler ve maytlar başlıca aerosollerdir. İç ortam havasında yüksek oranda söz konusu biyoaerosolların bulunması astım, allerjik rinit, aşırı duyarlılık pnömonisi gibi hastalıklara neden olmaktadır (Tuncer ve Soyer, 2005).

İkincil enfeksiyon ile etki yaratan mikrofungusların sporları genellikle havayla taşınmakta ve mikrofungus türünün havayla taşınan sporlarının insanlarda kronik bronşit, astım, fungal allerjiler, aşırı duyarlı pnömoni ve aspergillozis gibi çeşitli hastalıklar yaptığı

bilinmektedir. Bununla birlikte solunum yolu alerjilerinin % 2-30'unun sebebi küf sporlarına bağlanmış olup *Alternaria* ve *Cladosporium* türlerinin en çok alerji yapan küfler olduğu bildirilmiştir (Pepeljnjak ve Šegvić, 2003).

İkincil enfeksiyon yaratma potansiyeli olan küfler topluma açık olan hastane, okul, taşıt vb. yerlerdeki hava kirliliği ile de daha kolay yayılış göstermektedir. Hastane florası için çeşitli bakterilerin yanı sıra *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Scopulariopsis* sp. ve *Triothecium* sp. cinslerine ait olan çeşitli türler kaydedilmiştir (Sarıca vd., 2002).

Aynı zamanda ikincil enfeksiyona sebep olabilecek küflerin bina iç ortamının yanı sıra bina dış ortamında da yaygın bir şekilde bulunduğu bilinmektedir. Toplam 23 cins ait olan (*Acremonium*, *Alternaria*, *Arthroderma*, *Aspergillus*, *Ceratocystis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Monilia*, *Mucor*, *Mycelia*, *Penicillium*, *Phialophora*, *Phoma*, *Phytophthora*, *Pleospora*, *Rhizopus*, *Stachybotrys*, *Stemphylium*, *Scolecobasidium*, *Torula*, *Ulocladium*) ve en sık rastlanan cinslere ait yüzde oranları: *Aspergillus* spp. (% 23.15), *Cladosporium* spp. (%21.30), *Penicillium* spp. (%11.11), *Ulocladium* spp. (%10.18), *Alternaria* spp. (% 5.55), *Mycelia* spp. (% 5.55) şeklinde kayıt edilmiştir (İmalı vd., 2008).

Bununla birlikte başka bir çalışmada iç ortamda bulunan *Aspergillus* spp. (%23.3), *Cladosporium* spp. (%7), *Rhizopus* spp. (%7) küflerinin de olduğu tespit edilmiştir. Bu çeşitliliğin ortamda bulunması ile iç ortam biyoaerosol konsantrasyonlarının dış ortam konsantrasyonlarından 2 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Menteşe vd., 2009).

Rutubetli binaların mikrofungus çeşitliliğinde en çok izole edilmiş olan üyelerin *Penicillium* (%96), *Cladosporium* (%89), *Ulocladium* (%62), *Geomyces pannorum* (%57), ve *Sistroneura brinkmannii* (%51) olduğu belirlenmiştir (Kuhn ve Ghannoum, 2003).

## **1.1.5. Nanopartiküller, kullanım alanları ve nanopartiküllerin üstün yanları**

### **1.1.5.1. Nanopartiküller ve kullanım alanları**

Boyutu 100 nanometrenin (nm) altında olan nanopartiküller, hacimsel yapı malzemelerden çok daha farklı ve üstün olarak kabul edilen özellikler sergilemektedirler (Miller vd., 2004). Bakır, çinko, titanyum, gümüş ve altın gibi metaller ile sentez edilmiş

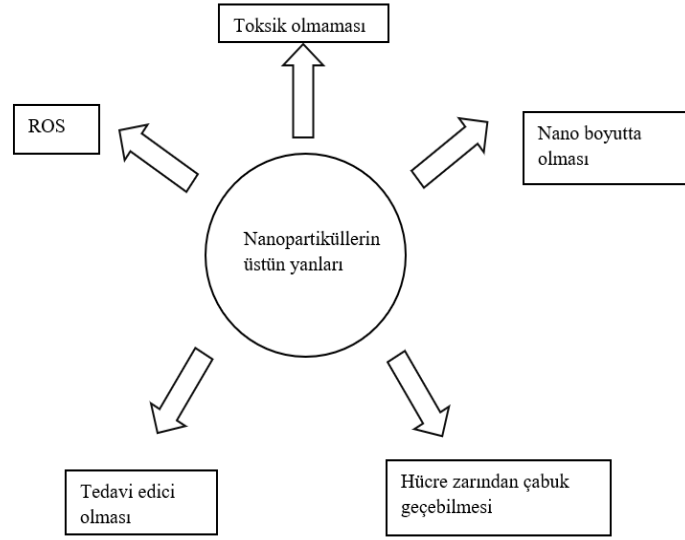
nanopartiküller oldukça yaygınlaşmıştır. Nanoyapılı partiküllerin gösterdikleri üstün özellikler sayesinde;

- Sağlık sektöründeki kullanımları (teşhis, tedavi, ilaç taşıma, görüntüleme, doku mühendisliği)
- Atıkların arıtılması; özellikle atık suların (filtrasyon)
- Yenilenebilir enerji kaynaklarının oluşturulması (enerji tüketimini azaltma, geri dönüşümlü piller, enerji üretim verimliliğinin artırılması)
- Bilişim teknolojisi (bellek depolama, yeni yarıiletken cihazlar, yeni optoelektronik cihazlar, ekranlar, kuantum bilgisayarlar)
- Sivil savunma (roket)
- Endüstri (katalizler)
- Sağlıklı yaşam koşulları (inşaat)
- Gıda kalite ve koruma (gıda, ev, optik)
- Akıllı kumaşlar
- Kişisel bakım ürünleri
- Ziraat alanında kullanılmaktadır (Özdoğan vd., 2006).

#### ***1.1.5.2. Nanopartiküllerin üstün yanları***

Nanopartiküller; hücre zarından çabuk geçebilmesi, reaktif oksijen türleri (ROS) ile hücre hasarı yaratması, nanoboyutta olması, tedavi edici olması ve bir kısmının düşük toksik veya toksik olmaması gibi üstün özelliklere sahiptir (Şekil 1.1). Üretilen nanopartiküller son zamanlarda özellikle sağlık alanında çeşitli hücreler üzerine yoğunlaşmıştır.

İnsan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerinde demir oksit nanopartiküllerinin sitotoksik özellikleri; in vitro sitotoksikite (MTT gibi) ve laktat dehidrogenaz testleri ile aydınlatılmıştır. Bu nanopartiküller MCF-7 hücrelerinde lipid peroksidasyonu ve süperoksit dismutaz, glutatyon ve katalaz aktivitelerinin tükenmesi ile oksidatif stres oluşturmuştur. (Akarifi vd., 2014).



Şekil 1.1. Nanopartiküllerin üstün yanları

Bununla birlikte yeni geliştirilen çinko oksit nanopartikül yapıları ile daha da ileriye gidilerek insan derisi keratinosit hücreleri üzerinde sitotoksiste, genotoksiste ve fotogenotoksiste üzerinde UVA varlığında toksiste çalışmaları ile düşük toksiste değerleri sergilediği kaydedilmiştir (Genç vd., 2018).

Tedavi edici etkisi olduğu düşünülen çeşitli nanopartiküller, özellikle uzun süre dolaşımda kalabilen nanopartiküller olarak bilinen (long circulating), polietilen glikol (PEG) gibi hidrofilik polimerlerle kaplı olan nanopartiküller potansiyel ilaç taşıyıcı sistemler olarak da kullanılmaktadır (Bhadra vd., 2002).

#### 1.1.6. Nanopartiküllerin küfler üzerine antifungal etkisi

Küfler özellikle hava ile kolaylıkla taşınabilen ve sonrasında çeşitli kontaminasyonlara sebep olan mikroorganizmalardır. Bu gibi özelliklerinden dolayı da ortam içerisinde çabuk yayılabilmektedirler. Söz konusu mikroorganizma grubunun ortamdaki uzaklaştırılması ve etkilerinin yok edilebilmesi için çeşitli nanoteknolojik çalışmalar bulunmaktadır.

Nanoteknolojik çalışmalarda genellikle küfler üzerine antifungal çalışmalar yapılmış olsa da son zamanlarda geliştirilen yeni yöntemler ile küfler aracılığı ile nanopartikül sentezi de yapıldığı belirlenmiştir. Özellikle gümüş gibi iyonlar kullanılarak zenginleştirilen bu nanopartiküller ile patojen mikroorganizmalara karşı inhibisyon çalışmaları mevcuttur (Gajbhiye vd., 2009).

Küfler buldukları ortamda hemen yayılma özelliğine sahip mikroorganizmalar oldukları için gelişimlerinin hızlı bir şekilde engellenmesi amacıyla çinko oksit içeriğinden oluşan nanopartiküllerin konsantrasyonları düzenli bir şekilde artırılarak var olan formlara ilaveten daha etkin formların oluşturulmasının hedeflendiği uygulamalar bulunmaktadır (Vlad vd., 2012).

Nanopartiküller genel yapılarına istinaden geliştirilmiş yeni formları ile de daha fazla etki sergilemektedir. Genel olarak tasarlanan küresel, üçgen vb. yapılarının yanı sıra yeni sistem ile geliştirilen altıgen yapıları ile de buldukları ortamda daha fazla yüzey alanı yaratarak daha fazla koruma ve etki sağlayabilmektedirler (Demirel vd., 2018).

Küflerin oluşturduğu mikotoksin oluşumunun engellenmesi amacıyla tarafından çinko oksit içerikli nanopartikülleri mikotoksin ajanları olan *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum*'a karşı test edilmiş ve antifungal aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ZnO içerikli nanopartiküllerin *P. expansum*' un gelişimini engellerken, *B.cinerea*'nın hücre işlevini engellediği ve büyümesinde çeşitli şekillerde bozulmalara uğrattığı belirlenmiştir (He vd., 2011).

Ogar vd. (2015) küf gelişimine karşı gümüşün antifungal özelliklerini incelemişler ve kullandıkları gümüş konsantrasyonlarının söz konusu küf üzerinde yapı bozucu etkisi olduğunu belirlemişlerdir. Kullanılan gümüş nanopartikülleri *Chaetomium globosum* üzerindeki yapı bozucu bir etki sergilemiştir.

*Trichosporon* spp., *Candida* türlerinden sonra kanser hastalarından en sık izole edilen maya türüdür. Bununla beraber *Trichosporon* spp. türleri cilt ve solunum yolunda bulunur ve yüzeysel ve derin infeksiyonlara neden olmaktadır. Başka bir çalışmada *Trichosporon asahii* ye karşı gümüş nanopartiküllerin antifungal aktivitesini test edilmiş ve söz konusu küf için, belirli aralıklarla konsantrasyonları artırılan gümüş nanopartiküller ile muamele edildiğinde her bir konsantrasyonda farklı büyüme çapları gözlemlenmiştir (Xia vd., 2016)

#### **1.1.7. Nanopartiküllerin etki mekanizmaları**

ZnO nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi için çeşitli etki mekanizmaları bulunmaktadır. Bu etki mekanizmaları;

(a) Bakteriye hücre membranlarının ZnO tarafından üretilen reaktif oksijen türleri ile zarar görmesi,

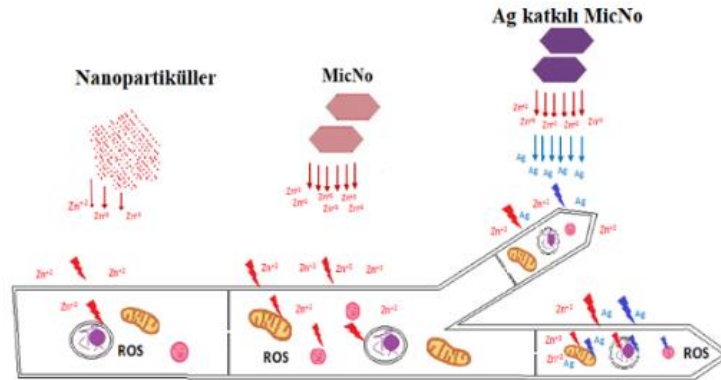
(b) ZnO'nun kısmi çözünmesi ve sitotoksik Zn<sup>2+</sup> iyonlarının serbest bırakılması,



(c) Mikrobiyal hücre duvarlarının, ZnO partiküllerinin mikrobiyal hücreler üzerine tutunmasının bir sonucu olarak kararsız hale gelmesi şeklindedir (Pasquet vd., 2014, 2015; Sirelkhatim vd., 2015)

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin artışı (ROS) ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır. Oksidatif stresteki artış sonucunda oluşan reaktif oksijen türleri hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına saldırarak ve bir hidrojen atomu kopararak zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatmaktadır. Bu faaliyetler sonucunda da hücre içi lipid, protein ve DNA gibi makromoleküller hasarlanarak hücre zedelenmesi veya hücre ölümü meydana gelmektedir (Özcan vd., 2015).

Ökaryotik bir üye olan filamentli küller de kompleks hücre bütünlüğüne ilaveten, geniş hücre yüzeyine sahip olması ve septa gibi hücre bölmelerine sahip olmasının yanı sıra hücre duvarındaki kuvvetli kitin içeriği, hücreye diffüze olan iyon (Şekil.1.2) miktarını etkilemektedir. Hücre içine ulaşan iyonlar yine aynı şekilde reaktif oksijen boşlukları meydana getirerek hücre ölümlerine neden olmaktadır (Genç vd., 2018; Khezalour vd., 2018)



Şekil 1.2. Küf hücreleri üzerine nanopartiküllerin etkisi

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

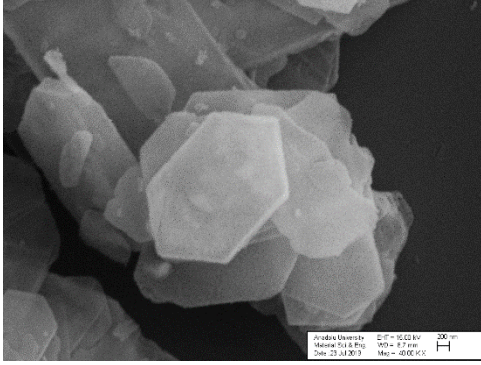
### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Aktivitesi test edilen nanopartiküller

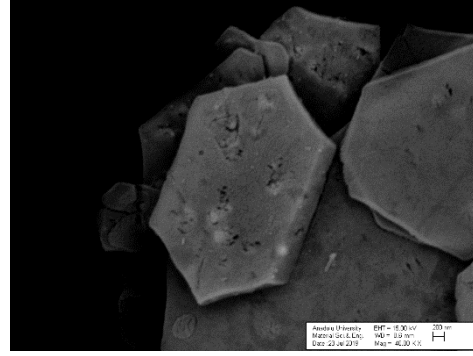
Bu çalışmada 10 farklı nanopartikül kullanılmıştır. Bu nanopartiküller; ticari çinko oksit (ZnO) mikron partikülleri (Sigma-Aldrich), MicNo® (Entekno Materials) ve farklı yüzde oranlarında (% 0.05, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00 ve 8.00) gümüş katkılanmış MicNo® (Entekno Materials)'dan oluşmaktadır. MicNo ve Ag ilavesi yapılmış olan nanopartiküllere ait taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü de Şekil 2.1'de verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Aktivitesi test edilecek nanopartiküller

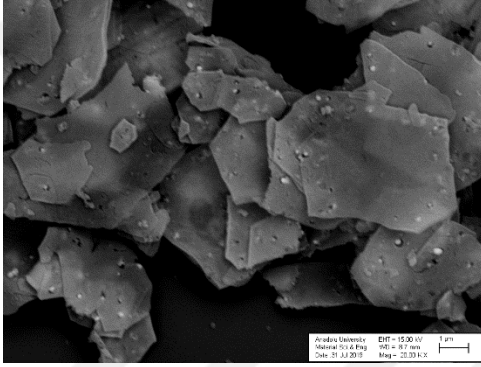
Tozun Cinsi	Numune Kodu	Net Miktar (g)
ZnO (Sigma)	N	8.82
MicNo	M	5.61
MicNo % 0.05 Ag	H	5.41
MicNo % 0.25 Ag	G	5.15
MicNo % 0.50 Ag	F	8.10
MicNo % 1 Ag	E	8.29
MicNo % 2 Ag	D	7.63
MicNo % 4 Ag	C	8.14
MicNo % 6 Ag	B	8.27
MicNo % 8 Ag	A	8.75



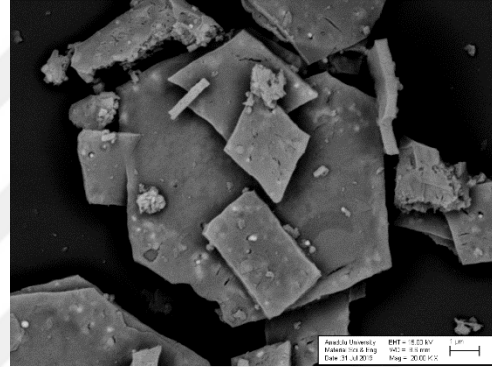
**MicNo**



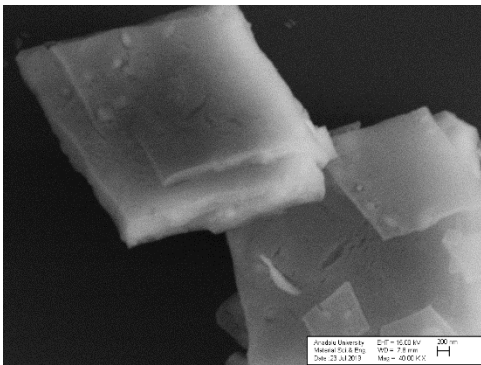
**MicNo % 1 Ag**



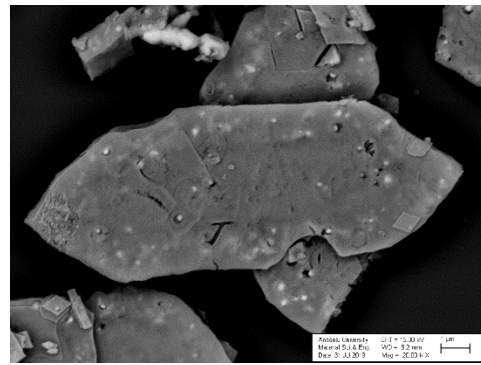
**MicNo % 2 Ag**



**MicNo % 4 Ag**



**MicNo % 6 Ag**



**MicNo % 8 Ag**

**Şekil 2.1. Test nanopartiküllerine ait SEM görüntüleri**

### 2.1.2. Test küfleri

Bu tez çalışması için, ‘‘Türkiye'nin Beş İlinde Hastane Yenidoğan Ünitelerinin İç Ortam Havasında Potansiyel İnfeksiyon Riski Oluşturabilen Mikrofungal Biyoçeşitliliğin Belirlenmesi’’ konulu TÜBİTAK(111T925) projesinden elde edilen ve potansiyel hastalık yapıcı küfler (Demirel vd., 2017) kullanılmıştır. Bu küf biyoçeşitliliğinin büyük bir kısmı *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. ve *Rhizopus* sp.cins üyelerinden oluşmakta olup Edirne, Eskişehir, İstanbul, İzmir ve Manisa'daki hastanelerden elde edilmiş olup toplam 39 adet küf örneği bu çalışmada kullanılmıştır. Kullanılan test küflerinin isimleri ve kaynak yerleri Tablo 2.2' de verilmiştir.

**Tablo 2.2.** Test küfleri ve kaynakları

Test küfleri	Kaynak oluşturan hastanenin bulunduğu şehir
<i>Aspergillus amoenus</i> ( <i>Aspergillus amoenus</i> M. Roberg 1931)	İstanbul
<i>Aspergillus calidoustus</i> ( <i>Aspergillus calidoustus</i> Varga, Houbraken & Samson 2008)	Eskişehir
<i>Aspergillus chevalieri</i> ( <i>Aspergillus chevalieri</i> Thom & Church 1926)	İzmir
<i>Aspergillus clavatus</i> (1) ( <i>Aspergillus clavatus</i> Desm. 1834)	Eskişehir
<i>Aspergillus clavatus</i> (2) ( <i>Aspergillus clavatus</i> Desm. 1834)	Eskişehir
<i>Aspergillus creber</i> ( <i>Aspergillus creber</i> Jurjević, S.W. Peterson & B.W. Horn 2012)	Edirne
<i>Aspergillus dimorphicus</i> ( <i>Aspergillus dimorphicus</i> B.S. Mehrotra & R. Prasad 1969)	Eskişehir
<i>Aspergillus fischeri</i> ( <i>Aspergillus fischeri</i> Wehmer 1907)	Edirne
<i>Aspergillus flavus</i> ( <i>Aspergillus flavus</i> Link 1809)	Edirne
<i>Aspergillus fumigatus</i> ( <i>Aspergillus fumigatus</i> Fresen. 1863)	İzmir
<i>Aspergillus japonicus</i> ( <i>Aspergillus japonicus</i> Saito 1906)	Eskişehir
<i>Aspergillus jensenii</i> ( <i>Aspergillus jensenii</i> Jurjević, S.W. Peterson & B.W. Horn 2012)	İzmir

**Tablo 2.2. (Devamı) Test küfleri ve kaynakları**

Test küfleri	Kaynak oluşturan hastanenin bulunduğu şehir
<i>Aspergillus ochraceus</i> ( <i>Aspergillus ochraceus</i> G. Wilh. 1877)	Edirne
<i>Aspergillus puniceus</i> ( <i>Aspergillus puniceus</i> Kwon-Chung & Fennell 1965)	İstanbul
<i>Aspergillus quadrilineatus</i> ( <i>Aspergillus quadrilineatus</i> Thom & Raper 1939)	İzmir
<i>Aspergillus sydowii</i> ( <i>Aspergillus sydowii</i> (Bainier & Sartory) Thom & Church 1926 )	İstanbul
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire, Trans. Br. mycol. Soc. 18(2): 157 (1933)	İstanbul
<i>Aspergillus terreus</i> (1) ( <i>Aspergillus terreus</i> Thom 1918)	Edirne
<i>Aspergillus terreus</i> (2) ( <i>Aspergillus terreus</i> Thom 1918)	İzmir
<i>Aspergillus tubingensis</i> (1) ( <i>Aspergillus tubingensis</i> Mosseray 1934)	İstanbul
<i>Aspergillus tubingensis</i> (2) ( <i>Aspergillus tubingensis</i> Mosseray 1934)	Manisa
<i>Aspergillus uvarum</i> ( <i>Aspergillus uvarum</i> G. Perrone, Varga & Kozak. 2008)	İzmir
<i>Aspergillus westerdijkiae</i> ( <i>Aspergillus westerdijkiae</i> Frisvad & Samson 2004)	İstanbul
<i>Cladosporium herbarum</i> ( <i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link 1816)	Eskişehir
<i>Cladosporium pseudocladosporioides</i> ( <i>Cladosporium pseudocladosporioides</i> Bensch, Crous & U. Braun 2010)	Edirne
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> ( <i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz. 1882)	İstanbul
<i>Cladosporium tenellum</i> ( <i>Cladosporium tenellum</i> K. Schub., Zalar, Crous & U. Braun 2007)	Manisa
<i>Eurotium amstelodami</i> ( <i>Eurotium amstelodami</i> L. Mangin 1909)	Edirne
<i>Hamigera ingelheimensis</i> ( <i>Hamigera ingelheimensis</i> (J.F.H. Beyma) S.W. Peterson 2014)	Eskişehir

**Tablo 2.2. (Devamı) Test küfleri ve kaynakları**

Test küfleri	Kaynak oluşturan hastanenin bulunduğu şehir
<i>Penicillium adametzioides</i> ( <i>Penicillium adametzioides</i> S. Abe 1956)	Manisa
<i>Penicillium brevicompactum</i> ( <i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx 1901)	İzmir
<i>Penicillium chrysogenum</i> (1) ( <i>Penicillium chrysogenum</i> Thom 1910)	Eskişehir
<i>Penicillium chrysogenum</i> (2) ( <i>Penicillium chrysogenum</i> Thom 1910)	Manisa
<i>Penicillium citrinum</i> ( <i>Penicillium citrinum</i> Thom 1910)	İzmir
<i>Penicillium decumbens</i> ( <i>Penicillium decumbens</i> Thom 1910)	Eskişehir
<i>Penicillium georgiense</i> ( <i>Penicillium georgiense</i> S.W. Peterson & B.W. Horn 2009)	Manisa
<i>Penicillium hordei</i> ( <i>Penicillium hordei</i> Stolk 1969)	Eskişehir
<i>Penicillium polonicum</i> ( <i>Penicillium polonicum</i> K.W. Zaleski 1927)	Eskişehir
<i>Rhizopus microsporus</i> ( <i>Rhizopus microsporus</i> Tiegh. 1875)	İzmir

### 2.1.3. Besiyerleri ve çözeltiler

#### 2.1.3.1. Besiyerleri

Bu çalışma için, Merck 1.10130.0500 Potato dextrose agar (PDA), Merck 1.05398.0500 Malt extract agar (MEA), Himedia GM403 Potato dextrose broth (PDB), Merck 822187 Tween 80, Distile su, Merck 8.02912.1000 Dimetil sülfoksit (DMSO) ve Sigma Aldrich 101646137 Phosphate buffered saline (PBS), Electron Microscopy Sciences % 25 Glutaraldehyde (GW) kullanılmıştır.

***PDA besiyerinin hazırlanması (Merck 1.10130.0500)***

Potato infusion:	4 g
Glukoz:	20 g
Agar:	15 g
Distile su:	1000 ml

Ozmozofilik olmayan ve standart mikrobiyolojik analizi yapılacak küfler için selektif katı besiyeri olarak kullanılmıştır. Ticari PDA içeriğinden 40 g alınarak distile edilmiş 1000 ml su içerisinde homejen hale getirilmiş ve 121 °C’de 1,5 atm basıncında 15 dk otoklavlanarak steril petrilere dökülmüştür.

***PDB hazırlanması (Himedia GM403)***

Potato infusion:	200 g
Dekstroz:	20 g
Distile su:	1000 ml

PDB maya ve küf izolasyonu /sayımı için kullanılmıştır. Ticari PDB den 24 g alınarak 1000 ml distile su içerisinde homojen hale getirilmiştir ve 121 °C’de 1,5 atm basıncında 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Deney aşamasında PDB çift kuvvetli olarak kullanılacağından dolayı standart hacminin iki katı hacimde kullanılarak hazırlanmıştır.

***MEA besiyerinin hazırlanması (Merck 1.05398.0500)***

Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> extrac:	50 g
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O:	0,01 g
CuSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O:	0,005 g
Agar:	20 g
Distile su:	1000 ml

Test mikroorganizmalarının geliştirilmesi için selektif katı besiyeri olarak kullanılmıştır. Ticari MEA içeriğinden 48 g alınarak distile edilmiş 1000 ml su içerisinde homejen hale getirilmiş ve 121 °C’de 1,5 atm basıncında 15 dk otoklavlanarak steril petrilere dökülmüştür.

### **2.1.3.2. Çözeltiler**

#### ***%0.1'lik Tween 80 hazırlanması (Merck 822187)***

Test mikroorganizmalarının spor sayımlarının yapılması için kullanılmıştır. Ticari haldeki 500 g'lık Tween 80'den 0.1 g alınarak 100 ml'lik distile su içerisinde hazırlanmıştır.

#### ***DMSO hazırlanması (Merck 8.02912.1000)***

Aktivitesi test edilecek nanopartiküllerin çözünmesi için 121 °C'de 1,5 atm basıncında 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir. Her bir toz için 2 ml DMSO olacak şekilde kullanılmıştır.

#### ***Phosphate buffered saline + GW (Sigma Aldrich 101646137 - Electron Microscopy Sciences % 25 Glutaraldehyde)***

Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) için örneklerin fiksasyonu amacı ile kullanılmıştır. Steril edilmiş distile su içerisinde 3/200 ml (v/v)'lik glutaraldehit/fosfat tamponu olarak hazırlanmış ve her bir küf örneği için 500 µl olacak şekilde kullanılmıştır.

## **2.2. Yöntem**

Test nanopartiküllerinin 39 adet test küfüne karşı olan etkilerinin belirlenebilmesi için bu tez çalışmasında 3 farklı yöntem ile deney düzeni kurulmuş ve etkileri test edilmiştir. Antifungal aktivitenin belirlenmesini için kullanılan yöntemler;

- Kuyucuk testi (Balouiri vd., 2016)
- Agar dilüsyon testi (tek madde konsantrasyonu) (Hendriksen, 2003)
- Minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) (Eloof, 1998)

### **2.2.1. Test küflerinin 3 nokta ekim yöntemi ile aktive edilmesi**

5 farklı şehir hastanesinden elde edilen liyofilize haldeki 39 küf örneği haftalık izolat çalışma sayısına göre PDA besiyerine 3 nokta ekim yöntemi ile steril kürdan yardımıyla ekilmiş ve 26 °C de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda koloni gelişimi ve özellikleri kontrol edilmiştir.

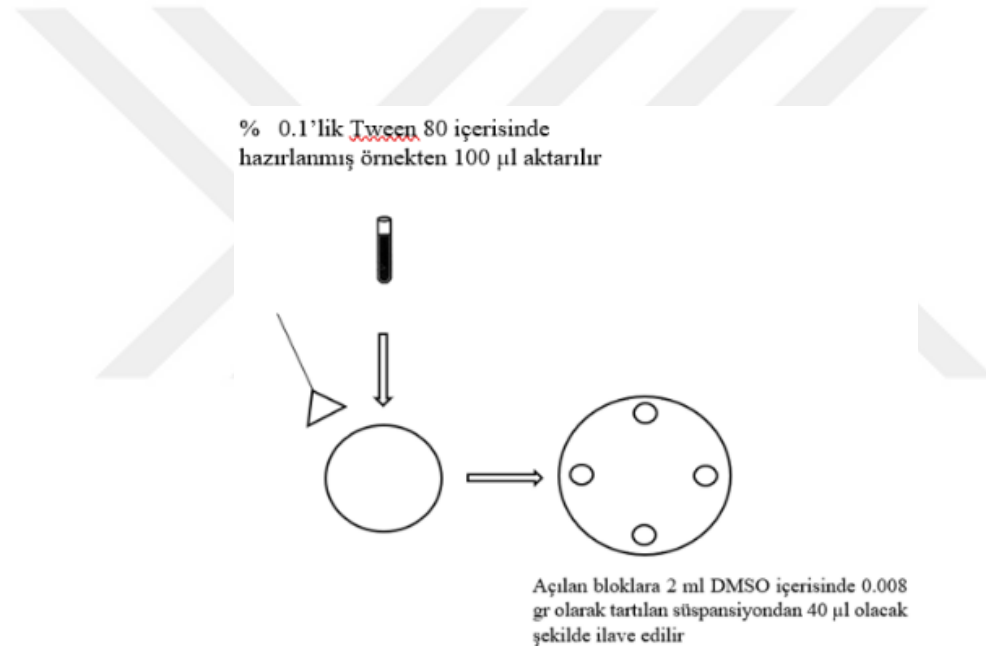
### **2.2.2. Aktive edilen test küflerinin spor sayımı**

Bahsedilen 3 yönteme de hazırlık amacıyla önceden 3 nokta ekim yöntemi ile aktive edilen kültürden steril öze yardımıyla spor alınmış ve 10 ml'lik % 0.1'lik Tween 80 içerisine aktarılarak vortekslenmiştir. % 0.1'lik Tween 80 içerisinde ki mikroorganizmanın spor sayımının yapılması için Thoma lamına 50 µl aktarılmış ve ışık mikroskobunda spor sayımı yapılarak 10<sup>5</sup> spor/ml yoğunluğu olacak şekilde ayarlanmıştır (Gürgün ve Halkman, 1990). Aynı işlem her bir küf türü için tekrar edilmiştir.



### 2.2.3. Kuyucuk testi

Kuyucuk testine hazırlık amacıyla 10 ml'lik % 0.1'lik Tween 80 içerisinde hazırlanmış spor süspansiyondan 100 µl alınarak PDA besiyerine aktarılmış ve yayma plak yöntemi ile yayılmıştır. Yayma plak yöntemi ile ekimi sağlanan küf izolatlarının farklı oranlardaki nanopartiküllere karşı olan hassasiyetlerini test etmek için petri içerisindeki PDA besiyeri üzerinde agar delici (6 mm Ø) ile bloklar açılmıştır. Sonrasında her bir nanopartikül için 0.008 g olarak tartılan tozların 2 ml DMSO içerisinde homojenizasyonu sağlanmıştır. Homejen hale getirilen bu tozlardan da 40 µl alınarak besiyeri üzerinde açılan bloklara aktarılmış ve 26 °C de 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 2.1) (Balouiri vd., 2016).



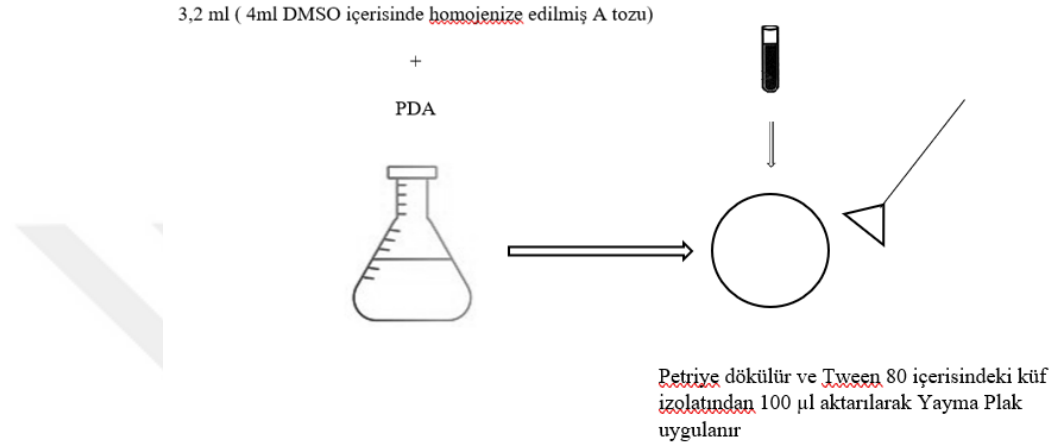
Şekil 2.2. Kuyucuk testi

### 2.2.4. Agar dilüsyon testi (tek madde konsantrasyonu)

Agar dilüsyon yöntemi çalışma kapsamında tek doz kullanımı yapılarak modifiye edilmiş ve uygulanmıştır. Bu test işlemi için hazırlanacak besiyerlerine sterilizasyon öncesinde her bir tozdan 0.16 g olacak şekilde tartılmış ve 4 ml DMSO içerisinde homojenize edilmiştir (Hendriksen, 2003). Elde edilen süspansiyondan 3.2 ml alınmış ve her bir toz için ayrı ayrı hazırlanmış 800 ml'lik PDA besiyerlerine ilave edilmiştir. Toz ilaveli her bir PDA besiyeri otoklav yardımı ile steril edilmiş ve petrilere dökülmüştür. Bu işlemden sonra % 0.1'lik Tween 80 içerisine aktarılarak Thoma lamı ile spor sayımı ( $10^5$  spor/ml) yapılan süspansiyondan, steril edilmiş nanopartikül ilaveli besiyerlerine

yayma plak yöntemi ile ekilmiştir (Şekil 2.2). İnkübasyon işlemi 22.5 °C’de 5-7 gün boyunca gerçekleştirilmiştir.

Deneyin kontrollü olması için ilave bir PDA besi ortamına test edilecek her bir küf aynı işlem basamakları takip edilerek ekilmiştir ve hem normal gelişimi hem de nanopartiküllü besi ortamında ki gelişimleri karşılaştırılmıştır.



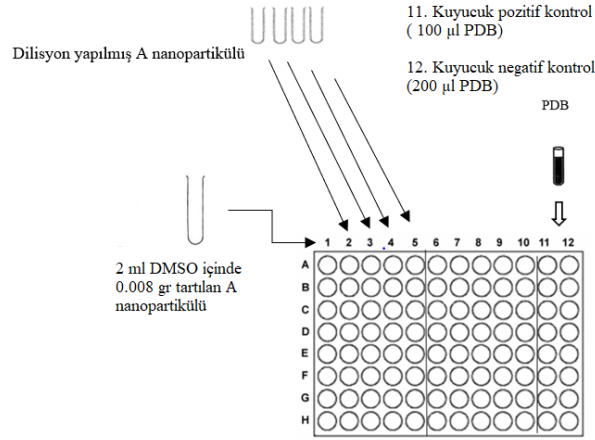
Şekil 2.3. Agar dilüsyon testi

### 2.2.5. Minimum inhibe edici konsantrasyonun (MİK) belirlenmesi

MicNo, ZnO ve farklı oranlarda Ag katkılı MicNo, yenidoğan ünitelerinin iç ortam havasından elde edilen küflerin üzerinde hangi dozda ve hangi madde ilavesinde inhibe olduklarını belirlemek için MİK uygulaması yapılmıştır. Her bir küf izolatı 10 ml % 0,1’lik Tween 80 içerisine aktarılmış ve Thoma lamı ile  $10^5$  spor/ml olacak şekilde spor sayımı yapılmıştır. Spor sayımı yapılan izolatlar % 0,1’lik Tween 80 tüpünden 9 ml çift kuvvetli PDB içerisine 1 ml aktarılmış ve hazır hale getirilmiştir. Sonrasında test edilecek her bir toz 0,008 g olarak tartılmış ve 2 ml DMSO içerisinde hem vorteks hem de sonikasyon cihazı yardımı ile homojenize edilmiştir. Her bir tozun  $10^{-5}$ e kadar dilüe edilmiştir. Deney sürecine dahil edilen madde dozlarının 1000, 500, 250, 125 ve 62,5 µg/ml olması sağlanmıştır (Eloof, 1998).

Her bir dilüsyonda Elisa plate kuyucuklarına 100 µl aktarılmıştır. Kuyucuklara eklenen toz süspansiyonlarının üzerine sayımı yapılan izolatı içeren çift kuvvetli PDB’ den de 100 µl aktarılarak toplam 200 µl’lik hem nanopartikül hem de izolat içeren süspansiyon oluşturulmuştur. Elisa plate üzerinde nanopartikül ilaveli tozların yanında pozitif ve negatif kontrol de oluşturularak çalışmanın kontrollü olması sağlanmıştır. Pozitif kontrol için 100 µl çift kuvvetli PDB ve 100 µl spor süspansiyonu, negatif

kontrolde ise 200 µl çift kuvvetli PDB kullanılmıştır. Bu işlem her bir izolat için tekrarlanmıştır (Şekil 2.3) (Eloof, 1998, CLSI M38-A2, 2008).



Şekil 2.4. Tek bir nanopartikül için MİK testi

### 2.2.6. Ultra yapısal değişimlerin incelenmesi

Çalışmada kullanılan nanopartiküllerin test küflerini nasıl etkilediği belirlemek için geçirimli elektron mikroskobu (TEM) altında inceleme gerçekleştirilmiştir. Bunun için en yüksek antifungal aktivite gösteren nanopartikül dozu ve etkili oldukları test küfleri seçilmiştir (Tablo2.3). Öncelikle test küfleri MEA ortamına 3 nokta ekim tekniği ile ekilmiş ve 22.5 °C’de 5-7 gün olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda test küfleri 10<sup>5</sup> spor/ml spor süspansiyonu hazırlamak için kullanılmıştır.

Çalışma küf örneklerinin kontrolü, nanopartiküllerin kontrolü ve nanopartikül ile muamele edilmiş küflerin kontrollerine olarak tasarlanmıştır.

Tablo 2.3. TEM için kullanılacak küfler ve nanopartiküller

Küflerin isimleri	Test edilecek nanopartikül	Etkin doz
<i>A. terreus</i>	F (MicNo % 0,50 Ag)	250 µg/ml
<i>A. tubingensis</i>	G (MicNo % 0,25 Ag)	250 µg/ml
<i>P. chrysogenum</i>	H (MicNo % 0,05 Ag)	125 µg/ml
<i>R. microsporus</i>	C (MicNo % 4 Ag)	125 µg/ml

**TEM için nanopartikül kontrolü;** 100 ml’lik PDB içeren erlenlere etki mekanizması belirlenecek nanopartiküller MİK çalışmasına göre belirlenen dozlarda olacak şekilde ayrı ayrı tartılmış ve her biri bireysel olarak PDB içeren erlenlere ilave edilmiştir. Hazırlanan toz ilaveli PDB erlenleri 121 °C’de 1,5 atm basıncında 15 dk. ile steril

edilmiştir. Steril edilen PDB'ler 30 °C'de 120 rpm'de 48 saat boyunca çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

**TEM için küf kontrolü;** 90 ml'lik PDB içeren erlenlere % 0,1 Tween 80 içerisinde  $10^5$  spor/ml konsantrasyonunda hazırlanan test küf örneğinden 10 ml ilave edilmiştir. Hazırlanan test küfü ilaveli PDB erlenleri 30 °C'de 120 rpm'de 48 saat boyunca çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

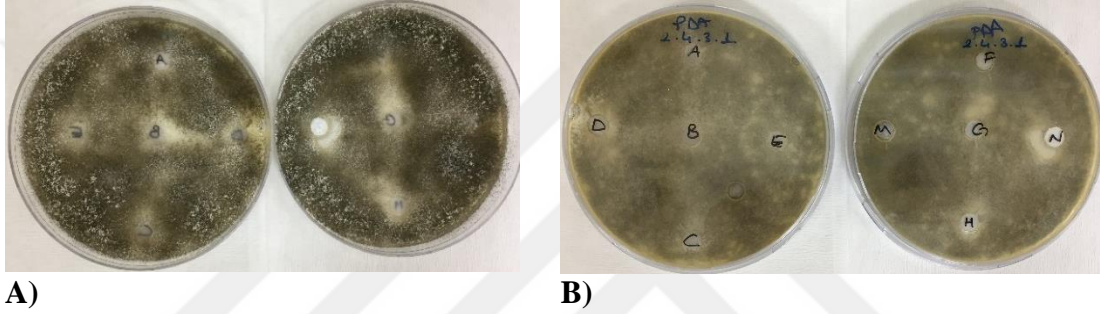
**TEM için nanopartikül ile muamele edilmiş küf kontrolü;** Test edilecek ilgili nanopartikülleri içeren 90 ml'lik PDB'lu erlenlere % 0,1 Tween 80 içerisinde  $10^5$ spor/ml konsantrasyonunda hazırlanan her bir test küfünden 10 ml ilave edilmiştir. Hazırlanan nanopartikül ve test küfü ilaveli PDB erlenleri 30 °C'de 120 rpm'de 48 saat boyunca çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

Çalkalamalı etüvde inkübasyonu tamamlanan örnekler 50 ml'lik steril falkon tüplerine aktarılmış ve 4000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında her bir örneğe ait olarak toplanan pelletler 2 ml'lik santrifüj tüplerine aktarılmıştır ve üzerine 3/200 ml (v/v)'lik gluteraldehit/fosfat tamponundan 500 µl ilave edilmiştir. TEM için hazırlanan numuneler +4 °C' de muhafaza edilmiştir. Numunelerin incelenmesi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ARUM) tarafından hizmet alımı yolu ile yapılmış ve Hitachi HT 7800 TEM'da incelenmiştir.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Kuyucuk Testi

Kuyucuk testi yöntemi ile ZnO, MicNo ve farklı oranlarda Ag içeren MicNo nanopartiküllerinin test küfleri üzerinde gösterdikleri antifungal aktivite inhibisyon zonları şeklinde mm cinsinden ölçülmüştür. Elde edilen inhibisyon zonlarının sonuçlarına ait temsilci küf üzerindeki etkisi Şekil.3.1’de verilmiştir. Tüm test küfleri üzerindeki zon çapı etkisi de Tablo 3.1’de paylaşılmıştır.



Şekil 3.1. Temsilci küflere ait (*Rhizopus microsporus*) ait kuyucuk testi görüntüsü A) Petri ön görüntüsü, B) Petri arka görüntüsü

**Tablo 3.1.** Zon çapı değerleri (mm olarak verilmiştir) (A: MicNo % 8 Ag, B: MicNo % 6 Ag, C: MicNo % 4 Ag, D: MicNo % 2 Ag, E: MicNo % 1 Ag, F: MicNo % 0.50 Ag, G: MicNo % 0.25 Ag, H: MicNo % 0.05 Ag, M: MicNo, N: Sigma)

İzolat adı	Nanopartiküller									
	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>A. amoenus</i>	13	12	14	11	-	-	13	-	-	-
<i>A. calidoustus</i>	1	12	13	12	11	13	9	9	8	12
<i>A. chevalieri</i>	1	13	12	8	13	11	12	1	1	12
<i>A. clavatus</i> (1)	15	11	1	11	1	12	13	12	12	1

**Tablo 3.1. (Devamı) Zon çapı değerleri (mm olarak verilmiştir) (A: MicNo % 8 Ag, B: MicNo % 6 Ag, C: MicNo % 4 Ag, D: MicNo % 2 Ag, E: MicNo % 1 Ag, F: MicNo % 0.50 Ag, G: MicNo % 0.25 Ag, H: MicNo % 0.05 Ag, M: MicNo, N: Sigma)**

İzolat adı	Nanopartiküller									
	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>A.clavatus</i> (2)	-	-	-	-	-	15	13	11	11	13
<i>A. creber</i>	12	11	12	1	12	13	12	1	1	13
<i>A. dimorphicus</i>	11	8	7	9	-	-	9	-	9	-
<i>A. fischeri</i>	-	-	-	-	-	13	15	1	8	12
<i>A. flavus</i>	12	14	13	11	1	14	12	11	-	-
<i>A. fumigatus</i>	15	14	14	13	12	12	13	12	12	1,1
<i>A. japonicus</i>	14	13	13	11	12	11	12	12	1	13
<i>A. jensenii</i>	12	12	15	15	13	13	13	11	11	11
<i>A. ochraceus</i>	12	13	-	-	11	-	-	-	-	-
<i>A. puniceus</i>	-	-	13	11	12	-	-	-	-	-
<i>A. quadrilineatus</i>	14	13	12	8	13	11	12	1	1	12
<i>A. sydowii</i>	-	15	14	-	-	-	-	-	12	-
<i>A. tenuissima</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tablo 3.1. (Devamı) Zon çapı değerleri (mm olarak verilmiştir) (A: MicNo % 8 Ag, B: MicNo % 6 Ag, C: MicNo % 4 Ag, D: MicNo % 2 Ag, E: MicNo % 1 Ag, F: MicNo % 0.50 Ag, G: MicNo % 0.25 Ag, H: MicNo % 0.05 Ag, M: MicNo, N: Sigma)**

İzolat adı	Nanopartiküller									
	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>A.terreus</i> (1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. terreus</i> (2)	12	13	1	8	9	14	15	-	11	11
<i>A.tubingensis</i> (1)	12	11	11	1	1	15	14	-	1	-
<i>A.tubingensis</i> (2)	14	16	9	9	1	1	13	12	1	14
<i>A. uvarum</i>	1	12	1	13	15	1	1	1	1	11
<i>A. westerdijkiae</i>	1	12	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C.herbarum</i>	1	9	8	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. pseudocladosporioides</i>	12	11	9	1	1	11	12	9	1	11
<i>C. sphaerospermum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. tenellum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. amstelodami</i>	14	-	-	-	13	-	-	-	-	-
<i>H. ingelheimensis</i>	11	12	-	1	12	-	-	-	-	-

**Tablo 3.1. (Devamı) Zon çapı değerleri (mm olarak verilmiştir) (A: MicNo % 8 Ag, B: MicNo % 6 Ag, C: MicNo % 4 Ag, D: MicNo % 2 Ag, E: MicNo % 1 Ag, F: MicNo % 0.50 Ag, G: MicNo % 0.25 Ag, H: MicNo % 0.05 Ag, M: MicNo, N: Sigma)**

İzolot adı	Nanopartiküller									
	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>P. adametzioides</i>	12	13	1	11	1	11	1	-	12	12
<i>P. brevicompactum</i>	15	11	9	9	1	13	12	9	9	9
<i>P. chrysogenum</i> (1)	9	1	1	-	11	1	12	9	1	11
<i>P. chrysogenum</i> (2)	15	13	-	-	12	12	-	-	-	-
<i>P. citrinum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. decumbens</i>	-	-	-	-	-	14	13	-	15	-
<i>P. georgiense</i>	12	1	1	11	1	9	8	-	-	8
<i>P. hordei</i>	1	12	15	13	9	8	7	6	6	-
<i>P. polonicum</i>	14	15	13	1	13	-	1	-	-	-
<i>R. microsporus</i>	14	13	13	14	13	11	13	12	11	15

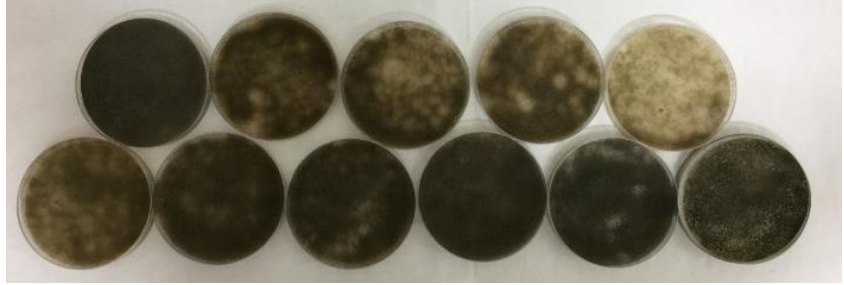
### 3.2. Agar Dilüsyon Yöntemi

PDA besi ortamına aktarılan ZnO, MicNo ve farklı oranlarda Ag içeren MicNo nanopartiküllerin varlığında test küflerinin gelişimi incelenmiştir. Bu amaç doğrultusunda deneyin kontrollü olması için ilave bir PDA besi ortamına test edilecek her bir küf ekilerek hem normal gelişimi hem de nanopartiküllü besi ortamında ki gelişimleri karşılaştırılmıştır. Kontrol ortamındaki gelişim doğrultusunda gösterdikleri gelişim ve

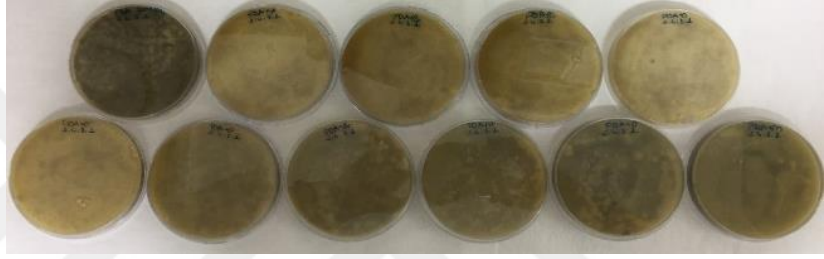


sporlanma derecesi 1 (en az) – 5 (en çok) (Tablo 3.2) arasında sıralama yapılmış ve temsilci küflerin üzerindeki etkisi Şekil 3.2’de verilmiştir. Tüm test küfleri üzerindeki sporlana derecelerine ait etki sonuçları Tablo 3.3’de verilmiştir.

**A)**



**B)**



**Şekil 3.2.** Temsilci mikroorganizmaya ait (*Rhizopus microsporus*) agar dilüsyon testi görüntüsü  
A) Petri ön görüntüsü, B) Petri arka görüntüsü

**Tablo 3.2.** Nanopartiküllerin Etki Dereceleri

Çok yüksek (kontrole benzerlik yüksek)	Yüksek	Orta	Düşük	Çok düşük
5	4	3	2	1

**Tablo 3.3.** Sporlana derecelerine ait etki değerleri (**K:** Kontrol, **A:** MicNo % 8 Ag, **B:** MicNo % 6 Ag, **C:** MicNo % 4 Ag, **D:** MicNo % 2 Ag, **E:** MicNo % 1 Ag, **F:** MicNo % 0.50 Ag, **G:** MicNo % 0.25 Ag, **H:** MicNo % 0.05 Ag, **M:** MicNo, **N:** Sigma)

İzolat adı	Nanopartiküller										
	K	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>A. amoenus</i>	5	4	4	4	4	4	4	5	4	4	4
<i>A. calidoustus</i>	5	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4
<i>A. chevalieri</i>	5	4	4	4	3	3	3	3	4	4	4
<i>A. clavatus</i> (1)	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>A. clavatus</i> (2)	5	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4
<i>A. creber</i>	5	4	4	4	4	4	3	3	4	4	4
<i>A. dimorphicus</i>	5	4	4	4	3	3	3	3	3	4	4
<i>A. fischeri</i>	5	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3
<i>A. flavus</i>	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>A. fumigatus</i>	5	3	3	4	4	4	3	3	3	3	3
<i>A. japonicus</i>	5	2	2	3	3	3	3	3	4	4	5
<i>A. jensenii</i>	5	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4
<i>A. ochraceus</i>	5	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3

**Tablo 3.3. (Devamı) Sporlana derecelerine ait etki değerleri (K: Kontrol, A: MicNo % 8 Ag, B: MicNo % 6 Ag, C: MicNo % 4 Ag, D: MicNo % 2 Ag, E: MicNo % 1 Ag, F: MicNo % 0.50 Ag, G: MicNo % 0.25 Ag, H: MicNo % 0.05 Ag, M: MicNo, N: Sigma)**

İzolat adı	Nanopartiküller										
	K	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>A. puniceus</i>	5	3	2	2	3	3	3	3	3	3	3
<i>A. quadrilineatus</i>	5	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2
<i>A. sydowii</i>	5	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
<i>A. tenuissima</i>	5	4	4	4	3	3	3	4	4	4	4
<i>A. terreus</i> (1)	5	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4
<i>A. terreus</i> (2)	5	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3
<i>A. tubingensis</i> (1)	5	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
<i>A. tubingensis</i> (2)	5	4	4	4	3	3	2	3	3	3	3
<i>A. uvarum</i>	4	3	3	3	2	3	2	3	3	3	3
<i>A. westerdijkiae</i>	5	2	2	3	3	3	3	3	4	4	4
<i>C. herbarum</i>	5	4	3	3	3	4	4	4	4	4	4
<i>C. pseudocladosporioides</i>	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

**Tablo 3.3. (Devamı) Sporlana derecelerine ait etki değerleri (K: Kontrol, A: MicNo % 8 Ag, B: MicNo % 6 Ag, C: MicNo % 4 Ag, D: MicNo % 2 Ag, E: MicNo % 1 Ag, F: MicNo % 0.50 Ag, G: MicNo % 0.25 Ag, H: MicNo % 0.05 Ag, M: MicNo, N: Sigma)**

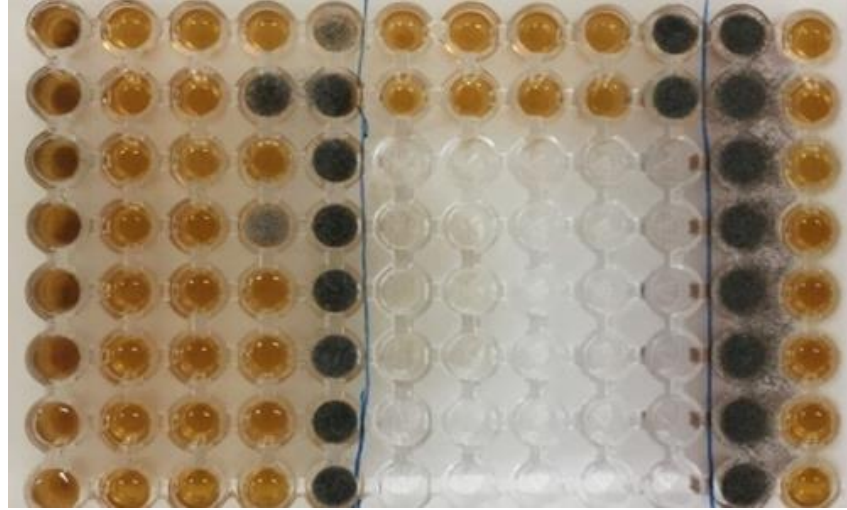
İzolat adı	Nanopartiküller										
	K	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>C. sphaerospermum</i>	5	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3
<i>C. tenellum</i>	5	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2
<i>E. amstelodami</i>	5	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2
<i>H. ingelheimensis</i>	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>P. adametzioides</i>	5	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3
<i>P. brevicompactum</i>	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>P. chrysogenum</i> (1)	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>P. chrysogenum</i> (2)	5	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3
<i>P. citrinum</i>	5	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3
<i>P. decumbens</i>	5	4	3	3	3	2	2	2	2	2	2
<i>P. georgiense</i>	5	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>P. hordei</i>	5	4	4	3	3	3	2	2	2	2	2
<i>P. polonicum</i>	5	3	3	3	3	4	4	4	3	3	3

**Tablo 3.3. (Devamı) Sporlana derecelerine ait etki değerleri (K: Kontrol, A: MicNo % 8 Ag, B: MicNo % 6 Ag, C: MicNo % 4 Ag, D: MicNo % 2 Ag, E: MicNo % 1 Ag, F: MicNo % 0.50 Ag, G: MicNo % 0.25 Ag, H: MicNo % 0.05 Ag, M: MicNo, N: Sigma)**

İzolot adı	Nanopartiküller										
	K	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>R. microsporus</i>	5	3	2	2	1	2	3	3	3	3	3

### 3.3. Minimum İnhibe Edici Konsantrasyonun Belirlenmesi

Geliştirilen her bir nanopartikülün hangi doz ve oranda ne derece etki ettiği gözlemlenmiş ve gelişimlerinin baskılandığı kuyucuk sırasına göre µg/ml olarak kayıt edilmiştir. Bunun için hem test küflerini içeren PDB pozitif kontrol hem de test küflerini içermeyen negatif kontrol PDB ile elde edilen MİK değerleri kıyaslanmıştır. Bu çalışmaya ait temsilci fotoğraf şekil 3.3'de elde edilen MİK sonuçları da Tablo 3.4'de verilmiştir.



**Şekil 3.3. Temsilci mikroorganizmaya ait (*Rhizopus microsporus*) MİK görüntüsü**

**Tablo 3.4.** Test nanopartiküllerine ait *minimum inhibe edici konsantrasyon* ( $\mu\text{g/ml}$ ) (**A:** MicNo % 8 Ag, **B:** MicNo % 6 Ag, **C:** MicNo % 4 Ag, **D:** MicNo % 2 Ag, **E:** MicNo % 1 Ag, **F:** MicNo % 0.50 Ag, **G:** MicNo % 0.25 Ag, **H:** MicNo % 0.05 Ag, **M:** MicNo, **N:** Sigma)

İzolat adı	Nanopartiküller									
	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>A. amoenus</i>	125	250	250	250	250	250	250	250	250	125
<i>A. calidoustus</i>	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
<i>A. chevalieri</i>	125	125	125	125	250	250	125	125	125	125
<i>A. clavatus</i> (1)	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
<i>A. clavatus</i> (2)	125	125	125	250	250	250	125	125	125	250
<i>A. creber</i>	125	250	250	250	250	250	125	125	125	125
<i>A. dimorphicus</i>	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
<i>A. fischeri</i>	250	125	125	125	250	125	125	125	125	125
<i>A. flavus</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>A. fumigatus</i>	250	125	250	62,5	125	250	250	125	62,5	250
<i>A. japonicus</i>	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
<i>A. jensenii</i>	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
<i>A. ochraceus</i>	125	125	125	250	125	125	125	125	125	125

**Tablo 3.4. (Devamı)** Test nanopartiküllerine ait *minimum inhibe edici konsantrasyon* ( $\mu\text{g/ml}$ ) (**A:** MicNo % 8 Ag, **B:** MicNo % 6 Ag, **C:** MicNo % 4 Ag, **D:** MicNo % 2 Ag, **E:** MicNo % 1 Ag, **F:** MicNo % 0.50 Ag, **G:** MicNo % 0.25 Ag, **H:** MicNo % 0.05 Ag, **M:** MicNo, **N:** Sigma)

İzolat adı	Nanopartiküller									
	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>A. puniceus</i>	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
<i>A. quadrilineatus</i>	125	125	125	125	250	62,5	125	125	125	125
<i>A. sydowii</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>A. tenuissima</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>A. terreus</i> (1)	250	125	125	250	125	125	125	125	250	250
<i>A. terreus</i> (2)	250	500	250	250	250	250	500	500	250	250
<i>A. tubingensis</i> (1)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>A. tubingensis</i> (2)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>A. uvarum</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	125	125
<i>A. westerdijkiae</i>	125	125	125	125	125	125	125	250	250	125
<i>C. herbarum</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>C. pseudocladosporioides</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>C. sphaerospermum</i>	125	125	125	125	125	125	125	250	250	125

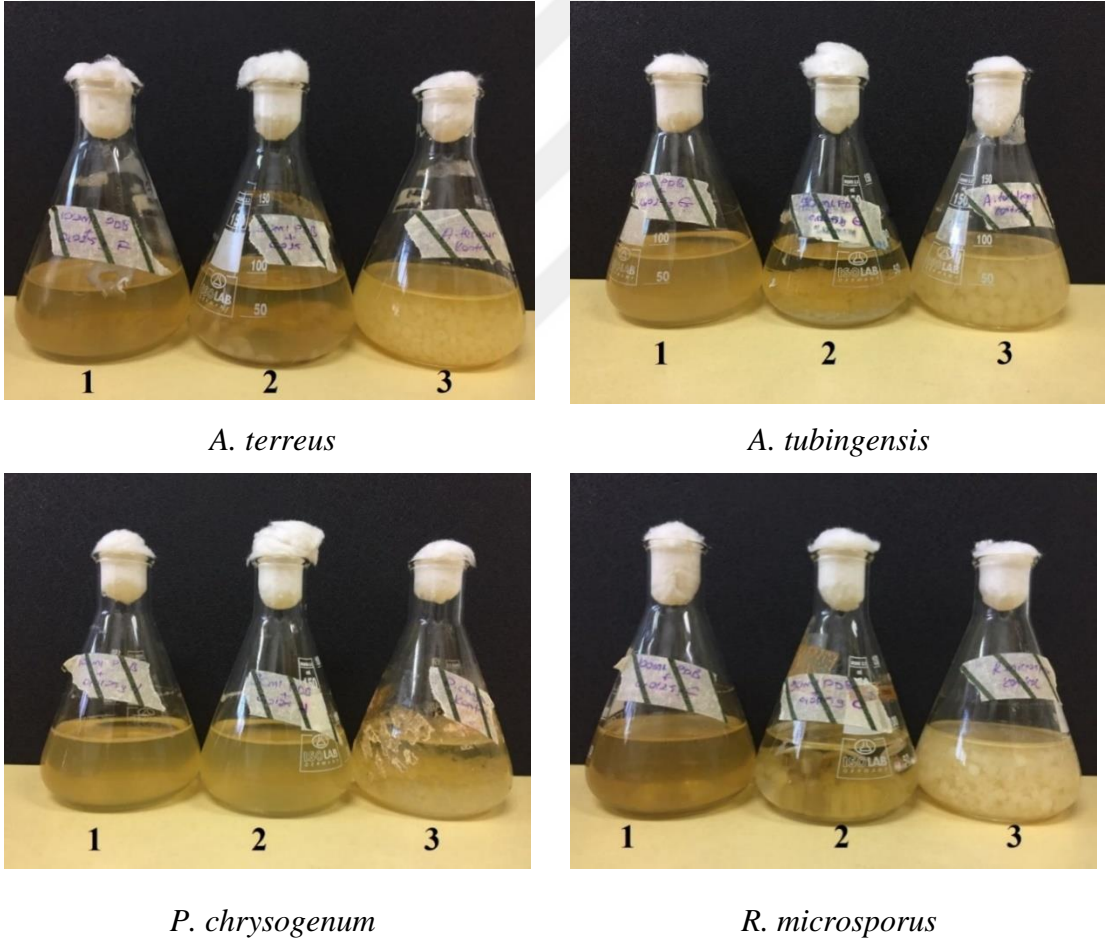
**Tablo 3.4. (Devamı)** Test nanopartiküllerine ait *minimum inhibe edici konsantrasyon* ( $\mu\text{g/ml}$ ) ((**A:** MicNo % 8 Ag, **B:** MicNo % 6 Ag, **C:** MicNo % 4 Ag, **D:** MicNo % 2 Ag, **E:** MicNo % 1 Ag, **F:** MicNo % 0.50 Ag, **G:** MicNo % 0.25 Ag, **H:** MicNo % 0.05 Ag, **M:** MicNo, **N:** Sigma)

İzolot adı	Nanopartiküller									
	A	B	C	D	E	F	G	H	M	N
<i>C. tenellum</i>	125	125	125	125	250	125	250	125	125	125
<i>H. ingelheimensis</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>P. adametzioides</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>P. brevicompactum</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>P. chrysogenum</i> (1)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>P. chrysogenum</i> (2)	250	125	125	125	125	250	125	125	125	250
<i>P. citrinum</i>	62,5	125	125	62,5	125	125	125	125	125	62,5
<i>P. decumbens</i>	125	250	125	62,5	250	125	125	125	125	125
<i>P. georgiense</i>	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
<i>P. hordei</i>	125	125	125	125	125	125	125	125	125	125
<i>P. polonicum</i>	125	125	250	250	250	125	125	125	125	125
<i>R. microsporus</i>	125	250	125	250	125	125	125	125	125	125

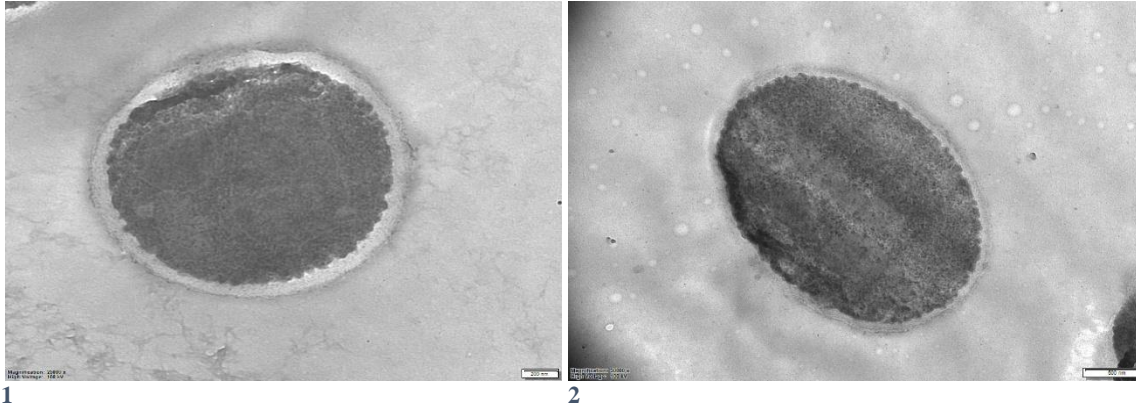


### 3.4. Maruziyet sonucu oluşan ultra yapısal değişimlerin incelenmesi

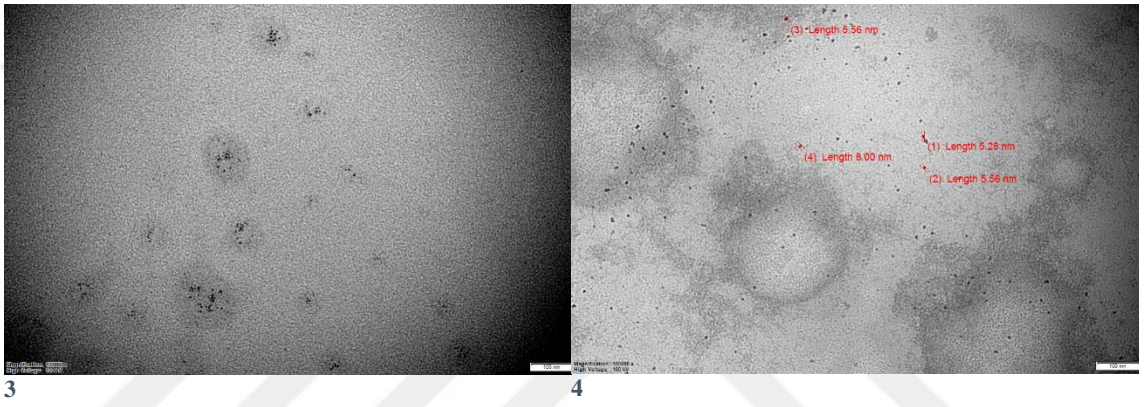
Geçirimli elektron mikroskobu için hazırlanan test küf örneklerinin kontrolü, nanopartiküllerin kontrolü ve nanopartikül ile muamele edilmiş test küflerinin kontrollerine ait olan fotoğraflar Şekil 3.4’de verilmiştir. İnkübasyon sonrasında nanopartiküllerin kontrol erlenlerinde toz yapısında herhangi bir görsel değişim belirlenmezken, muamele görmemiş test küflerinin belirgin bir şekilde geliştiği gözlemlenmiştir. Nanopartiküller ile muamele edilmiş olan test küflerinde ise özellikle pellet çaplarının küçülmesi, renklerinin koyulaşması ve pellet oranının azlığı dikkat çekmiştir. Test küf hücreleri ve kontrollere ait TEM fotoğrafları Şekil 3.5-8’de paylaşılmıştır.



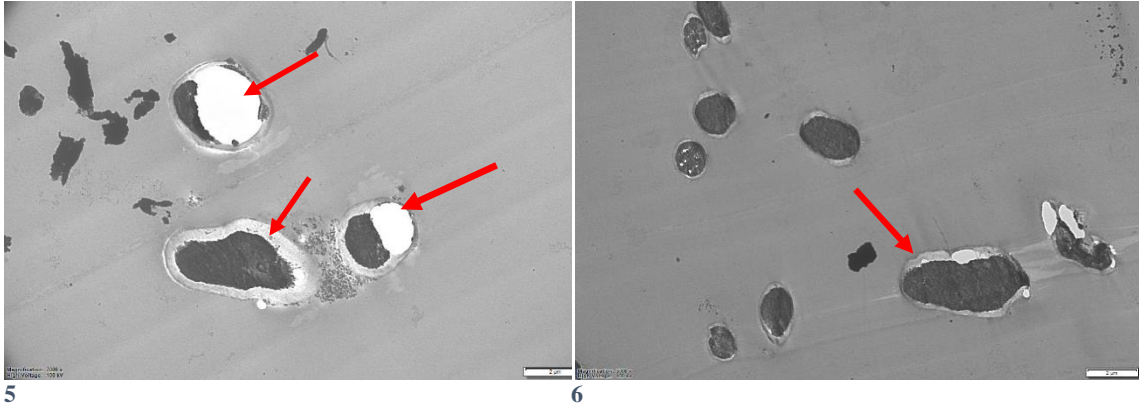
Şekil 3.4. TEM analizinde kullanılacak numuneler; 1; Nanopartikül kontrolü, 2; Nanopartikül ile muamele edilmiş küf kontrolü, 3;küf kontrolü



*Aspergillus terreus*; sağlıklı hücre



MicNo % 0,50 Ag (F)

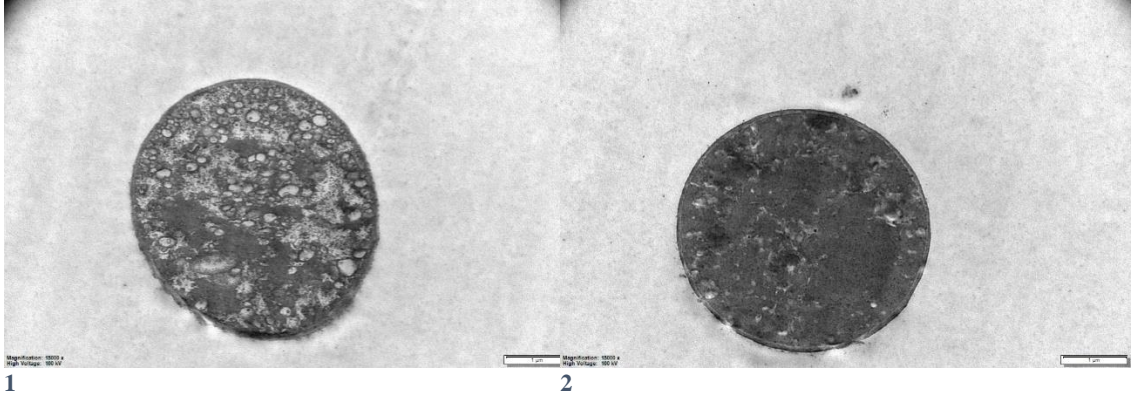


MicNo % 0,50 Ag (F) ile muamele edilmiş *Aspergillus terreus*

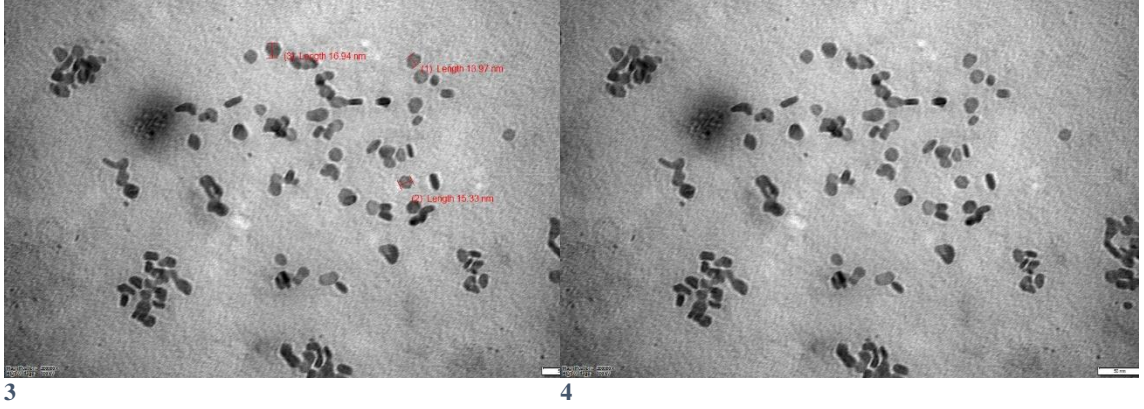
Şekil 3.5. *Aspergillus terreus*'a ait TEM görüntüsü

MİK uygulaması ile MicNo % 0,50 Ag (F)'nin 250 µg/ml konsantrasyonda *Aspergillus terreus* küfünü inhibe ettiği belirlenmiştir. Aynı derişimde tekrar edilen çalışma TEM ile incelendiğinde ise hücre duvarı ve hücre membranı arasında çok belirgin

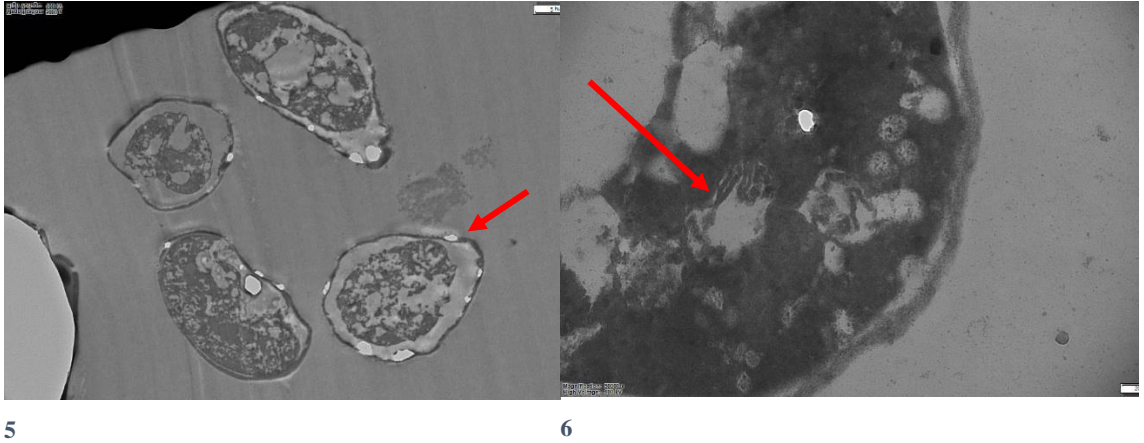
boşlukların oluştuğu, hücre duvarında yer yer kalınlaşmanın gerçekleştiği ve sitoplazmada ileri derecede elektronca yoğunlaşmanın oluştuğu belirlenmiştir.



*Aspergillus tubingensis*; sağlıklı hücre



MicNo % 0,25 Ag (G)

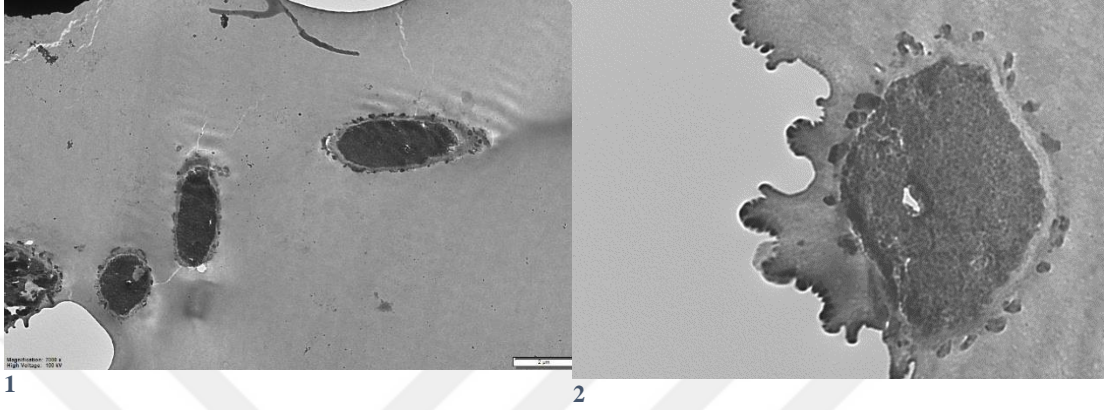


MicNo % 0,25 Ag (G) ile muamele edilmiş *Aspergillus tubingensis*

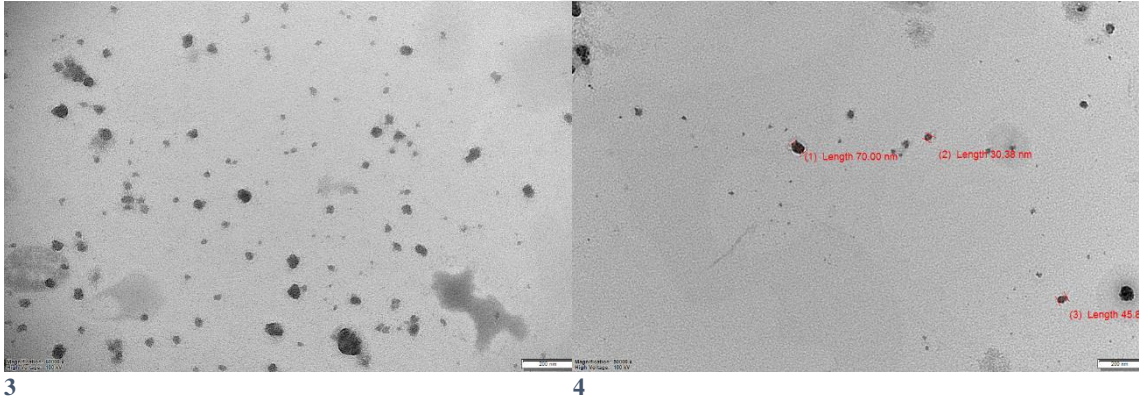
Şekil 3.6. *Aspergillus tubingensis*'e ait TEM görüntüsü



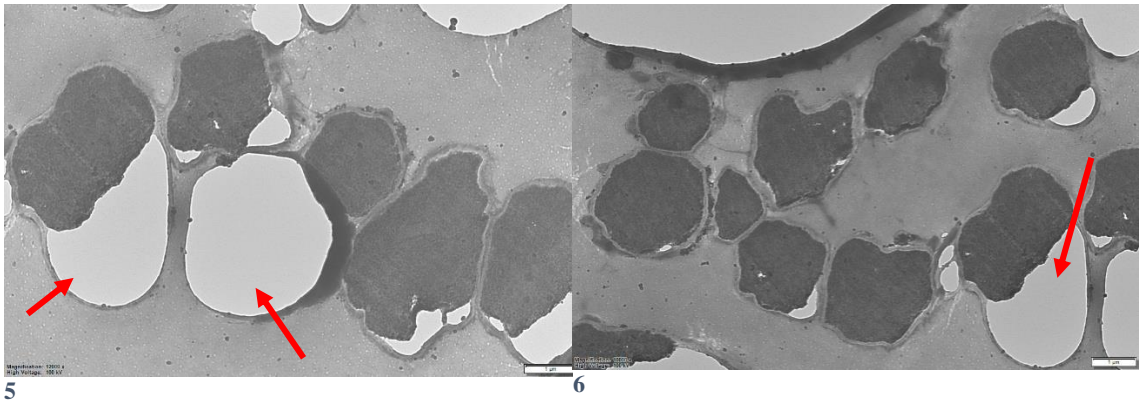
MİK uygulaması ile MicNo % 0,25 Ag (G)'nin 250 µg/ml konsantrasyonda *Aspergillus tubingensis* küfünü inhibe ettiği belirlenmiştir. Aynı derişimde tekrar edilen çalışma TEM ile incelendiğinde ise hücre duvarı ve hücre membranı arasında çok belirgin boşlukların oluştuğu, mitokondri üzerinde de hasar oluşturduğu belirlenmiştir.



*Penicillium chrysogenum*; sağlıklı hücre



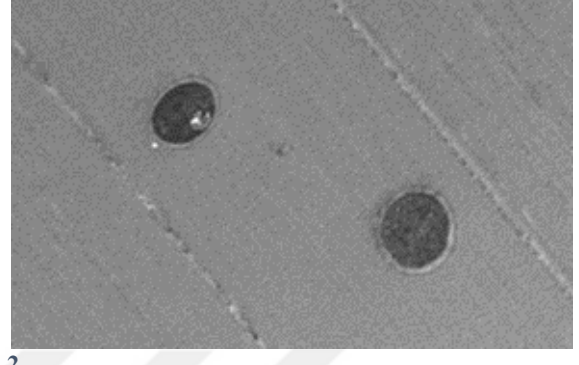
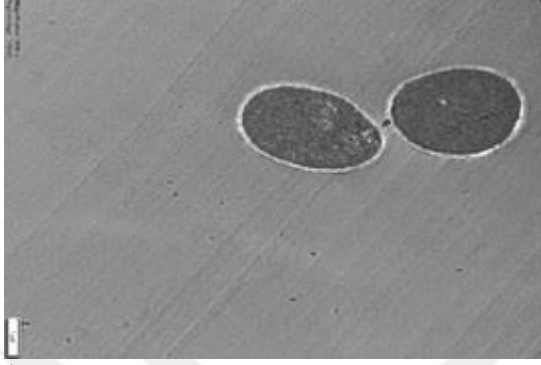
MicNo % 0,05 Ag (H)



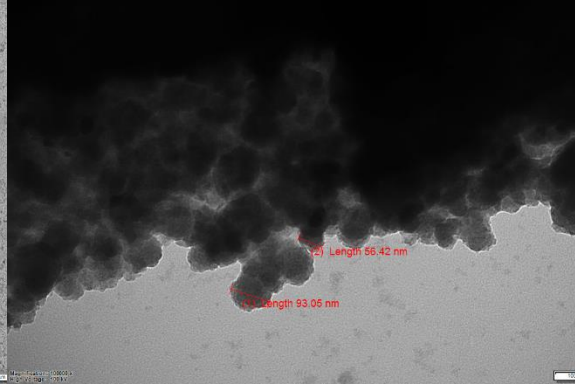
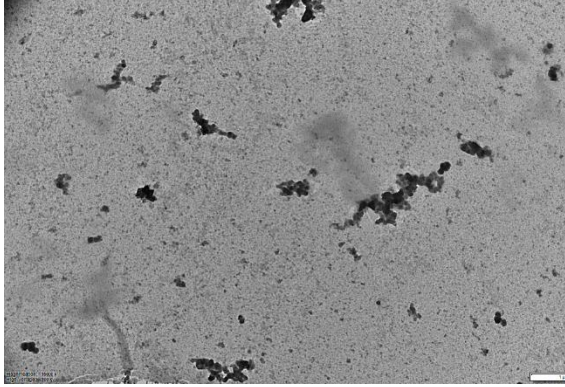
MicNo % 0,05 Ag (H) ile muamele edilmiş *Penicillium chrysogenum*

Şekil 3.7. *Penicillium chrysogenum*'a ait TEM görüntüsü

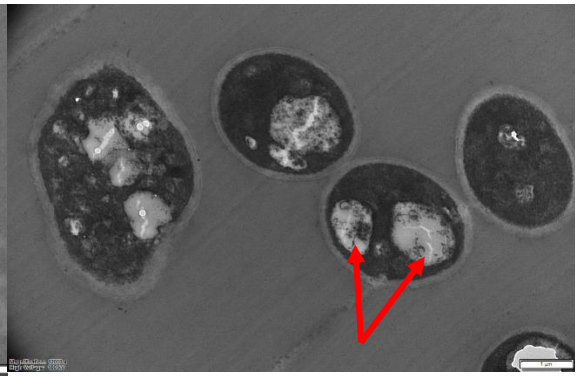
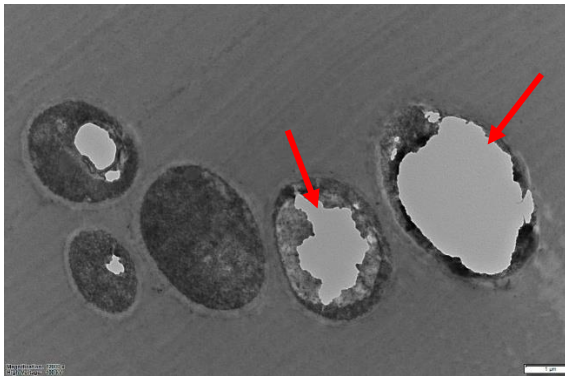
MİK uygulaması ile MicNo % 0,05 Ag (H)'nin 125µg/ml konsantrasyonda *Penicillium chrysogenum* küfünü inhibe ettiği belirlenmiştir. Aynı derişimde tekrar edilen çalışma TEM ile incelendiğinde ise 'blebbing' denilen boşlukların oluştuğu ve elektron yoğunlaşmalarının oluştuğu görülmüştür.



*Rhizopus microsporus*; sağlıklı hücre



MicNo % 4 Ag (C)



MicNo % 4 Ag (C) ile muamele edilmiş *Rhizopus microsporus*

Şekil 3.8. *Rhizopus microsporus*'a ait TEM görüntüsü

MİK uygulaması ile MicNo % 4 Ag (C)'nin 125 µg/ml konsantrasyonda *Rhizopus microsporus* küfünü inhibe ettiği belirlenmiştir. Aynı derişimde tekrar edilen çalışma TEM ile incelendiğinde ise hücre içerisinde yırtılmaların olduğu ve hasara uğradığı belirlenmiştir.



## 4. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

### 4.1. Sonuç ve Tartışma

TÜBİTAK-1001, 111T925 no'lu proje çalışması ile Türkiye'nin beş farklı ilindeki yeni doğan ünitelerinin iç havasında dikkate değer bir küf probleminin varlığı belirlenmiş ve yayımlanmıştır (Demirel vd., 2017). Söz konusu çalışma ile yenidoğan ünitelerinde tespit edilmiş olan küf yükünün tanımlama sonucunda astım, allerjik rinit, aşırı duyarlılık pnömonisi gibi hastalıklara neden olabilecek küf türlerinin varlığı ortaya konulmuştur.

111T925 no'lu proje çalışması ile ortaya konulmuş olan problem hakkında disiplinler arası tasarlanmış olan bu çalışma ile çözüm önerilerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç kapsamında ticari ZnO, ticari ZnO'nun tasarlanması ile oluşturulmuş hegzagonal plaka formulu MicNo ve bu formun farklı derişimlerde Ag içeren tiplerinden oluşan toplam 10 adet nanopartikülün, iç hava ortamından izole edilen 39 adet küf örneğine karşı antifungal aktivitesinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

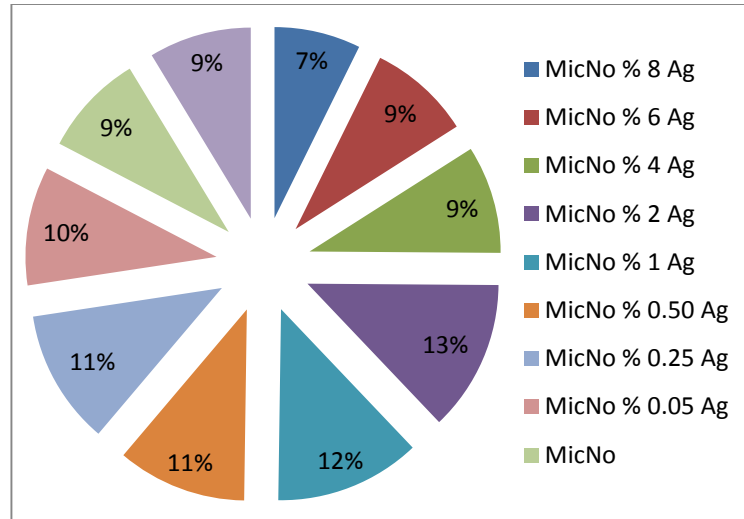
İç hava ortamında potansiyel hastalık oluşturan bu küflere karşı, kuyucuk testi ile antifungal aktivitesinin belirlenmesi sonucunda Ag oranının artmasıyla inhibisyon zonu arasında doğru orantı olduğu belirlenmiştir. Özellikle MicNo % 6 Ag (B) nanopartikülün en yüksek inhibisyon zonunu mikotoksin üreticisi olması (Pantelides vd., 2015; Xu vd., 2006; Tülek ve Dolar, 2012). ile çeşitli kanserojenik ve mutajenik oluşumlara neden olan *A.tubingensis*'e karşı (16 mm) oluşturduğu kaydedilmiştir. MicNo % 4 Ag (C)'nin *P. hordei*'ye karşı (15 mm), MicNo % 1 Ag (E)'nin de *A. uvarum*'a karşı (15 mm) görülür şekilde etki gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte mikotoksin üretme yeteneği olan *P. citrinum*, bitki yaprakları üzerinde çürümeye sebep olan *A. tenuissima*, *C. tenellum*, ve *C. sphaerospermum* üzerinde zon etkisinin oluşmadığı belirlenmiştir.

Başka bir çalışmada (Demirel vd., 2018) ise yapılan kuyucuk testinde, filamentöz mantarların inhibisyonu üzerine, test edilen nanopartiküller *A. fumigatus* (8-11 mm) ve *P. citrinum*'a (8-10 mm) karşı antifungal aktivite göstermiştir. MicNo fiziksel özelliklerin karşılaştırmasına göre, mantarlara karşı etkili bir ajan (*A. fumigatus*'un 9 mm inhibisyonu, *P.citrinum*'un 10 mm inhibisyonu) olarak bulunmuştur. Gümüş katkısı varlığında artan antifungal aktivite açıkça görülmüştür. % 0.05 mol Ag katkılı MicNo numune özellikle *A. fumigatus*'u inhibe etmiştir ve bu toz tüm tozlar arasında en etkili olanı olarak bulunmuştur.

Diğer bir yöntem olan agar dilüsyon testi çalışması sonucunda hem Ag ilavesi yapılmış MicNo % 0,50 Ag (F), MicNo % 0,25 Ag (G) ve MicNo % 0,05 Ag (H) hem de

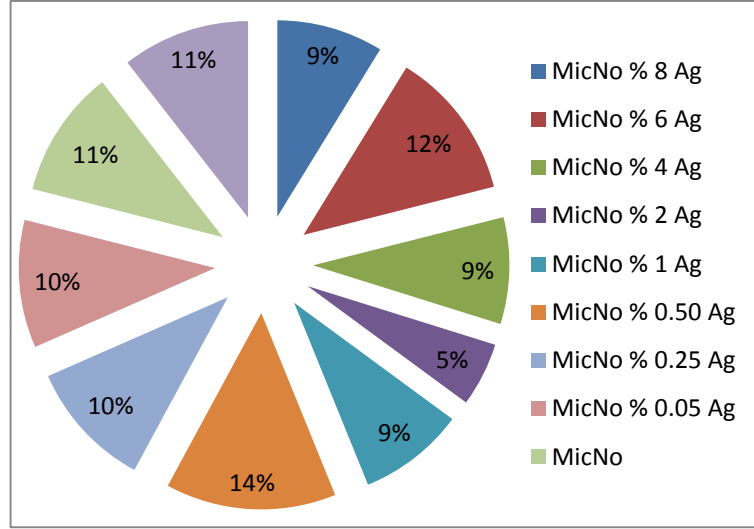
Ag ilavesi yapılmamış nanopartiküllerin (M ve N) kuyucuk testine karşı daha fazla antifungal aktivite gösterdiği ve söz konusu test mikroorganizmaların yapısı ve dokusunu daha kolay bozduğu belirlenmiştir. Kullanılan nanopartiküllerin besiyeri içerisine direkt ilave edilerek homojen bir şekilde dağılımının sağlanmasından dolayı daha fazla etki gösterdiği düşünülmektedir. Özellikle MicNo % 2 Ag (D)'nin *Rhizopus microsporus* üzerinde sporlanmayı önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte *A. amoenus*'da ise sporlanmanın kontrole yakın bir şekilde devam ettiği ve bu küf üzerinde MicNo % 0,25 Ag (G)'nin etki göstermediği belirlenmiştir.

Test edilen nanopartiküllerin kontrol sporlanma derecelerine benzerliği çoğunlukla 2 (düşük) – 3 (orta) ve 4 (yüksek) üzerinde görülmüştür. Kontrole orta seviyede benzerlik gösteren ve sporlanma özelliğini kısmen engelleyebilen nanopartikül MicNo % 2 Ag; test küfleri içerisinde % 13, MicNo % 1 Ag'nin ise test küflerinin % 12'sini etkilediği kaydedilmiştir (Grafik 4.1). Özellikle MicNo % 0,50 Ag (F)'nin 8 küf üzerinde % 14 oranında sporlanmayı en fazla azaltan nanopartikül olarak belirlenmiştir. Bunu takip eden MicNo % 6 Ag (B)'nin de 7 küf üzerinde % 12 oranında azaltıcı etkisi olduğu belirlenmiştir (Grafik 4.2).



**Grafik 4.1.** Orta derecede benzerlik gösteren yüzdeleri küf sayısı





**Grafik 4.2.** Düşük derecede benzerlik gösteren yüzdeleri küf sayısı

Benzer başka bir çalışmada ise (Vlad vd.,2012) ZnO içeriği % 0' dan başlanarak % 5, % 10 olacak şekilde arttırılarak nanopartiküler besiyerine direkt ilave edilerek *Aspergillus* sp. üzerinde test edilmiş ve % 10 ZnO içeriğine sahip olan nanopartiküllerin antifungal aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak da metal içeriği daha fazla olan nanopartiküllerin küf gelişimi üzerinde zayıflatıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

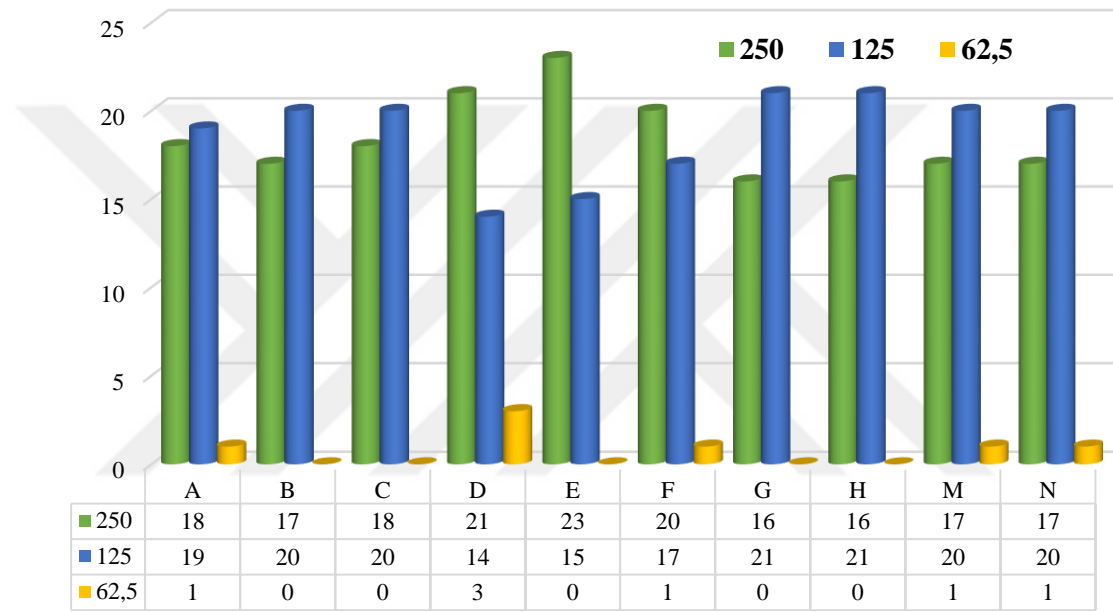
Yapılan başka bir çalışmada (Xia vd., 2016) ise *Trichosporon asahii*'ye karşı Ag nanopartiküllerinin antifungal aktivitesi test edilerek 35 °C' de PDA besiyerinde 14 gün boyunca inkübe edildiğinde, belirli aralıklarla konsantrasyonları arttırılan Ag nanopartiküllerinin daha fazla antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Söz konusu çalışmalar doğrultusunda etkin dozun belirlenmesi amacıyla uygulanan MİK çalışmasında en düşük etki dozu 62,5 µg/ml olarak belirlenirken, en yüksek etki dozu 500 µg/ml olarak belirlenmiştir. İncelenen nanopartiküller arasından Ag katkısı olan ve olmayanların birbirine yakın antifungal aktivite dozlarına sahip olduğu kaydedilmiştir. MicNo % 8 Ag (A) ve MicNo % 2 Ag (D) nanopartikülleri *P. citrinum* 'u 62,5 µg/ml doz ile inhibe ettiği dikkat çekmiştir. Yine aynı dozda *A. quadrilineatus* 'un MicNo % 0,50 Ag, *P. decumbens*'in de MicNo % 2 Ag tarafından inhibe edildiği belirlenmiştir. Bunu MicNo (M) ve ticari ZnO (N)'nun 125-250 µg/ml oranında antifungal etki göstermesi takip etmiştir.

Toplam 39 adet küf için test edilen 10 adet nanopartikülden MicNo % 8 Ag (A) nanopartikülü daha çok 125 µg/ml dozunda 19 adet küf izolatına karşı antifungal aktivite

göstermiştir. Gümüş oranı MicNo % 8 Ag (A) nanopartikülünden daha az olmasına rağmen MicNo % 0,25 Ag (G) ve MicNo % 0,05 Ag (H) tozu aynı doz değerinde 21 adet küfe karşı antifungal aktivite göstererek daha fazla başarı sergilemiştir. Gümüş ilavesi yapılmamış MicNo ise en etkin dozu 125 µg/ml’de göstererek 20 adet küf izolatına karşı başarılı bulunmuştur (Grafik 4.3).

Böylelikle yapılan MİK çalışması Ag ilavesi yapılmayan MicNo ile de aynı dozda etkilerin sağlanabileceği ve bunun sonucunda da ekonomik açıdan daha az maliyet ile aynı etkinin sağlanabileceği belirlenmiştir.



**Grafik 4.3.** Nanopartiküllerin farklı dozlarda (µg/ml) etkilediği küf sayısı

Genç vd. (2018) tarafından yapılan toksisite belirleme çalışmalarında ticari ZnO’ın test hücre tipine (hücre adını detaylı yazabilirsin) karşı LD50 değerinin 10-20 µg/ml aralığında olduğu, ticari ZnO’ın MicNo formuna dönüştürülmesi ile LD50 değerinin 40-50 µg/ml aralığına yükseldiği belirlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız MicNo ve gümüş katkılı formları bir ham madde olup, belirlediğimiz antifungal aktivite özelliklerine dayanarak çeşitli ürünlerde antifungal katkı maddesi olarak kullanılabilirliğini ileri sürmekteyiz. Her son ürünün önerilen katkı maddesine ilaveten diğer bütün bileşenlerinin de gerek antifungal özelliğinin gerek ise sitotoksik özelliklerinin olabileceği düşünülerek son ürün sitotoksik çalışmalarının yapılarak kullanılma sunulması bir yönetmelik gereği olup, ürün tipine göre bu yönetmelik çeşitleri değişmektedir. İlaveten inovatif ürün geliştirme sürecinde ürün bileşenlerinin de

antifungal aktivite sergileyebilecekleri dikkate alınarak MicNo gibi katkı maddeleri belirlenmiş olan MİK değerlerinden daha düşük dozlarda kullanılabilir. Bu sebeplerden dolayı, MicNo ve gümüş katkılı formlarının inovatif ürün geliştirme sürecinde ve sonucunda sitotoksik etki özelliklerinin değerlendirmeye alınması gerekmektedir.

Söz konusu nanopartiküllerin, küfler üzerinde göstermiş olduğu etki mekanizmasının anlaşılabilmesi amacıyla yapılan TEM analizinde ise küflere ait hücre duvarlarında kırılmalar, hücre duvarı ve zarı arasında belirgin boşluklar, sitoplazmada elektron yoğunlaşmaları, hücre içinde blebbing denen boşlukların oluşması ve sonuç olarak da hücre bütünlüğünün korunamadığı kaydedilmiştir.

Aynı şekilde küf oluşumunun engellenmesi amacıyla (Xia vd., 2016) Ag katkılı nanopartiküller *Trichosporon asahii*'ye karşı test edilmiş ve söz konusu mikroorganizma üzerinde hücre duvarının parçalanarak yer yer yırtılmaların olduğu ve sitoplazmanın küçülerek hücre içerisinde boş alanların olduğu TEM ile belirlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda incelemeye alınmış olan 10 adet nanopartikülün çeşitli düzeylerde antifungal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ticari ZnO'in tasarlanmış heksagonal plaka formu MicNo formuna dönüştürülmesinin antifungal etkinliğin artırılması yönünde başarı sağladığı tespit edilmiştir. Söz konusu MicNo formunun Ag katkısı ile zenginleştirilmesinin antifungal aktiviteye olumlu yönde etki yaptığı ve özellikle % 0.50 Ag oranının test küflerine karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Dolayısı ile MicNo ve bazı Ag katkılı formlarının TUBİTAK 1001-111T925 no'lu proje ile belirlenmiş olan mevcut problemi çözme yönünden önemli potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

Geliştirilen Nanotech ZAG-1455- PAG C-0085 (http-1) ve Boyasan Powder Coating BPCOAT-ST (http-1) gibi tozlar hem antifungal hem de antibakteriyel olmasından dolayı hastaneler, laboratuvar test ekipmanları, parklar ve oyun alanları, toplu taşıma, ofisler, okullar, merdivenler, asansörler, havalandırma ve hava arıtma sistemlerinde kullanılmaktadır.

Aynı şekilde, Dilechem (http-2) kimya tarafından geliştirilen antimikrobiyal kaplamalar ile çeşitli tesis alanlarında patojenlerin büyümesinin sınırlanması için ürünler geliştirilmiştir.

Ayrıca yapılan bu tez çalışmasına ait içerik ve sonuçlar sunum olarak hazırlanmıştır (EK-1).

## 4.2. Öneriler

Bu çalışmalar sonucunda da iç ortamda bulunan küfler üzerinde antifungal aktivitenin sağlanarak ortamın daha temiz bir hale getirilmesi hastane, okul vb. topluma açık kurumlarda insan sağlığını tehdit eden unsurların bu şekilde antimikrobiyal malzemelerin yapımı ile özellikle küf gelişimin engellenebileceği ve ortamdaki sayısının azaltılabileceği düşünülmektedir.

Söz konusu çalışma sonucunda etkisi belirlenen nanopartiküller kullanılarak bahsi geçen malzemelere ilaveten yeni malzemelerin yapımı; dezenfektan ürünler, antimikrobiyal seramikler, antimikrobiyal hava filtreleri, boyalar ve çeşitli başka malzemelerin yapımı ile insan sağlığı açısından potansiyel risk oluşturan etmenlerin ortadan kaldırılabilmesi ön görülmektedir.

Özellikle bu çalışma kapsamında da hedef alan olarak seçilen hastane ortamında bulunan ve toplu kullanıma açık olan alanlardaki (tuvalet, bekleme salon koltukları, trabzanlar, kapı) malzemelerin yapımında etkisi belirlenen nanopartiküller kullanılarak da ikincil enfeksiyon oluşturma yeteneği olan mikroorganizmalar üzerinde başarılı olabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKÇA

- Akkara, M. ve Tosun, H. (2014). Funguslardan Elde Edilen Endüstriyel Ürünler. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 9 (2), 46-53.
- Alarifi, S, Ali, D, Alkahtani, S, Alhader, M.S. (2014). Iron oxide nanoparticles induce oxidative stress, DNA damage, and caspase activation in the human breast cancer cell line. *Biological trace element research*, 159 (1-3), 416-424.
- Balouiri, M., Sadiki, M. ve Ibsouda, S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6 (2), 71-79.
- Beggs, C.B. (2003). The airborne transmission of infection in hospital buildings: fact or fiction? *Indoor and Built Environment*, 12 (1-2), 9-18.
- Bhadra, D., Bhadra, S., Jain, P., Jain, N.K. (2002). Pegnology: a review of PEG-ylated systems. *Die Pharmazie*, 57 (1), 5-29.
- Chao, H.J., Schwartz, J., Milton, D.K., Burge, H. A. (2002). Populations and determinants of airborne fungi in large office buildings. *Environmental health perspectives*, 110 (8), 777-782.
- CLSI M38-A2. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2. Baskı, 28 (16).
- Çöl, B.G. ve Aksu, H. (2007). Gıda işletmelerinde ortam havasının mikrobiyal yükü üzerine etkili faktörler ve hava örnekleme teknikleri. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, 2, 24-47.
- Demirel, R., Suvacı, E., Şahin, İ., Dağ, S., Kılıç, V. (2018). Antimicrobial activity of designed undoped and doped MicNo-ZnO particles. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47, 309-321.
- Demirel, R., Şen, B., Kadaifçiler, D., Yoltaş, A., Ökten, S., Özkale, E., Berikten, D., Samson, R., Haliki, U.A., Yılmaz, N., Abacı, G.O., Aydoğdu, H., Asan, A., Kıvanç, M., Özdil, S., Sakartepe, E. (2017). Indoor airborne fungal pollution in newborn units in Turkey. *Environmental monitoring and assessment*, 189 (7), 362.
- Eloff, J.N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med.*, 64, 711-713.

- Gajbhiye, M., Kesharwani, J., Ingle, A., Gade, A., Rai, M. (2009). Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic fungi in combination with fluconazole. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5 (4), 382-386.
- Genç, H., Barutca, B., Koparal, A.T., Özögüt, U., Şahin, Y., Suvacı, E. (2018). Biocompatibility of designed MicNo-ZnO particles: Cytotoxicity, genotoxicity and phototoxicity in human skin keratinocyte cells. *Toxicology in Vitro*, 47, 238-248.
- Gürgün, V. ve Halkman, A.K. (1990). Mikrobiyolojide Sayım yöntemleri. (2. Baskı, 146) Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 7 Ankara: Basım & Grafik.
- Gürler, N. (2004). Pediatrik nozokomiyal infeksiyonlarda etken mikroorganizmalar ve antibiyotiklere direnç. *Ankem Dergisi*, 18 (2), 141-147.
- Güven, K. (2011). Prokaryotlar, Protisler ve Funguslar. A.Y. Kılıç (Ed.) Genel Biyoloji, (2. Baskı; 72-92) Anadolu Üniversitesi Yayını No: 1965, Açıköğretim Fakültesi Yayını No: 1045
- He, L., Liu, Y., Mustapha, A., Lin, M. (2011). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological research*, 166 (3), 207-215.
- Hendriksen, R.S. (2003). MIC susceptibility testing of *Salmonella* and *Campylobacter*, A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization 4<sup>th</sup> Ed.
- İmalı, A., Yalçinkaya, B., Koçak, M., Koçer, F. (2008). Çorum ili atmosferinde hava ile taşınan allerjen funguslar. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 6 (3), 19-24.
- Kaşık, G. (2010). Mantar Bilimi (1. baskı). Konya: Marifet matbaa ve Kağıtçılık.
- Khezerlou, A., Alizadeh-Sani, M., Azizi-Lalabadi, M., Ehsan, A. (2018). Nanoparticles and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and viruses. *Microbial pathogenesis*, 123, 505-526.
- Kuhn, D.M. ve Ghannoum, M.A. (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clinical microbiology reviews*, 16 (1), 144-172.
- Letrilliart, L., Guiguet, M., Hanslik, T., Flahault, A. (2001). Postdischarge nosocomial infections in primary care. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 22 (8), 493-498.

- Menteşe, S., Rad, A.Y., Arısoy, M., Güllü, G. (2009). Ankara şehir atmosferinde biyoaerosol seviyelerinin mekansal değişimi. *Ekoloji*, 19 (73), 21-28.
- Miller, J.C., Serrato, R.M. ve Kundahl, G.A. (2004). *The Handbook of Nanotechnology*, M. Graffagnini (Ed), Canada: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Ogar, A., Tylko, G., ve Turnau, K. (2015). Antifungal properties of silver nanoparticles against indoor mould growth. *Science of the Total Environment*, 521, 305-314.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3), 331-336.
- Özdoğan, E., Demir, A. ve Seventekin, N. (2006). Nanotechnology and its applications in textile industry. *Tekstil ve konfeksiyon*, 16 (3), 159-168.
- Pantelides, I.S., Christou, O., Tsolakidou, M.D., Tsaltas, D., Ioannou, N. (2015). Isolation, identification and in vitro screening of grapevine yeasts for the control of black aspergilli on grapes. *Biol Control*, 88, 46-53.
- Pasquet, J., Chevalier, Y., Couval, E., Bouvier, D., Bolzinger, M.A. (2015). Zinc oxide as a new antimicrobial preservative of topical products: Interactions with common formulation ingredients. *International journal of pharmaceutics*, 479 (1), 88-95.
- Pasquet, J., Chevalier, Y., Couval, E., Bouvier, D., Noizet, G., Morlière, C., Bolzinger, M.A. (2014). Antimicrobial activity of zinc oxide particles on five microorganisms of the Challenge Tests related to their physicochemical properties. *International journal of pharmaceutics*, 460 (1-2), 92-100.
- Pepeljnjak, S. ve Šegvić, M. (2003). Occurrence of fungi in air and on plants in vegetation of different climatic regions in Croatia. *Aerobiologia*, 19 (1), 11-19.
- Sarıözlü, N.Y. ve Demirel, R. (2010) Mikroorganizmalarda Çeşitlilik II. K. Güven (Ed.) *Genel Mikrobiyoloji*. (2.Baskı; 154-174). Anadolu Üniversitesi Yayını No. 1961, Açıköğretim Fakültesi Yayını No: 1041
- Sarica, S., Asan, A., Otkun, M.T., Türe, M. (2002). Monitoring indoor airborne fungi and bacteria in the different areas of Trakya University Hospital, Edirne, Turkey. *Indoor and built Environment*, 11 (5), 285-292.
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N.H.M., Ann, L.C., Bakhori, S.K.M., Hasan, H., Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7 (3), 219-242.

- Soyöz, M. ve Özçelik, N. (2002). Okratoksin A'nın Toksik Etkileri ve Eliminasyonu. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22 (4), 421-427.
- Şimşekli, Y., Akkaya, A., Gücin, F., Ünlü, M., Yorgancıgil, B. (2000). Isparta şehrinin havasında bulunan allerjen fungus sporları. *Turkiye Klinikleri Archives of Lung*, 1 (1), 9-12.
- Tuncer, A. ve Soyer, Ö. (2005). Hasta bina sendromu. *Astım Allerji İmmünoloji*, 3 (2), 97-102.
- Tülek, S. ve Dolar, F. (2012). Ankara ili havuç alanlarında görülen fungal yaprak hastalıklarının belirlenmesi ve yaygınlık oranlarının saptanması. *Bitki Koruma Bülteni*, 52 (3), 247-259.
- Vlad, S., Tanase, C., Macocinschi, D., Ciobanu, C., Balaes, T., Filip, D., Gostin, I.N., Gradinaru, L.M. (2012). Antifungal behaviour of polyurethane membranes with zinc oxide nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 7, 51-58.
- Xia, Z.K., Ma, Q.H., Li, S.Y., Zhang, D.Q., Cong, L., Tian, Y.L., Yang, R.Y. (2016). The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49 (2), 182-188.
- Xu, B.J, Jia, X.Q, Gu, L.J., Sung, C.K. (2006). Review on the qualitative and quantitative analysis of the mycotoxin citrinin. *Food Control*, 17 (4), 271-285.
- <http://www.nanotech.com.tr/urunler/1/antimikrobiyal-teknolojiler> (Erişim tarihi: 01.12.2019) (http-1)
- <https://dilechem.com.tr/endustriyel-urun-uygulamalari/> (Erişim tarihi: 01.12.2019) (http-2)



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: İzel BAHADIR

Yabancı Dil: İngilizce

Doğum Yeri ve Yılı: Sinop / 1993

E-posta: [izelbahadir@gmail.com](mailto:izelbahadir@gmail.com)

### **Eğitim:**

- 2012, Sinop Atatürk Lisesi, Fen Bölümü
- 2017, Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoloji Anabilim Dalı,
- 2020, Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalı

### **Bilimsel Faaliyetler**

- Demirel, R., Uyar, S., Özdemir, L., Bilgi İ., Bahadır, İ., Ayva, F., Kadaifçiler, D. (2017). Determination of molds isolated from man-made water systems to produce primary and secondary metabolites. *1st International Eurasia Mycology Congress*'de sunulan sözlü bildiri. Manisa.
- Demirel, R. ve Bahadır, İ. (2017). Investigation On Antibacterial Activity Of Some Soil Borne Microfungi. *VII International Conference On Environmental, Industrial and Applied Microbiology*'de sunulan poster. Madrid.
- Demirel R., Bahadır İ., Sapan Z., Uysal O., Suvacı E. (2019). Tasarlanmış Micno®Zno Partiküllerinin Güneş Kremi Formülasyonlarındaki Mikrobiyolojik Etkinliği. *9. Kozmetik Kimyası, Üretimi Ve Standardizasyonu Kongresi*'nde sunulan poster. Antalya.
- Şahin İ., Gençoğlu P., Suvacı E., Şengün P., Kesim M.T., Kara A., Ürkmez A., Kurtuluş Y., Bahadır İ., Demirel R. (2019). Antibacterial Application Of Novel Micno-Hyg Particles of Traditional Ceramic Bodies. *XVI Ecers Conference*'de sunulan poster. Turin.