

**VİNİL PİRİDİN ESASLI POLİMERLERİN ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

MURAT ARSLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2012

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VİNİL PİRİDİN ESASLI POLİMERLERİN ANTİMİKROBİYAL
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Murat ARSLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. A. YASEMİN ÖZTOP

SİVAS-2012

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof. Dr. Ömer POYRAZ	_____
Üye	Prof. Dr. Dursun SARAYDIN	_____
Üye (Danışman)	Prof. Dr. A. Yasemin ÖZTOP	_____

ONAY

Bu Tez çalışması 06.02.2012 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ali Altuğ BIÇAKCI

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

Bu Tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 24.09.2008 tarihli ve 007 sayılı toplantısında kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisans Üstü Tez Yazım Kılavuzu adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

Bu alışma, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-441 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Çalışma sırasında bana destek olan sevgili eşime ve aileme...

ÖZET

VİNİL PİRİDİN ESASLI POLİMERLERİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Murat ARSLAN

Yüksek Lisans Tezi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof Dr. A. Yasemin ÖZTOP

2012, 55 Sayfa

Antimikrobiyal polimerler tıbbi aletler, sağlık ürünleri, su arıtma sistemleri ve gıda paketlenme gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Son günlerde, araştırmaların çoğu yeni antimikrobiyal polimerlerin sentezi ve biosidal etkinlikleri üzerine odaklanmıştır. Bu çalışmada, radyasyon tekniği ile sentezlenen çapraz bağlı p(AAm/4VP) ve kuaternerize türevi p(AAm/4VP-Q) kopolimerlerinin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *Candida albicans* (ATCC 10231) suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri tüp dilüsyon ve agar difüzyon tekniği ile incelendi. P(AAm/4VP) kopolimeri mikroorganizmaların hiçbirine karşı antimikrobiyal aktivite göstermedi. P(AAm/4VP-Q) polimeri ile yapılan tüp dilüsyon tekniği deneylerinde polimer bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken *C.albicans* polimerden etkilenmedi. P(AAm/4VP-Q) polimerinin minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri *E.coli* için $2,5 \text{ mg ml}^{-1}$, *S.aureus* ve *P.aeruginosa* için $7,5 \text{ mg ml}^{-1}$ olarak belirlendi. Öldürme zamanı deneylerinde p(AAm/VP-Q) polimeri ile 10 dakika temas süresi sonunda mikroorganizmalardan *E.coli*'nin %93'ü, *P.aeruginosa*'nın %96'sı ve *S.aureus*'un %98'i öldü. Polimer ile 180 dakika temas sonunda bakteri suşlarının tamamı öldü.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal polimer, p(AAm/4VP)

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL EFFECTS OF VINYL PYRIDINE BASED POLYMERS

Murat ARSLAN

Master Thesis, Department of Microbiology

Supervisor: Prof. Dr. A. Yasemin ÖZTOP

2012, 55 Pages

Antimicrobial polymers are used in various fields, such as medical devices, healthcare products, water purification systems and food packaging. So, most studies focused on the synthesis of new antimicrobial polymers and investigating of their biocidal activity. In this study, the antimicrobial activities of radiation synthesized p(AAm/4VP) and its quaternary derivative p(AAm/4VP-Q) crosslinked copolymers were investigated against *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Candida albicans* (ATCC 10231) by dilution methods and well diffusion method. The p(AAm/4VP) polymer did not affect on the test microorganisms. Microbicidal activity of p(AAm/4VP-Q) polymer against all of the bacterial strains was found whereas against *C. albicans* was not observed by dilution method. The minimum bactericidal concentration (MBC) values of p(AAm/VP-Q) 2.5 mg ml⁻¹ against *E. coli*, 7.5 mg ml⁻¹ against *S. aureus* and *P. aeruginosa*. In the time kill assay, p(AAm/VP-Q) killed 93% of *E. coli*, 96% *P. aeruginosa* and 98% *S. aureus* within 10 minute of contact at bactericidal concentrations of copolymer. Hundred percent of bacterial strains were killed this copolymer within 180 minutes of exposure time.

Key Words: Antimicrobial polymer, p(AAm/4VP)

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her türlü bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, beni yönlendiren danışman hocam sayın Prof. Dr. A. Yasemin ÖZTOP'a teşekkürlerimi sunarım.

Polimerlerin sentezlenmesindeki emeklerinden ve sentezlenen polimerleri çalışmamızda kullanmamızdaki katkılarından dolayı sayın Prof. Dr. Dursun SARAYDIN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerinden faydalandığım ve bu noktaya gelmemde emeği olan değerli hocalarıma,

Tez çalışmam boyunca iş yerimde bana destek olan Garanti Bankası Sivas merkez şubesindeki çalışma arkadaşlarım ve yöneticilerime,

Tüm öğrenim hayatım boyunca desteğini benden hiç esirgemeyen aileme ve tezin yazımı esnasında kendisini ihmal etmek durumunda kaldığım sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Canlıların Sınıflandırılması.....	3
2.1.1. Bakteriler.....	3
2.1.2. Mantarlar.....	6
2.2. Antimikrobiyal Maddeler İle İlgili Tanımlar.....	8
2.2.1. Mikrobiyosit.....	8
2.2.2. Sterilizasyon.....	8
2.2.3. Dezenfeksiyon.....	8
2.2.4. Septik.....	9
2.2.5. Antiseptik.....	9
2.2.6. Aseptik.....	9
2.2.7. Antibiyotik.....	9
2.3. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizmaları.....	9
2.3.1. Nükleik Asitlere Etki.....	9
2.3.2. Proteinlere Etki.....	9
2.3.3. Hücre Duvarı veya Zarına Etki.....	10
2.3.4. Serbest Sülfidril Gruplarına Etki.....	10
2.3.5. Kimyasal Antagonizma.....	10
2.4. Antimikrobiyal Etkili Kimyasal Maddeler.....	11
2.4.1. Alkoller.....	11
2.4.2. Aldehitler.....	11
2.4.3. Biguanitler.....	11
2.4.4. Bisfenoller.....	11

2.4.5. Halojen Serbestleştirici Maddeler	12
2.4.6. Ağır Metal Türevleri	12
2.4.7. Organik Asitler	12
2.4.8. Peroksitler	12
2.4.9. Fenoller	12
2.4.10. Kuaterner Amonyum Bileşikleri	12
2.4.11. Buhar Şeklinde Sterilizasyon Sağlayan Maddeler	13
2.5. Antimikrobiyal Etkinlik Belirleme Yöntemleri	13
2.5.1. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Değerinin Belirlenmesi	14
2.5.2. Öldürme Zamanı Testi (Time-kill)	14
2.5.3. Agar kuyucuk yöntemi	14
2.6. Polimerler	15
2.7. Hidrojeller	16
2.8. Polimerlerin Sentezinde Kullanılan Yöntemler	17
2.9. Polimerleşme Tepkimeleri	18
2.9.1. Kopolimerleşme	18
2.9.2. Polimerlerde Yan Grup Dönüşümü	19
2.10. Antimikrobiyal Polimerler	21
2.10.1. Antimikrobiyal Polimerlerin Kullanım Alanları	21
2.10.2. Antimikrobiyal Polimerlerin Sınıflandırılması	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. Kullanılan Cihazlar	26
3.2. Kullanılan Polimerler	26
3.2.1. Çapraz bağlı Akrilamid /4 Vinilpiridin Kopolimeri P(AAm4VP)	26
3.2.2. Çapraz bağlı Akrilamid/4Vinilpiridin Kuaterner amonyum tuzu P(AAm4VP-Q)	27

3.3. Kullanılan çözeltiler.....	28
3.3.1. McFarland 0,5	28
3.3.2. Mops (Sigma) çözeltisi	28
3.4. Kullanılan besiyerleri.....	28
3.4.1. Mueller Hinton Agar (Himedia)	28
3.4.2. Mueller Hinton Buyyonu (Himedia).....	29
3.4.3. Brain Heart İnfusion Agar (Himedia)	29
3.4.4. MOPS'lu RPMI besiyeri (Sigma RPMI 1640 glutaminli ve bikarbonatsız).....	29
3.4.5. Saboraud Dextrose Agar (Himedia).....	29
3.5. Kullanılan mikroorganizmalar	29
3.6. Polimerlerin mikroorganizmalar üzerindeki etkilerinin araştırılması.....	30
3.6.1. Mikroorganizmaların hazırlanması	30
3.6.2. Polimerlerin çalışmaya hazırlanması	30
3.6.3. Bakteriler için polimerlerin mikrobiyal bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerlerinin belirlenmesi.....	30
3.6.4. <i>C. albicans</i> için polimerlerin mikrobiyal bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerlerinin belirlenmesi.....	31
3.6.5. Öldürme zamanının belirlenmesi (Time kill deneyi)	31
3.6.6. Agar kuyucuk yönteminin uygulanışı.....	33
4. BULGULAR	34
4.1. Mikroorganizmalar için polimerlerin MBK değerleri	34
4.1.1. <i>S. aureus</i> için MBK değeri:	34
4.1.2. <i>E. coli</i> için MBK değeri:	34
4.1.3. <i>P. aeruginosa</i> için MBK değeri:	34
4.1.4. <i>C. albicans</i> için MBK değeri:	35
4.2. Öldürme zamanının belirlenmesi (Time kill deneyi).....	35

4.2.1. <i>S.aureus</i> 'la ilgili sonuçlar:	35
4.2.3. <i>P.aeruginosa</i> 'yla ilgili sonuçlar:	41
4.2.2. <i>E.coli</i> 'yle ilgili sonuçlar:	41
4.3. P(AAm/4VP-Q) polimerinin antibakteriyel etkinliği:	42
4.4. P(AAm/4VP-Q) polimerinin Bakterilere olan etkisinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi	42
4.5. Agar Kuyucuk Deneyi Sonucu	43
5. TARTIşMA	45
6. KAYNAKLAR	52

KISALTMALAR DİZİNİ

AAm/4VP	Akrilamid 4 vinil piridin
AAm/4VP-Q	Akrilamid 4 vinil piridin kuarterner amonyum tuzu
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MBK	Minimum bakterisidal konsantrasyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Vinil piridin, akrilamid ve p(AAm/4VP)' nin kimyasal şekilleri	27
Şekil 3.2 P(AAm/4VP), 2-benzilklorür ve p(AAm/4VP-Q)'nin kimyasal şekilleri ..	27
Şekil 3.3 P(AAm/4VP-Q), P(AAm/4VP) polimerlerinin şişirilmemiş görüntüsü.....	28
Şekil 3.4 P(AAm/4VP) ve p(aAm/4VP-Q) polimerlerinin şişirilmiş görüntüsü	30
Şekil 4.1 P(AAm/4VP-Q) kopolimerinin <i>S.aureus</i> ve <i>P.aeruginosa</i> suşlarını öldürme zamanı eğrisi	40
Şekil 4.2 P(AAm/4VP-Q) polimerinin <i>E. coli</i> suşunu öldürme zamanı eğrisi	40
Şekil 4.3 P(AAm/4VP-Q) polimerinin <i>S.aureus</i> ve <i>P.aeruginosa</i> suşlarına karşı antibakteriyel etkinliği	43
Şekil 4.4 P(AAm/4VP-Q) polimerinin <i>E. coli</i> suşuna karşı antibakteriyel etkinliği .	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4. 1 <i>S.aureus</i> (ATCC 25922) suşuna P(AAm/ 4VP-Q) polimerinin zamana göre etkisi.....	37
Çizelge 4.2 <i>E.coli</i> (ATCC 25922) suşuna P(AAm/ 4VP-Q) polimerinin zamana göre etkisi.....	38
Çizelge 4.3 <i>P.aeruginosa</i> (ATCC 27853) suşuna P(AAm/ 4VP-Q) polimerinin zamana göre etkisi.....	39

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünyanın her yerinde görülen insan yaşamını tehdit eden infeksiyonlar nedeniyle mikroorganizmaların güvenli yöntemlerle ortadan kaldırılması çok önemlidir. Çeşitli cansız ortamların sterilizasyon ve dezenfeksiyonunda, canlı yüzeylerin antiseptisinde kimyasal maddeler kullanılmaktadır. En yaygın olarak kullanılan kimyasal maddeler arasında, klor ve klor bileşikleri, peroksitler, gümüş, bakır, cıva, formaldehit, klorheksidin ve kuaterner amonyum bileşikleri sayılabilir (1). Kullanılan bu moleküllerin kalıntılarının toksik olması ve etkilerinin kısa süreli olması nedeniyle daha zararsız polimerlerin sentezlenmesi gündeme gelmiş ve antimikrobiyal özellikte polimerlerin geliştirilme çalışmaları artmıştır (2).

Antimikrobiyal polimerlerin kullanım alanları oldukça geniştir. Bu polimerler, çevre kirliliğinin giderilmesinde, suların dezenfeksiyonunda, tıbbi alanlarda; kontakt lens, biyosensör membranları ve yapay organ oluşturmada, yiyeceklerin ambalajlanarak korunmasında, tekstil ürünlerin üretilmesinde, boya sanayisinde, kağıt sektöründe hızla yer almaktadırlar (3).

Antimikrobiyal polimerlerin uçucu olmamaları, kimyasal olarak stabil olmaları, deri yolundan penetre olmamaları gibi olumlu özellikleri vardır. İdeal bir antimikrobiyal polimerin kolay, ucuz sentezlenmesi, uzun süreli kullanımda stabil olması, sıvı ortamda kullanılacaksa suda çözünmemesi, ayrışmaması, ortama toksik ürünler bırakmaması, geniş spektrumlu etkisinin olması gerekir (3).

Çok sayıda monomer birimlerin bir araya gelmesiyle polimer zincirleri elde edilir. Polimerler düz zincirli olabileceği gibi dallanmış yapıda da olabilir. Bu yan dallar başka bir ana zincire bağlandığında çapraz bağlı polimerler oluşur (4). Kuaternizasyon polimerlerdeki yan grup dönüşümleridir. 4-Vinil piridin gibi monomerlerden oluşan homopolimerlerde ana zincire bağlı azot atomları kuaternize edilerek artı yüklü poli atomik iyonlara dönüştürülebilir. Kuaterner amonyum tuzları veya kuaterner amonyum bileşikleri bir anyonla kuaterner amonyum katyonlarının oluşturduğu yapılardır (5). 4-vinil-piridin (4-VP) bulunduğu ortama bağlı olarak amfoterik bir yapıya sahiptir, hem hidrofilik hem hidrofobik özellik gösterir. Piridin

halkasındaki azot atomuna bağlı olarak pozitif yükü değişebilir ve bu özellikleriyle çok ilginç bir moleküldür (6).

Polimerlerin mol kütlesi, içerdiği kimyasal gruplar, hidrofobik veya hidrofilik özellikleri antimikrobiyal özelliklerini etkiler. Antimikrobiyal etkili olması için sentezlenen her polimer istenilen sonucu vermeyebilir. Günümüzde oldukça fazla sayıda polimer sentezlenmekte fakat bunlardan bazılarının antimikrobiyal etkinlikleri bulunmaktadır (4).

Bu çalışmada radyasyon tekniğiyle yeni sentezlenmiş olan çapraz bağlı akrilamid/4vinil piridin kopolimeri p(AAm/4VP) ve akrilamid/4vinil piridin kopolimerinin aromatik kuarterner amonyum tuzunun p(AAm/4VP-Q) antimikrobiyal etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızla, vinil piridin esaslı bu polimerlerin çeşitli alanlarda antimikrobiyal işlevli olarak kullanılabilirlik özelliği ortaya çıkarılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Canlıların Sınıflandırılması

On yıl öncesine kadar, canlılar beş ana grup ya da aleme ayrılmıştı. Ancak, moleküler yöntemlerin gelişmesiyle, organizmaların DNA' larını karşılaştırma olanağı bulunarak alemlerin sayı ve sınırlarının yeniden değerlendirilmesi sağlanmıştır. Günümüzde çeşitli sınıflandırma şemaları altı, sekiz ya da daha fazla alemler temel alabilmektedir. Alem düzeyi konusundaki tartışmalar sürmekle birlikte, canlı alemlerinin, bir üst sınıflandırma düzeyi olan üç domeyne dahil edilebileceği konusunda geniş bir fikir birliği vardır. Bu üç domeyn; Bakteriler (Bakteria), Arkeler (Archaea) ve Ökaryalar'dır (Eukarya) İlk iki domeyn olan bakteriler ve arkeler prokaryotik hücre yapısına sahip, çok farklı iki organizma grubunu içine alır (7).

Daha önce Schizomycetes adı altında bitkiler aleminin bir sınıfı olarak incelenen bakteriler, Eubacteria, Cyanobacteria ve Archaeobacteria olmak üzere başlıca üç canlı grubunu kapsamaktaydı. Bunların ortak özellikleri ise prokaryotik hücre yapısına sahip olmalarıydı. Günümüze kadar bu canlı grupları üzerinde gerçekleştirilen moleküler düzeydeki araştırmalar, özellikle 16S rRNA'larının karşılaştırılması bu canlıların Bacteria ve Archaea olarak iki ayrı domeynde toplanmaları gerektiğini ortaya koymuştur (7,8).

2.1.1. Bakteriler

Bakteriler prokaryotik hücre yapısına sahiptirler. Hücrelerinde; hücre duvarı, sitoplazmik membran, nükleoid, ribozomlar, mezozomlar ve çeşitli granüller bulunur. En belirgin özelliklerinden biri belirgin bir zarla çevrili çekirdeklerinin olmamasıdır (9).

Bakteriler; yuvarlak (kok), çomakçık (basil) ve sarmal biçimli olmak üzere üç şekilde bulunurlar. Koklar 0.5-1.5 μm boyutlarında olabilirler. Basiller çomak şeklinde uçları yuvarlak, sivri veya künt olabilir ve boyları ortalama 1-8 μm 'dir. Spiral bakteriler virgüle benzer yapıda, tek kıvrımlı sarmal şekilde ve birden fazla kıvrımlı spiral şekillerde olabilirler. Bunların dışında bazı bakteriler filamentöz (dallı) veya pleomorfik yapıda bulunabilirler (1).

Bakteriler gram boyama yöntemiyle gram pozitif ve gram negatif olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Hücre duvar yapılarının farklı olması nedeniyle gram pozitif bakteriler gram boyamayla mora, gram negatifler ise pembeye boyanırlar (1).

Bakterilerin hücre duvarı yapıları

Hücre duvarı bakteriye şeklini veren, dayanıklı ve kompleks bir yapıdır. Hücre duvarının öncelikli görevi hücreye dış etkenlere karşı dayanıklılık sağlamaktır. Bakterilerin hücre duvarlarının büyük bir kısmını peptidoglikan denilen bir polisakkarit oluşturmaktadır. Peptidoglikan, N-asetilmuramik asit ve N-asetilglukozamin denilen iki şeker türevinden oluşan ince bir tabakadır. Bu tabaka aynı zamanda L-alanin, D-alanin, D-glutamik asit veya lizin ya da diaminopimelik asit (DAP) gibi birkaç tür aminoasit içermektedir. Peptidoglikan tabakasında aminoasitler oluşturulan peptid çapraz bağlarıyla şekerlerin oluşturduğu glikan zincirlerine bağlanırlar. Peptidoglikanın dayanıklılığı glikan zincirlerinin aminoasitler tarafından çapraz bağlanmasıyla oluşur (8,10).

Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yapısı

Gram pozitif bakterilerde hücre duvarı 15-20 nm kalınlığındadır. Hücre duvarının % 90'ı peptidoglikandan oluşmaktadır (11). Bir çok gram pozitif bakteri hücre duvarına gömülü durumda teikoik asit denilen asidik yapıları içermektedir. Teikoik asit molekülleri peptidoglikanın yapısında bulunan muramik asit ünitelerine kovalent bağlarla bağlanmıştır. Negatif yüklü oldukları için tüm hücre yüzeyinin negatif olmasını sağlarlar ve hücre çeperinden iyonların geçişinde etkili olabilirler (7,8).

Gram negatif bakterilerin hücre duvarı yapısı

Gram negatif hücre duvarı gram-pozitif hücre duvarına göre daha kompleks bir yapıya sahiptir. Gram negatif bakterilerde hücre duvarının yalnızca % 10'luk kısmını peptidoglikan oluşturmaktadır. Peptidoglikana ek olarak, gram-negatif bakteriler lipopolisakkaritten yapılmış ek bir dış membran tabakasına sahiptir. Bu tabaka ikinci bir lipid bilayer tabakası olarak düşünülebilir fakat bu tabaka sitoplazmik membranda olduğu gibi sadece fosfolipidlerden oluşmaz. Aynı zamanda polisakkarit

ve protein de içerir. Lipid ve polisakkaritler, lipopolisakkarit yapıyı oluşturmak üzere dış tabakaya bağlanırlar. Lipopolisakkaritin varlığından dolayı, bu dış tabakaya lipopolisakkarit tabakası ya da kısaca LPS denir (10,11).

Staphylococcus aureus

Yaklaşık olarak 0,8 µm çapında, sporsuz, hareketsiz, kapsülsüz, katalaz pozitif gram pozitif koklardır. Yüksek tuz konsantrasyonuna ve kuruluğa karşı oldukça dirençlidir (10). Başta burun mukozası olmak üzere nazofarinks, deri ve daha az olmak üzere bağırsak ve diğer mukozaların normal florasında bulunur. *S.aureus* rutin kullanılan birçok besiyerinde rahatlıkla ürer, karbohidratları fermente ederler ve beyazdan koyu sarıya kadar değişen renklerde pigmentler üretebilirler. Katı besiyerindeki kolonileri yuvarlak, düzgün, bombeli ve parlaktır. İnsanlarda endojen ve eksojen kaynaklı çok çeşitli enfeksiyonların yanı sıra besin zehirlenmeleri, irinli apseler ve sepsislere varacak kadar çeşitli hastalıklar oluşturabilir. (12).

Escherichia coli

Genellikle hareketli, şekerleri asit ve gaz oluşturarak parçalayan ayrıca laktoz ve mannitol'ü ayrıştırabilen gram negatif bakterilerdir. IMVIC testleri sonuçlarına göre İndol ve metil kırmızısı pozitif, Voges proskauer ve sitrat negatiftir. Yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1,0 -1,5 µm eninde kokobasillerdir (13).

Escherichia cinsi, insanların ve sıcakkanlı hayvanların bağırsak sisteminde yaygın olarak bulunur. Özellikle K vitamini sentezi olmak üzere intestinal sistemde önemli rolleri olabilir. Buna rağmen bazı *Escherichia* türleri patojeniktir. Genellikle diyare etkenidir ve gelişmekte olan ülkelerde önemli sağlık problemleri oluşturabilir (10). *E.coli* idrar yolu enfeksiyonlarının en sık etkenidir ve genç kadınlardaki idrar yolu enfeksiyonlarının ortalama % 90'ından sorumludur. İshal oluşturan *E.coli* suşları da tüm dünyada çok yaygındır. Bu *E.coli* suşları içerdikleri virulans özellikleri ile sınıflandırılır ve her grup değişik bir mekanizma ile hastalık oluşturmaktadır. Virulans özelliklerine göre bunlar enteropatojenik *E.coli* (EPEC), enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), enterohemorajik *E.coli* (EHEC), enteroinvaziv *E.coli* (EIEC) ve enteroagregatif *E.coli* (EAEC) olmak üzere beş sınıf altında toplanırlar (12).

Pseudomonas aeruginosa

1,5 – 3,0 µm uzunluğunda ve 0,5 µm genişliğinde kapsülsüz, sporsuz, hareketli, aerop çomaklardır. İnsanlarda normal bağırsak florasında ve deride az sayıda bulunur. Bu tür *Pseudomonas* cinsinin en önemli patojenidir. Bir çok besiyerinde kolayca ürer, bazen tatlı ya da üzüm benzeri veya mısır cipsi benzeri koku oluşturur. Çoğunlukla agar içine difüze olan, floresan olmayan mavimsi piyosiyanın pigmenti üretir. *P.aeruginosa*'nın bir çok suşu aynı zamanda agara yeşilimsi renk veren, floresan bir pigment olan piyoverdin üretirler. Gram negatif boyanma özelliği gösterirler. Oksidaz pozitifdir. Karbohidratları fermente etmez, bununla birlikte birçok suş glikozu okside etmektedir. Doğada yaygın olarak bulunan bir bakteri olduğu için, organik maddeler içinde ve sulara uzun süre canlı kalabilirler. *P.aeruginosa* insanlarda solunum sistemi ve üriner sistem kanallarında enfeksiyona yol açar. Daha ziyade yanık ve diğer travmatik deri hasarlarında ve kistik fibrozisli insanlarda enfeksiyonlara neden olur. *P.aeruginosa* yaygın kullanılan çoğu antibiyotiğe karşı dirençlidir ve bu yüzden oluşturduğu enfeksiyonların sağaltımı güçtür. Hastanelerde yaygın olarak bulunur ve nozokomiyal enfeksiyonlardan da sorumlu önemli bir bakteri türüdür (12,14).

2.1.2. Mantarlar

Mantarlar ökaryotik canlılardır. Ökaryotlar prokaryotların aksine zarla çevrili organellere sahiplerdir ve prokaryotlardan yapısal olarak çok daha karmaşıklardır. En belirgin özellikleri, genetik materyallerinin çift tabakalı bir zarla çevrili olması ve nükleus denilen organelle sahip olmalarıdır. Mantarlar mayalar ve küfler olmak üzere iki temel şekilde bulunurlar. Çok hücreli filamentöz kolonilerin oluşması ile küf şeklinde üreme sağlanır. Bu koloniler hif adı verilen, 2-10 µm çaplı dallanmış silindir şeklinde tübüllerden oluşmuştur. Aktif üreme esnasında birbiri içine girmiş hiflerden oluşan yapıya miçelyum denir. Mayalar değişik şekil ve çaplarda olabilen tek hücreli mantarlardır. Çoğu maya tomurcuklanarak ürer. Bazı tomurcuklar kopmadan uzarlar; bu işlemin devam etmesiyle, uzamış maya hücrelerinden oluşan zincire yalancı hif adı verilir (12). Bazı mantarlar ise dimorfizm ya da çift evreli özellik gösterirler. Bu mantarlar hem hif şeklinde çok hücreli olarak hem de maya şeklinde tek hücreli olarak üreyebilirler. Makroskobik görünüşleri de üredikleri evreye göre küf ya da

maya kolonilerine benzer. Bu çift evreli durum pek çok şekilde gözlenebilmekte olup genellikle sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Bazı mantarlar doğada küf şeklinde saprofit olarak, insan vücudunda ise maya şeklinde bulunurlar (15).

Mantarların hücre duvar yapısı

Mantarların hücre duvarları hücreyi osmotik basınç değişiklikleri ve diğer çevresel streslerden koruyan dinamik bir yapıdır. Mantar hücre duvarının yapısı ve biyosentezi mantarlara özgüdür ve bu nedenle antifungal ilaçların geliştirilmesi için mükemmel bir hedeftir. Mantarların çoğunun hücre çeperinde bir glukoz türevi olan kitin ve N-asetilglukozamin bulunur. Kitin hücre çeperinde, bitki hücrelerinde olduğu gibi mikrofibriler yığınlar halinde düzenlenmiştir. Bazı mantar hücre duvarında ise kitin yerine mannanlar, galaktozanlar ve kitosanlar bulunmaktadır. Gram boyama yöntemi ile boyandıklarında gram pozitif özellik gösteren bakteriler gibi mora boyanırlar ancak bakteriler gibi gram özellik göstermezler (16).

Candida albicans

Tek hücreli küresel ya da oval yapıda 3-6 µm boyutlarında tomurcuklanarak üreyen mikroorganizmalardır. Tomurcuklar uzayıp ana hücreden kopmadığı zaman yalancı hifler oluştururlar. *C.albicans* diğer türlerden farklı olarak dimorfiktir. Maya hücresi ve yalancı hiflere ek olarak gerçek hiflerde oluşturabilir. *Candida* türleri, katı besi yerinde oda sıcaklığında veya 37°C'de 24 saatte, maya kokusu oluşturan yumuşak krem rengi koloniler oluşturur. *C.albicans*'ı diğer türlerden ayırt edecek iki basit morfolojik test germ tüp testi ve klamidospor oluşumudur. Serumda 37°C'de 90 dakikalık inkübasyondan sonra *C.albicans* hücreleri gerçek hif veya germ tüp oluşturur ve besin açısından yetersiz ortamlarda büyük küresel klamidospor oluşturur. *C.albicans* deri ve müköz membranlar ve gastrointestinal sistemin normal flora elemanlarından. Doğum esnasında ya da doğumdan hemen sonra mukozalarda kolonize olur ve endojen enfeksiyon riski her zaman vardır. Kandidaların neden olduğu enfeksiyonlara kandidoz denir (12). Kandidozlar yüzeysel ve sistemik kandidozlar olmak üzere iki grup altında incelenirler. Yüzeysel kandidozlarda etken deri ve mukozadaki çatlaklardan yalancı hifleri ile doku içerisine girer. Deri ve mukoza içinde çoğalarak yüzeysel enfeksiyon oluştururlar.

Sistemik kandidozda ise etken herhangi bir kolonizasyon odağından hematogen yayılım sonucu çeşitli organ ve dokulara ulaşarak enfeksiyon oluşturur (15).

2.2. Antimikrobiyal Maddeler İle İlgili Tanımlar

2.2.1. Mikrobiyosit

Mikroorganizmaları öldüren, geniş etkinlik alanı bulunan kimyasal maddeleri tanımlayan genel bir terimdir. Mikrobiyositler antiseptik, dezenfektan ya da koruyucu özellikte olabilirler. Mikrobiyositlerin mikroorganizmalara karşı etkisi

Dış fiziksel çevre,

Mikroorganizmanın doğası, yapısı, bileşimi ve durumu,

Mikroorganizmanın mikrobiyositi bozma ve etkinliğini ortadan kaldırma yeteneğine bağlıdır.

Bakterilerin çoğalmasını baskılama yeteneğindeki maddeler bakteriyostatik olarak adlandırılırlar. Bakteriyostatik özellikteki maddenin ortamdan uzaklaştırıldığında bakterilerin çoğalması devam edebilir (12).

Bakterileri öldürme yeteneğindeki maddelere bakteriyosit adı verilir. Bakteriyosit etki geri dönüşümsüz olmasıyla bakteriyostatik etkiden ayrılır. Bakterisit özellikteki mikrobiyosit ortamdan uzaklaştırılsa bile bakteriler öldüğü için tekrar çoğalamazlar (12).

2.2.2. Sterilizasyon

Mikroorganizmaların vejetatif ve spor şekillerinin fiziksel veya kimyasal yöntemlerle öldürülme yöntemidir (1).

2.2.3. Dezenfeksiyon

Bir cisim veya maddenin patojen mikroorganizmalardan arındırılması işlemidir (1). Cansız cisim ya da yüzeylere kullanılan ve mikroorganizmaları öldüren maddelere dezenfektan denir (10).

2.2.4. Septik

Canlı dokuda hastalık yapıcı mikroorganizmaların varlığını tanımlar (12).

2.2.5. Antiseptik

Yaşayan doku üzerinde ya da içinde mikroorganizmaları yok eden ya da üremelerini baskılayan maddelerdir (12).

2.2.6. Aseptik

Hastalık yapıcı mikroorganizmaların bulunmadığını tanımlar (12).

2.2.7. Antibiyotik

Genellikle düşük yoğunluklarıyla belli bakterileri baskılayan ya da yok eden doğal ya da sentetik organik bileşiklerdir (12).

2.3. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizmaları

2.3.1. Nükleik Asitlere Etki

Bazı fiziksel ya da kimyasal maddeler etkilerini DNA hasarı ile gösterirler. Bu grupta iyonlaştırıcı radyasyon, morötesi ışık ve DNA'ya etkili kimyasallar yer almaktadır. Kimyasallar arasında alkilleyici maddeler ve diğer bileşikler, pürin ve pirimidin bazlarına sıkı bağlar yaparak DNA yapışmalarına ve zincirler arası çapraz bağlar oluşmasına neden olurlar. Radyasyon DNA'ya birkaç yoldan hasar verir. Örneğin, morötesi ışık bir ya da iki zincirde komşu pirimidin bazları arasında çapraz bağlar oluşturarak pirimidin dimerleri oluşmasına neden olur. İyonlaştırıcı radyasyon ise tek ya da çift zincirde zincir kesilmeleri oluşturur. Radyasyon ya da kimyasal kaynaklı olarak oluşan DNA hasarları, hücrede DNA kopyalanmasını etkileyerek ölüme neden olur (11,12).

2.3.2. Proteinlere Etki

Proteinler, molekül içi sıkı disülfid bağları ya da iyonik etkileşimler, hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağları gibi zayıf bağlar nedeniyle katlanmış ve üç boyutlu şekildedirler. Bu duruma proteinlerin tersiyer yapısı denir. Bu yapı çeşitli fiziksel ve

kimyasal maddelerle kolayca bozularak protein işlevsiz hale getirilebilir. Proteinin tersiyer yapısının hasara uğratılmasına protein doğasını bozma denir (11,12).

2.3.3. Hücre Duvarı veya Zarına Etki

Bakterilerde hücre zarı bazı maddeleri geçiren, bazılarını geçirmeyen seçici bir engel oluşturmaktadır. Bazı maddeler zardan etkin olarak taşınarak içeride yoğunlaşırlar. Zar aynı zamanda hücre zarı öğelerinin üretiminde rol alan enzimleri de bulundurur. Hücre yüzeyinde biriken maddeler zarın fiziksel ve kimyasal özelliklerini bozarak normal işlevini engelleyebilirler ve böylece hücrenin ölmesine ya da baskılanmasına neden olurlar (12).

Hücre duvarı hücreyi ozmoz parçalanmasına karşı koruyan sert bir katmandır. Dolayısıyla duvara hasar veren ya da duvarın sentezini engelleyen maddeler hücrenin parçalanmasına neden olurlar (10,12).

2.3.4. Serbest Sülfidril Gruplarına Etki

Enzim özelliğinde olan ve sistein içeren proteinler sülfidril gruplarıyla son bulan yan zincirlere sahiptirler. Ayrıca koenzim A ve dihidrolipoat gibi koenzimler serbest sülfidril grupları taşırlar. Böyle enzim ve koenzimler, sülfidril grupları serbest ve indirgenmiş olmazsa işlev görmezler. Oksitleyici maddeler, komşu sülfidril grupları arasında disülfid bağları oluşturarak metabolizmayı bozarlar. Hücrede birçok sülfidril enzimi bulunduğu için oksitleyici maddeler ve metaller yaygın hasara neden olurlar (12).

2.3.5. Kimyasal Antagonizma

Özgül bir enzim ve substratı arasındaki normal tepkimenin kimyasal bir madde tarafından bozulmasına kimyasal antagonizma denir. Kimyasal madde holoenzimin bir parçası ile birleşerek substratın bağlanmasını engeller. Antagonizma yapan kimyasal madde, enzimin etkin bölgesine kimyasal afinite gösterdiği için bağlanır. Enzim, işlevini doğal substratına afinite göstererek yerine getirmektedir. Dolayısıyla substrata yapısal ana hatlarıyla benzeyen herhangi bir bileşik enzime afinite gösterebilir. Birçok holoenzim, enzimle koenzim arasında ya da enzimle substratı arasında köprüler oluşturan mineral iyonu taşır. Bu minerallere kolayca bağlanan

kimyasallar da koenzim ya da substrat bağlanmasını engelleyebilir. Örneğin karbon monoksit ve siyanür, hem içeren enzimlerde demir iyonuna bağlanarak solunumdaki işlevlerini engellerler (12).

2.4. Antimikrobiyal Etkili Kimyasal Maddeler

2.4.1. Alkoller

Etil alkol, izopropil alkol ve *n*-propanol, vejetatif bakterileri virüsler ve mantarlar üzerine hızlı ve geniş etki gösterirler, ancak sporlara karşı etkisizdirler. Etkilerini en iyi %60-90 yoğunlukta sulandırıldıklarında gösterirler (12).

Deri antisepsisi için etil alkol sık olarak kullanılır. Mutlak alkolün mikrop öldürme etkisi az olduğu gibi % 50'den daha sulu olan alkolün etkisi daha azdır. Hacimca % 77 yoğunlukta olan alkol antimikrobiyal etkinlik bakımından en etkin konsantrasyondur. Deri antisepsisi için % 70 yoğunluk uygundur (11).

2.4.2. Aldehitler

Glutaraldehit, endoskopların ve cerrahi araçların düşük sıcaklıkta dezenfeksiyonu ve sterilizasyonu amacıyla kullanılır. Glutaraldehit, sporları öldürücü etki için genellikle %2 yoğunlukta kullanılır. Formaldehit, bakteri, spor ve virüsleri öldürücü etkiye sahiptir (12).

2.4.3. Biguanitler

Klorhekzidin, el yıkama ve ağza uygulanan ürünlerde dezenfektan ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. Mikobakteriler bu maddeye karşı yüksek derecede direnç gösterirler (12).

2.4.4. Bisfenoller

Bisfenoller, antiseptik sabun ve el yıkama ürünlerinde yaygın kullanıma sahiptir. Genel olarak etki alanları geniş olsa da *Pseudomonas aeruginosa* ve küflere etkisizdirler. Triklosan ve heksaklorofen, bakteri ve sporları öldürür (12).

2.4.5. Halojen Serbestleştirici Maddeler

Klor serbestleştirici maddelerden en önemlileri sodyum hipoklorit, klor dioksit ve sodyum dikloroizosiyanurattır. Bunlar proteinleri oksitleyerek hücresel etkinliklerini yok ederler. Bu bileşiklerin bakteri ve virüsleri öldürücü etkisi, aktif bileşik olan hipoklorik asit tarafından oluşturulur. Yüksek yoğunlukta kullanıldıklarında sporlara öldürücü etkileri vardır. İyot, bakteriler, mantarlar, tüberküloz bakterileri, virüsler ve sporlar üzerine hızla etki eder. İyot ve çözücü madde ya da taşıyıcının birlikte bulunduğu iyodoforlar etkin I₂ deposu olarak görev yaparlar (12).

2.4.6. Ağır Metal Türevleri

İki ayrı antibakteriyel madde olan Ag⁺ ve sülfadiazinin birleşiminden oluşan gümüş sülfadizin, geniş etki alanına sahiptir. DNA gibi hücre öğelerine bağlanarak baskılayıcı etkisini gösteriyor olabilir (12).

2.4.7. Organik Asitler

Organik asitler ilaç ve gıda endüstrisinde koruyucu olarak kullanılırlar. Benzoik asit fungustatik, propiyonik asit bakteriyostatik ve fungustatik etkiye sahiptir (12).

2.4.8. Peroksitler

Hidrojen peroksitin (H₂O₂) virüsler, bakteriler, mayalar ve bakteri sporları üzerine geniş etkinliği vardır. Spor öldürücü etki için daha yüksek yoğunlukta (% 10-30) ve daha uzun temas süreleriyle kullanılması gerekir (12).

2.4.9. Fenoller

Fenol ve birçok fenollü bileşiğin antiseptik, dezenfektan ya da koruyucu etkileri vardır (12).

2.4.10. Kuaterner Amonyum Bileşikleri

Bu bileşikler moleküler yapılarında hidrofobik grup ve hidrofilik grup olmak üzere iki bölge taşırlar. Bu bileşikler çok çeşitli klinik amaçlarla (ameliyat öncesi sağlam derinin antisepsisi gibi) ve sert yüzey temizliğinde kullanılırlar. Sporostatik etkileri

vardır. Bu bileşikler aynı zamanda mikobakteriyostatiktirler. Kılıflı virüslere etkileri vardır. Kılıfsız virüsleri etkilemezler (12).

2.4.11. Buhar Şeklinde Sterilizasyon Sağlayan Maddeler

Sıcaklığa duyarlı tıbbi cihazlar ve cerrahi malzemenin etkili sterilizasyonu için etilen oksit, formaldehit, hidrojen peroksit ya da parasetik asit, buharlaştırma sistemleri içinde kullanılırlar (12).

2.5. Antimikrobiyal Etkinlik Belirleme Yöntemleri

Antimikrobiyal etkinlik, test organizmalarının üremesini inhibe edecek antimikrobiyal maddenin en düşük konsantrasyonunu belirlenmesi ile ölçülür. Bu değere minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) denir. Standart sayıda bir bakteri topluluğu, iki katı sulandırılmalar şeklinde değişen yoğunluklarda antimikrobiyal etkenle karşılaştırılır. Tüpler uygun süre inkübasyona kaldırılır. İnkübasyon sonunda gözle görülür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobiyal etken konsantrasyonuna MIK denir ve $g\ ml^{-1}$ şeklinde ifade edilir. Bulanıklık gözlenmeyen tüplerden 100 μ L alınarak agar plaklarına ekilir ve plaklar inkübasyona kaldırılır. İnkübasyon sonunda hiç üreme olmayan plaktaki antimikrobiyal madde konsantrasyonu ise minimal bakterisidal konsantrasyon (MBK) olarak adlandırılır. Bu teknik *tüp dilüsyon tekniği* olarak bilinir (1,10,11).

Antimikrobiyal etkinin belirlenme yöntemlerinden diğeri *disk difüzyon tekniği* dir. Agarlı besi yeri içeren bir petri kabına test edilecek mikroorganizmanın kültüründen inokule edilir. Bilinen miktarlarda antimikrobiyal madde emdirilmiş kağıt diskler agar yüzeyine yerleştirilir. Agar plakları inkübasyona kaldırılır. İnkübasyon boyunca antimikrobiyal maddeler disklerden agara diffüze olur. Diskten başlayarak dışarıya doğru mikrobiyal üreme olmayan açık renkli bölgeler oluşur. Bu bölgelere inhibisyon zonu denir. Bu alanların çapı ölçülerek her antimikrobiyal madde için farklı olabilen duyarlılık sınırı değerleriyle karşılaştırılır. İnhibisyon zonunun büyüklüğüne göre duyarlı, orta derecede duyarlı ve dirençli şeklinde duyarlılık kapasitesi belirlenir (10,11).

2.5.1. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Değerinin Belirlenmesi

MBK değerinin belirlenmesi için çeşitli konsantrasyonlarda antimikrobiyal bir madde ve eşit sayıda etki edeceği mikroorganizmayı içeren bir seri kültür tüpü hazırlanır. Bir seri kültür tüpü de standart bir antimikrobiyal maddeyi ve mikroorganizmaları içerecek Şekilde hazırlanır ve tüpler inkübasyona kaldırılır. İnkübasyondan sonra tüpler mikrobiyal üremeyi iŐaret eden gözle görülebilir bir bulanıklığın varlığı açısından kontrol edilir. Bu tekniğe tp dilüsyon tekniği adı verilir. Bulanıklık oluŐmayan ilk tüpten itibaren agar plaklarına ekimler yapılır ve plaklar 37° C’de bir gece inkübe edilir. İnkübasyon sonunda incelenen plaklarda hiç üreme olmayan ya da en fazla 10 koloni oluŐturacak düzeyde üreme gösteren plaklar belirlenir ve bu plağa ekim yapılan tüpteki antimikrobiyal madde konsantrasyonu o maddenin o mikroorganizma zerindeki MBK konsantrasyonunu gösterir (10,11).

2.5.2. ldrme Zamanı Testi (Time-kill)

Antimikrobiyal bir maddenin bakterisidal etkinliği in vitro time-kill yöntemiyle de değerlendirilebilir. Test edilecek bakteri, antimikrobiyal maddenin belirli bir konsantrasyonunu içeren sıvı besiyerleri içinde 35°C’de bekletilir. Belirli zaman aralıklarında bu tüplerden alınan örnekler katı besiyerine ekilerek inkübasyona kaldırılır. İnkübasyon sonunda katı besiyerlerinde üreyen koloniler sayılarak kontrol tüpünde üreyen bakteri sayısı ile karşılaştırılır. Antimikrobiyal madde bulunan tüplerdeki bakteri sayısının üreme kontrol tüpündeki bakteri sayısından log₁₀ tabanına göre 3 veya daha fazla azalması denenen antimikrobiyal maddenin yeterli düzeyde bakterisidal etkiye sahip olduğunu gösterir. Bu yöntem sadece araŐtırmalarda uygulanır (17).

2.5.3. Agar kuyucuk yöntemi

Suda ya da diğer çözücülerde çözünmeyen test polimerlerine uygulanan bir yöntemdir. Uygun besiyeri hazırlanarak otoklavda steril edildikten sonra 45°C’ye kadar soğutulur her birine 13,5 ml besiyeri olacak Şekilde steril tüplere dağıtılır. Tüpler 45°C’deki sıcak su banyosunda tutulur. Standart bakteri suŐunun 24 saatlik buyyon kültürü 1/1000 oranında sulandırılır. Bu sulandırım yaklaşık olarak 10⁶ cfu ml⁻¹ bakteri içerir. Bu süspansiyondan 1,5 ml hazırlanan her bir türe aktarılır ve

tüplerdeki toplam hacim 15 ml ulaşmış olur. Test edilen bakteri süspansiyonu sulandırılarak plaklarda son durumda 10^5 cfu ml⁻¹ sayıya ulaşmış olur. Tüpler iyice karıştırılır ve petri kaplarına dökülür. Besiyerleri donduktan sonra agar üzerine uygun bir malzeme ile 4 – 5 mm çapında çukurlar açılır. Her kuyucuk uygun miktarda test polimeri ile doldurulur. Bütün plaklar uygun sıcaklıkta ve uygun süre inkübasyona kaldırılır. Bakteriler için 24 saat sonra ve funguslar için 72 saat sonra inhibisyon zon çapları ölçülür (18).

2.6. Polimerler

Polimer, küçük, yapısal yinelenen birimlerin oluşturduğu uzun zincirli moleküllerdir. Bu moleküller birbirinin aynısı veya benzeri yapıtaşlarının kovalent bağlarla bağlanmalarıyla oluşurlar. Polimerleri oluşturan küçük moleküllere monomer denir (7). Monomerler polimer sentezine başlarken kullanılan küçük mol kütleli birimlerdir (4). Monomerler birbirlerine kovalent bağlarla bağlanarak büyük moleküller oluşturabilen küçük mol kütleli kimyasal maddeler olarak da adlandırılabilir (2).

Polimerik maddeler özelliklerinin sıra dışı olmasından dolayı günlük hayatta çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (2). Nişasta, selüloz, doğal kauçuk, kitin, kitosan ve DNA (deoksiribonükleik asit) doğal polimerler grubuna girer. Günümüzde çok sayıda sentetik polimer de bulunur. Bunlara örnek olarak plastik, elastomer, PVC, naylon ve polietilen verilebilir (4).

Genellikle monomerler, karbon ve hidrojen atomlarından oluşurlar ve bu durumda polimer yapısı uzun hidrokarbon zincirine sahiptir. Bu tür monomerlerin en basiti 'etilen' dir ($H_2C=CH_2$) ve oluşturduğu polimer de 'polietilen' olarak adlandırılır. Çok sayıda etilen molekülü yapılarındaki çift bağın açılması sonucu, kovalent bağlarla bağlanarak polietilen zincirini oluştururlar. Genellikle 'polimer' denildiği zaman akla gelen, bu hidrokarbon zincirine sahip 'organik polimerler' dir. Ancak, hidrojen ve karbon atomlarından başka atomlardan oluşan polimerler de vardır. Örneğin, silisyum (Si), azot (N), ya da fosfor (P) atomlarından oluşan polimer zincirleri de olur ve bu tür polimerler 'inorganik polimerler' olarak adlandırılır (4).

Polimer zincirleri, doğrusal yapıda olabileceği gibi 'dallanmış' yapıda da olabilirler. Yan dallar başka bir ana zincire bağlandığında ise 'çapraz-bağlı'

polimerler oluşur. Dallanma, polimerlerin uygun çözücülerdeki çözünürlüğünü zorlaştırır, çapraz-bağlı yapılar ise çözünmeyip, sadece yapılarına çözücü olarak şişerler (4).

2.7. Hidrojeller

Hidrojeller, suda şişebilen çapraz-bağlı polimerik yapılara denir. Bir ya da daha çok sayıda farklı monomerin polimerleşme tepkimesi ile hazırlanırlar. Ana zincirler arasında kovalent bağlara ek olarak hidrojen bağları ve van der Waals etkileşimleri gibi bağlanmalar bulunur. Bu nedenle çözünmezdirler. Hidrojeller, tıbbi uygulamalar açısından sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle son 30 yıldır ilgi odağı durumundadırlar (4).

Hidrojellerin ilk uygulaması, kontakt lensler olarak ortaya çıkar. Mekanik kararlılıklarının iyi oluşu, yüksek oksijen geçirgenliği ve uygun kırınım indisine sahip oluşları, kontakt lenslerde kullanımlarının temel nedenidir (4).

Hidrojellerin diğer uygulamaları; yapay tendon materyalleri, yara iyileşmesinde biyoyapışkan madde, yapay böbrek zarları, yapay deri, estetik cerrahide malzeme olarak kullanımları şeklinde sıralanabilir. Son yıllardaki en önemli uygulamalardan biriyse eczacılık alanında, kontrollü ilaç salın sistemlerdeki kullanımlardır (4).

Kontakt lens, biyosensörler için membran, yapay kalp ve deri materyalleri, moleküler ayırma sistemleri, jel bazlı hareketlendiricilerde, vanalar, ilaç ve diğer maddelerin kontrollü salın sistemleri, robotik aletler için yapay kas, geri döngülü adsorbantlar, kaplamalar. Biyoteknolojide özellikle biyoaktif proteinlerin ayrılmasında hidrojellerden faydalanılmaktadır (4).

Gıdalarda bozulmalara neden olan mikroorganizmaların ve patojenlerin gelişmesini engelleyen antimikrobiyal özellik gösteren aktif ambalaj olarak isimlendirilen polimerik filmlerden ve yine antimikrobiyal özellikteki süperabsorban hidrojellerden faydalanılmaktadır (4).

Sulardaki mikroorganizmaların giderilmesi amacıyla filtre üretiminde, sağlık alanında ve hijyenik malzeme üretiminde (cerrahi işlemlerde kullanılan eldivenler,

elbise ve steril bandajlar, merhem ve jeller, sporcular için mantar önleyici çoraplar gibi), tekstil ürünlerinde, boya sanayisinde, kağıt sektöründe ve petrol ürünlerinin korunmasında da biyosidal polimerlerden faydalanılmaktadır (4).

Patojen mikroorganizmaların kontrolü insan sağlığı için çok önemlidir. Polimerik maddeler günlük yaşantıda çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlardan plastik, elastomer, PVC, naylon ve polietilenler sentetik polimerlerdir. Zararlı mikroorganizmaların üremelerini engellemede kullanılan biyosidal polimerlerle ilgili araştırmalar oldukça yenidir. Binlerce polimerik bileşik hazırlanmasına rağmen bunlardan birkaçı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Polimerik kuarterner amonyum malzemeler en ilgi çeken polimer sınıfıdır. Teknolojik gelişmelere paralel olarak kendini gösteren, insan ve canlı faaliyetleri için çok önemli olan hava, su ve toprak üçgeninden oluşan çevrenin, kirlenmesinin önlenmesi veya oluşan kirliliğin giderilmesi için yeni yöntemler ve malzemeler geliştirilmesi ve çeşitlendirilmesi polimer alanı ile ilgili çalışmaların değerini daha da arttırmaktadır (4).

Küçük mol kütleli antibakteriyel maddelerin toksik maddeler salması, bunların çevrede ve besin zincirinde birikmesi ciddi sorunlar oluşturabilmektedir. Çözünmeyen antimikrobiyal polimerler bu problemlere çözüm olacaktır. Çünkü çözünmeyen antimikrobiyal polimerler çevreye hiç bir reaktif madde salmaksızın mikroorganizmaları yalnızca temas yoluyla öldürebilmekte veya etkisiz hale getirebilmektedir (4).

2.8. Polimerlerin Sentezinde Kullanılan Yöntemler

Polimerlerin hazırlanmasında kimyasal çapraz bağlanma ve ışınlama çapraz bağlanma gibi değişik yöntemler kullanılır. İyonlaştırıcı ışınım hem suda hem de havada basit molekülleri iyonlaştıracak düzeyde yüksek enerjili, hareketli parçacıkların elektromagnetik ışınımıdır. Elektron ışınımı ve gamma-ışınlama monomerik birimlerden polimer üretiminde oldukça fazla kullanılır. Gamma ışınları madde tarafından soğurulduğunda soğurulan ışınımın enerjisi iyonlaşma geriliminden büyükse kinetik olarak iyonlaşmaya neden olur. İyonlaşmayı serbest radikal oluşumu izler. Böylece polimerde çapraz bağlanma oluşur. Bu yöntem polimerlerin üretimi ve modifikasyonunda tepkime karışımına hiçbir kimyasal

katalizör eklenmediği için oldukça temiz bir yöntemdir. Işınlama yöntemi bir çok uygulamada sterilizasyon yöntemi olarak ta kullanılmaktadır. Polimerleşme ve çapraz bağlanma tepkimeleri sırasında, gamma ışınları ile ışınıldıklarında tüm monomerler tepkimeye girer. Böylece hiçbir toksik monomer ortamda kalmamış olur (19).

2.9. Polimerleşme Tepkimeleri

Polimerler, değişik kimyasal tepkimelerden yararlanılarak sentezlenebilir. Bu tepkimeler, genel işleyiş mekanizmaları açısından; basamaklı polimerleşme ve katılma polimerleşmesi adı verilen iki temel polimerleşme yöntemi olarak ikiye ayrılır. Polimerleşmeye yatkın olan kimyasal maddeler bu iki mekanizmadan birini izleyerek polimer zincirine katılırlar. Basamaklı polimerleşme üzerinden elde edilen polimerlere basamaklı polimer, katılma polimerleşmesi ile elde edilen polimerlere ise katılma polimeri denir (2,20).

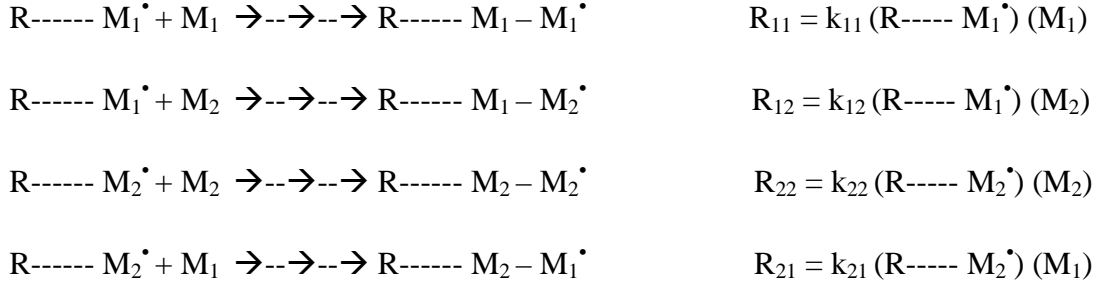
2.9.1. Kopolimerleşme

Radikalik Kopolimerleşme

Radikalik kopolimerleşme, radikalik homopolimerleşmenin başlatılmasında kullanılan etkenlerle başlatılabilir. Radikalik kopolimerleşmeye yatkın iki monomerin bulunduğu ortamın iyonize ışınlarla ışınlanması, elektroliz edilmesi veya ortama radikalik başlatıcıların katılmasıyla kopolimer elde etmek mümkündür (20).

Radikalik Kopolimerleşme Kinetiği

Kimyasal başlatıcıların kullanıldığı polimerleşme ortamında M_1 ve M_2 simgeleriyle gösterilen radikalik yolla polimerleşmeye yatkın olan iki monomer bulunursa, başlatıcıdan oluşan serbest radikallerin (R^\bullet), bu monomerlere etkisiyle ilk monomerik etkin birimler oluşur ($R-M_1^\bullet$ ve $R-M_2^\bullet$). Monomerik etkin birimler her iki monomeri de katabilecekleri için polimerleşme sisteminde dört olası büyüme tepkimesinin ilerlemesi beklenir (20).



Hız sabiti k_{11} ile verilen ilk tepkime, ucu M_1 monomerini katmasını; k_{12} hız sabiti ile verilen ikinci tepkime, aynı zincirin diğer monomeri (M_2) katmasını gösterir. Benzer tanımlar M_2 monomerinin büyüme tepkimeleri için de geçerlidir (20).

Büyüme tepkimelerinden birinci ve üçüncü tepkime homopolimerleşme tepkimesidir. Bu tepkimeler radikal türlerinin sayısını ve bağıl oranlarını değiştirmez, ancak her bir etkin tür diğer monomeri kattığı için radikal türlerinin oranı değişir (20).

Kopolimerleşmeye yönelik kinetik eşitlikler çıkarılırken radikalik homopolimerleşme de yapılan varsayımlara benzer bazı varsayımlar yapılır. Bunlardan birisi, etkin polimer zincirlerinin etkinliğinin zincir boyundan bağımsız olduğu varsayımdır. Bu varsayımla, her boy zincirin vereceği büyüme tepkimesi hız sabitleri birbirine eşitlenir ve tek bir hız sabiti ile gösterilir (k_{11} , k_{12} , k_{21} , k_{22} gibi). Ayrıca, monomerlerin yalnızca büyümekte olan uzun etkin polimer zincirleri tarafından harcandığı varsayılarak başlama adımında harcanan monomer miktarı göz önüne alınmaz (20).

2.9.2. Polimerlerde Yan Grup Dönüşümü

Polimerlerin ana zincirlerindeki atomlara yan grup denilen bazı kimyasal birimler bağlanmıştır. Polietilen ve polietilen oksitte yan gruplar hidrojen atomları, politetrafloretilende flor atomlarıdır. Bu örneklerdeki gibi yan grupları benzer olan polimer sayısı fazla değildir. Çoğu polimer farklı yan gruplara sahip monomerlerden sentezlenir. Örneğin, hidrojenle birlikte polistrende fenil, poliakrilonitrilde siyano, polipropilende metil yan grupları vardır (20).

Doğal ya da sentetik polimerlerde mekanik, kimyasal ya da ısıl özellikler kullanılması düşünülen alan için yeterli olmayabilir. Bu özelliklerin istenilen yönde iyileştirilebilmesi için polimerik maddede bir takım değişikliklerin yapılması gerekir. Bu işlemler fiziksel ya da kimyasal olabilir(20).

Kimyasal Dönüşümler

Kimyasal olarak yapılan değişiklikler, polimerin ana zincir yapısı değişmeksizin yan gruplarda gerçekleştirilen hidroliz, esterleşme, eterleşme, çapraz bağlanma, amidoksimleştirme, kuaternizasyon vb. tepkimeleri içermektedir (21).

Kuaternizasyon

Polimerde karşılaşılan yan grup dönüşümlerinden biridir. Örneğin; 2 – Vinil piridin (2VP), 4 – Vinil piridin (4VP) gibi monomerlerden oluşan homopolimerler ya da kopolimerlerde, ana zincire bağlı azot atomları kuaternize edilerek artı yüklü poliatomik iyonlara dönüştürülebilir. Bu dönüşüm işlemi iki şekilde gerçekleştirilebilmektedir;

i. Monomer önce kuaternize edilip sonra polimerleştirilir. Genel yapısı yukarıda gösterildiği gibi olan bu monomerik yapılar, kuaterner amonyum katyonları ya da kuantlar olarak adlandırılır. Genel yapıda gösterilen R grupları birbirleri ile aynı ya da farklı olabilmektedir. Monomer polimerleştirildikten sonra kuaternize edilir. Bu şekilde elde edilen yapılara ise polikuantlar denir (5).

ii. Kuaterner amonyum tuzları ya da kuaterner amonyum bileşikleri denilen yapılar ise, bir anyonla kuaterner amonyum katyonlarının oluşturduğu tuzlara verilen isimdir (5).

Poli(4 – vinil piridin) (P4VP) polimeri, yapısal yinelenen birimindeki piridin halkalarından dolayı enzimleri ve diğer organik molekülleri bağlayabilir. Bunun için P4VP biyosensörleri hazırlamada mükemmel bir liganttır. Buna ek olarak P4VP, heterohalkalı gruplarından dolayı metallere iyi elektroetkin polimer kompleksi oluşturur (5).

2VP ve 4VP monomerleri kullanılarak elde edilen homopolimer ya da kopolimerler genellikle alkil halojenürler olarak adlandırılan ve R- X şeklinde gösterilen n-bütül bromür, benzil klorür, hekzil bromür vb. gibi bileşiklerle kuaternize edilirler. Kuaternize polimerler su sertliklerinin giderimi, antibakteriyel etkinlik, metal iyonu adsorpsiyonu gibi alanlarda kullanılmaktadır (22).

2.10. Antimikrobiyal Polimerler

Son yıllarda antimikrobiyal özellikteki polimer alanında, bilinen polimerlerin modifikasyonları ve yeni yapılarının sentezlenmesini içeren uygulamalar büyük ilerleme kaydetmiştir. 1990'larda antimikrobiyal polimer sistemleri Worley ve Sun ile Afigenov ve Panarin tarafından araştırılmıştır. Tashiro poliiyonlar ve biguanidler gibi pozitif yüklü aktif grup içeren katyonik polimerler, kuaterner amonyum tuzları vekuaterner fosfonyum veya piridinyum tuzları gibi antimikrobiyal polimer sentez süreci ve antibakteriyel aktiviteleri üzerine araştırmalar yapmıştır (23).

Antimikrobiyal polimerler çeşitli kimyasal yöntemlerle sentezlenebilen suda çözünmeyen ve çevreye hiç madde salmaksızın hedef mikroorganizmaları yalnızca temas yoluyla inaktive eden veya öldüren maddelerdir (24).

2.10.1. Antimikrobiyal Polimerlerin Kullanım Alanları

Endüstriyel Alanlar:

Boya, polimer emülsiyonları ve yapı malzemelerini içeren geniş bir aralıktaki su bazlı ürünler, farklı bir çok mikroorganizmanın zararlı etkisine açıktır. Bu etkiler önemli ölçüde ekonomik kayıplarla sonuçlanabileceği gibi bu durumları önleyecek olan kurum ölçümleri çok önemli bir hale gelir. Biyositlerin kullanımı, boya ve diğer endüstriyel ürünlerde ortaya çıkan ekonomik zararları önlemek için çok önemlidir (25).

Kağıt üretim sürecinde mikroorganizmaların büyümesi balçık oluşumundan dolayı önemli teknik ekonomik ve hijyen problemlerine sebep olabilir. Biyositler balçık oluşumunu önlemek için yaş işlemin sonunda eklenir. Aynı zamanda

biyositler kağıt hamuru ve kağıt sanayinde uygulanan işlemler sırasında kullanılan malzemeleri korumak için de kullanılır (26).

Binaların sıcak ve soğuk su sistemleri *Legionella pneumophila* için hızla çoğalabileceği ortamlardır. Böyle sistemlerde *Legionella*'nın hızla çoğalma riski, iyi sistemlerin yapılmasıyla azaltılabilmesine rağmen, uygulamada çoğu sistemin gerekli kıstaslara uymadığı ve yeniden düzenlenmelerinin ekonomik olarak zor olduğu belirlenmiştir. *Legionella*'nın hızla çoğalmasının önlenmesi için, sistemler kullanım sırasında bir takım işlemlerin uygulanabilmesine uygun hale getirilmiştir. En yaygın uygulama, sisteme klor eklenmesidir. Bu uygulama çoğu zaman oldukça etkindir. Bunun yanı sıra klor kullanımı bir çok sorunu da beraberinde getirir. Bunlardan bazıları, klorun etkinliğinin pH'ya bağlı olarak değişmesi, yüksek miktarlarda klor kullanımının su sistemlerini oluşturan malzemelerin aşınmasıdır (26).

Su bazlı boyalar hammaddeleri, üretim ve saklama şartlarına bağlı olarak mikrobiyolojik etkilere ve çürümeye karşı daha dayanıksızdır. Mikrobiyal bulaşmalar bu ürünlerde viskozite azalması, pH değişimi, renk değişimi, gaz açığa çıkması ve kötü koku oluşumu gibi birçok olumsuz duruma yol açar. Bu problemleri ortadan kaldırmak için etkin biyositlerin konsantrasyonlarının artırılarak kullanılması bile yeterli olmaz. Bunun yerine, biyosit üreticilerinin yardımıyla üretim aşamalarını mikrobiyolojik açıdan dikkatlice değerlendirmek gerekir. Üretim alanının temizliğindeki gelişmeler, alanla ilgili olası iyileştirmeler, biyosidal ürünlerle yıkama vb. uygulamalar sorunların giderilmesine yardımcı olacaktır (26).

Yüzey kaplamaları, yapısal malzemelerin performansını ve kullanım ömrünü arttırmak için uygulanır. Su bazlı kaplamalarda meydana gelebilecek bir değişiklik, özellikle bu koruyucu malzemenin kimyasal bileşimlerinin değişimi mikrobiyal etkilerden kolaylıkla etkilenmelerine neden olur (26).

Polivinilklorür (PVC) ve diğer polimerlerde mikrobiyositlerin kullanımı için iki temel yaklaşım vardır. Bunlardan klasik yaklaşımda çabuk bozunabilen plastik malzemenin korunması ön planda iken diğer yaklaşımda biyosidal yüzeylerin oluşturulması amaçlanmaktadır. PVC, poliüretan ya da silikon gibi plastik malzemelerde, renk değişimi veya mekanik dayanımının azalması gibi belirtiler

mikroorganizmalar tarafından kolaylıkla bozunmaya uğrayabildiklerini göstermektedir (26).

Plastik malzemeler, etkin bir fungusitin yardımı ile mikrobiyal saldırılara karşı korunabilir. Fungusitler küf ve mantarların gelişimini ve çoğalmasını önleyen biyositlerdir (26).

Metal soğutma sıvıları, bir çok üretim sanayinde makinelerin akıcı bir şekilde çalışması için son derece önemlidir. Bu sıvılar çalışan iki metal parçası arasındaki sürtünmeyi azaltmak, ısınan parçaları soğutmak ve kesme işlemleri sonucu oluşan metal tozlarını uzaklaştırmak için kullanılır. Bu sıvılar uygulamalarda mantar ve bakterilerin olumsuz etkisinde kalırlar. Bu sebeple metal soğutma sıvıları mikroorganizma saldırılarına karşı etkin bir formüle sahip olmalıdır. Geniş ölçekte antimikrobiyal etkinlik sağlamak için bakterisit ve fungusitlerin birlikte bir karışım halinde kullanılması ya da bakteri ve mantarların her ikisine karşı etkili olan geniş spektrumlu bir biyosit kullanılması gereklidir (26).

Suların Sterilizasyonu:

Klorlu bileşikler veya suda çözünebilir diğer dezenfektanlar kullanılır. Buna rağmen çözünebilir dezenfektanlar uygun miktarlarda kullanılsalar da bu maddelerin artıkları ciddi toksisite problemleri oluştururlar. Dolayısıyla bu kalıntılar çevredeki besin zincirine karışmaktadır. Serbest klor ve onun gibi diğer kimyasallar organik maddelerle tepkimeye girerek karsinojenik özellikteki trihalometan analogları oluşturmaktadır. Bu handikap sulardaki mikroorganizmaların suda çözünmeyen bir takım maddelerle oradan uzaklaştırılması sonucu ortadan kaldırılacaktır (27).

Polimerik dezenfektanlar, su filtreleri, yüzey kaplamaları ve fibröz dezenfektanlarda kullanım için ideal malzemelerdir, çünkü çok farklı tekniklerle ve suda çözünmeyecek şekilde üretilebilirler. Çok sayıda araştırmacı son birkaç yıldır su arıtımda kullanılmak üzere suda çözünmeyen polimerik dezenfektanlar üretmeye odaklanmışlardır (27).

Sağlık Alanı:

Polimerler, yumuşak kontakt lensler, yapay tendon materyalleri, yara iyileşmesinde kullanılan biyoyapışkan maddeler, yapay böbrek zarları, yapay deri ve estetik cerrahisinde malzeme olarak kullanılabilir. Bütün hücre tiplerine kolayca penetre olabilen ve vücut tarafından hızlıca atılabilen bir çok farmakolojik aktif madde, küçük mol kütleli olan bileşiklerdir. Bu nedenle yoğun dozda ve sürekli kullanımları terapötik etkilere ve ciddi yan etkilere sebep olabilir. Antimikrobiyal maddeler ve onları taşıyan polimerler gibi bağlı ilaçlar onların vücuttan atılma oranlarını değiştirir ve uzun bir süre boyunca kontrollü olarak salınmalarını sağlar. Kontrollü salım sistemleri terapötik etkinliği geliştirmek ve fizyolojik çevredeki ihtiyaca göre ilaçların güvenli bir şekilde salınmasını sağlar (27).

Gıda Endüstrisi:

Mikrobiyal kontaminasyon gıdaların raf ömrünü kısaltır ve gıda kökenli hastalıklara yakalanma riskini artırır. En az seviyede işlenen, kolay hazırlanan ve taze olarak tüketime hazır gıda ürünlerine olan ihtiyacın yanı sıra gıda ticaretinin küreselleşmesi ve merkezileşmiş işletmelere dağıtımı gıda güvenliği ve kalitesi için büyük bir mücadeleyi doğurur. Gıdaları mikrobiyal gelişmenin etkilerinden korumak için ısı uygulama, dondurarak kurutma, soğuk depolama, irradyasyon ve antimikrobiyal maddeler ve tuzlar ekleme uygulamalarını içeren geleneksel yöntemler kullanılır. Ne yazık ki bu tekniklerden bazıları taze et ve anında tüketime hazır ürünler için uygun değildir. Ayrıca kimyasal gıda koruyucuları içermeyen gıdalara yönelik büyüyen bir ihtiyaç söz konusudur (27).

Antimikrobiyal polimerler, paketlenme de dahil gıdalarla ilgili bir çok uygulamada kullanılır. Bunlardan biri et ve peynir gibi katı gıdalarla süt veya et sıvılarını içeren bir çok sıvı besin için gıda yüzeyi ile paketin doğrudan teması yoluyla belirgin mikroorganizmaların üremesini engelleyerek gıdaların raf ömürlerinin uzatılmasına gıda güvenliğini arttırmaya yönelik uygulamalardır. Bir diğer uygulama gıdaların rekontaminasyona uğramalarını önlemek için yapılan antimikrobiyal paketlenme uygulamasıdır (27).

Tekstil Endüstrisi:

Dünyada antimikrobiyal özellikli tekstil ürünlerini geliştirme çalışmaları artmıştır. Son günlerde özellikle spor ve iç giyimde, estetik amaçlı olarak koku önleyen ürünlerin geliştirilmesi çalışmalarına ilgi vardır. Birçok çalışmada, tekstil malzemelere; kumaşlara ve ipliklere polimerlerin katılmasıyla hazırlanan ürünlerin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Antimikrobiyal etkili polyamid iplikler üretilmiş ve bunların kuvvetli bakterisidal etkili oldukları bildirilmiştir. Gelecekte antimikrobiyal polimerlerin tekstil ürünlerinde daha fazla oranda kullanılacağı tahmin edilmektedir (27).

2.10.2. Antimikrobiyal Polimerlerin Sınıflandırılması

Zararlı organizmalarla mücadelede organokalay bileşikleri, bromlanmış salisilanilitler, merkaptanlar, biyosidal polimerler, civa, bakır ve arsenik bileşikleri, tribütil kalay, hipoklorit ve klorür bileşikleri gibi kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Worley ve Sun' a göre bu türdeki kimyasal maddelerden olan antimikrobiyal polimerler beş grupta incelenmektedir. Bunlar;

1. Polimerik kuarterner amonyum malzemeler,
2. Polimerik fosfonyum malzemeler,
3. Halojenlenmiş poli(stiren-divinil benzen) sülfonamidler,
4. Polimerik N-halaminler,
5. Diğer polimerik biyosidal malzemelerdir (28).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Polimer Araştırma Laboratuvarında radyasyonla hazırlanmış çapraz bağlı akrilamid/4vinil piridin kopolimeri ve ile Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Hidrojel Araştırma Laboratuvarında bu polimerin benzil klorürle türevlendirilmesi ile hazırlanan aromatik kuaterner amonyum tuzu türevi olan iki yeni polimer kullanıldı.. Bu polimerlerin *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve *Candida albicans* (ATCC 10231) suşları üzerine antimikrobiyal etkileri incelendi.

3.1. Kullanılan Cihazlar

Analitik Terazî (Kern PLE 310-3N)

McFaland Dansitometre (Biosan DEN-1B)

Vorteks (Dragonlab)

Mikropipet (2 – 20 µL) (Gilson)

Mikropipet (20 – 200 µL) (Gilson)

Otoklav

Etüv (Dedeoğlu)

Çalkalamalı etüv (B. Braun)

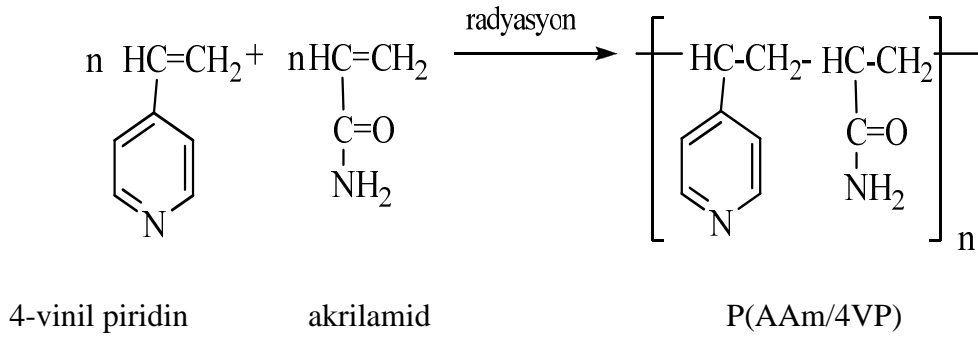
Buzdolabı

3.2. Kullanılan Polimerler

3.2.1. Çapraz bağlı Akrilamid /4 Vinilpiridin Kopolimeri P(AAm4VP)

5 g akrilamid ve 5 ml 4-vinil piridin monomer 10 ml damıtık suda çözüldü. Plastik pipetlere doldurulan bu çözelti, gamma kaynağında 30 kilogray ışınlanarak serbest radikal polimerleşmesi ile çapraz bağlı ağ yapılı kopolimerler elde edildi.

Plastik kılıflarından çıkarılan polimerler damıtık su ile yıkanarak, ilerde kullanılmak üzere depolandı.

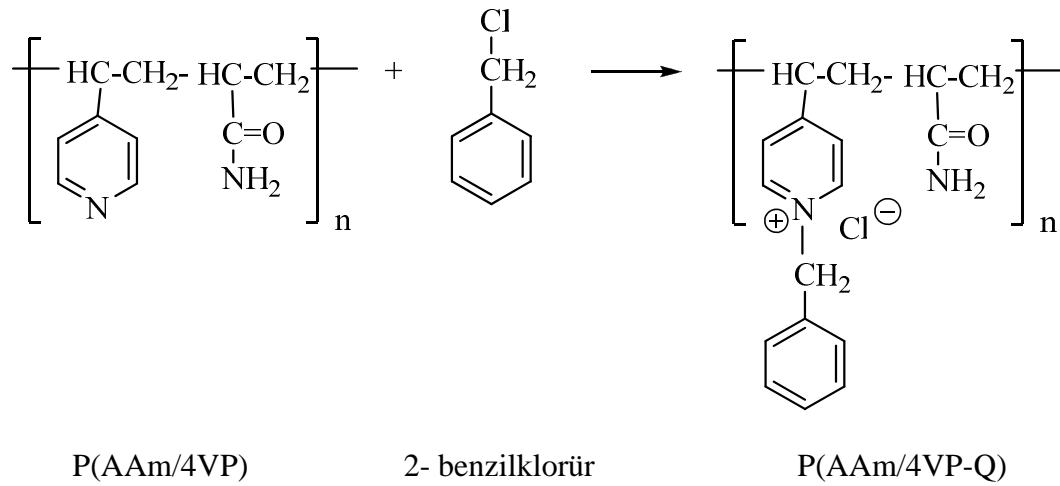


Şekil 3.1 Vinil piridin, akrilamid ve p(AAm/4VP)' nin kimyasal şekilleri

3.2.2. Çapraz bağlı Akrilamid/4Vinilpiridin Kuarterner amonyum tuzu P(AAm4VP-Q)

Yaklaşık 3,5 gram polimer, 75 ml kloroform ve 10,0 ml benzil klorür bir balona konulup 50 °C sıcaklıktaki su banyosuna konuldu. 10 gün kuarternerizasyon için beklendi.

Polimerler süzülerek ayrıldı. Ayrılan polimerler aseton ile birkaç kez yıkanarak, ilerde kullanılmak üzere depolandı.



Şekil 3.2 P(AAm/4VP), 2-benzil klorür ve p(AAm/4VP-Q)' nin kimyasal şekilleri



Şekil 3.3 P(AAm/4VP-Q), P(AAm/4VP) polimerlerinin şişirilmemiş görüntüsü

3.3. Kullanılan çözeltiler

3.3.1. McFarland 0,5

% 1,75 $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ O'dan 0,05 ml, 0,36 N H_2SO_4 'dan 9,95 ml bir tüp içerisinde karıştırılarak McFarland 0,5 çözeltisi hazırlandı (28).

3.3.2. Mops (Sigma) çözeltisi

Ticari olarak satılan 1M morfolinepropanasülfonik asit çözeltisi RPMI besiyeri hazırlama aşamasında besiyerini tamponlamak için kullanıldı.

3.4. Kullanılan besiyerleri

3.4.1. Mueller Hinton Agar (Himedia)

Mueller hinton agar besiyeri üreticinin önerisi doğrultusunda 38,0 gram tartılarak balon jöjeye alındı ve üzerine 1000 ml damıtık su eklendi. Toz halindeki besiyeri çözülerek homojenize hale getirildi. Bu karışım daha sonra otoklavda $120\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1,1 atm basınçta 15 dakika bekletilerek steril edildi. Otoklavdan alınan besiyeri balon

jojede 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra petri kaplarına döküldü ve donduktan sonra buzdolabında bekletildi.

3.4.2. Mueller Hinton Buyyonu (Himedia)

Toz halindeki besiyerinden üreticisinin önerisi doğrultusunda 21,0 gr tartularak balon jojeye alındı. Üzerine 1000 ml damıtık su eklendi ve besiyerinin çözülmesi sağlandı. Çözelti otoklavlandıktan sonra soğutuldu ve kullanıma hazır hale geldi.

3.4.3. Brain Heart İnfusion Agar (Himedia)

Brain Heart İnfusion Agar besiyerinden üreticisinin önerisi doğrultusunda 52,0 gram tartıldı, 1000 ml damıtık su içinde çözünmesi sağlandı ve 15 dakika 1,1 atm basınç altında 120 °C'de otoklavlanarak steril edildi. Otoklavdan çıkarılan besiyeri 45 °C'ye soğutulduktan sonra içerisine %5 oranında kan eklendi ve petri kaplarına döküldü.

3.4.4. MOPS'lu RPMI besiyeri (Sigma RPMI 1640 glutaminli ve bikarbonatsız)

Glutaminli RPMI 1640 besiyerinden üreticisinin önerisi doğrultusunda 2,6 gr tartıldı ve bir balon jojeye alındı. Üzerine 20.625 ml Mops çözeltisi, 0,5 gr glukoz eklendi ve karışım damıtık suyla 250 ml'ye tamamlandı. Daha sonra bu çözeltinin pH' sı 1 M'lık NaOH ile 7' ye ayarlandı ve membran filtreden süzülerek steril edildi (29).

3.4.5. Saboraud Dextrose Agar (Himedia)

Üreticisini önerisi doğrultusunda besiyerinden 65,0 gr tartıldı ve 1000 ml damıtık su ile steril bir balonda karıştırıldı. Otoklavlandıktan sonra 45°C'ye soğutulan besiyeri steril koşullarda petrilere döküldü ve donduktan sonra kullanıma hazır hale geldi.

3.5. Kullanılan mikroorganizmalar

S.aureus (ATCC 25923), *P.aeruginosa* (ATCC 27853), *E.coli* (ATCC 25922) ve *C.albicans*'ın (ATCC 10231) liyofilize şekilleri Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu Laboratuvarı'ndan sağlandı. Bu mikroorganizmalar, diğer çalışmalarda biyositlerin antimikrobiyal etkilerini araştırmak için kullanılan en sık etkenler olmaları nedeniyle seçildi.

3.6. Polimerlerin mikroorganizmalar üzerindeki etkilerinin araştırılması

3.6.1. Mikroorganizmaların hazırlanması

Liyofilize durumdaki mikroorganizmalar üreticinin önerileri doğrultusunda açılarak uygun besiyerlerine ekildi. Bakteriler ve *C.albicans* üç kere pasajlanarak deneylerde kullanıma hazır duruma getirildi.

3.6.2. Polimerlerin çalışmaya hazırlanması

Her iki polimer çeşidinin deneylerde kullanılacak miktarları UV ile etüvde steril edildi ve deneylerden altı saat önce steril tüpler içine alınarak steril serum fizyolojikle şişmeleri sağlandı.



Şekil 3.4 P(AAm/4VP) ve p(aAm/4VP-Q) polimerlerinin şişirilmiş görüntüsü

K: p(AAm/4VP), P: p(AAM/4VP-Q)

3.6.3. Bakteriler için polimerlerin mikrobiyal bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerlerinin belirlenmesi

S.aureus, *E. coli*, *P. aeruginosa* suşları, p(AAm/4VP) ve p(AAm/4VP-Q) polimerleriyle ayrı ayrı etkileştirildi. Bu deneyler şu şekilde yapıldı; Polimerler serum fizyolojik içinden alınarak Mueller hinton sıvı besiyeri içeren altı tüpe polimer konsantrasyonları, 10 mg ml⁻¹, 7,5 mg ml⁻¹, 5 mg ml⁻¹ ve 2,5 mg ml⁻¹, 1.25 mg ml⁻¹,

0,625 mg ml⁻¹ olacak şekilde aktarıldı. Bakterilerin bir gece kanlı agarda bekletilmiş saf kültürlerindeki kolonilerden alınarak serum fizyolojik içeren tüplerde süspansiyonları yapıldı, bakteri süspansiyonları vortekslenerek homojen duruma getirildi. Süspansiyonun bulanıklığı dansitometre cihazında McFarland 0.5'e (1x10⁸ CFU ml⁻¹) ayarlandı. Daha sonra polimer ve Mueller-Hinton sıvı besiyeri bulunan tüplere, her bir tüpte 5x10⁵ CFU ml⁻¹ bakteri olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonundan eklendi. Ayrıca polimer içermeyen içinde bakteri ve besiyeri bulunan kontrol tüpleri de hazırlandı. Tüm tüpler çalkalamalı inkübatörde 250 rpm'de 37 °C'de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her tüpten 10µL, 100µL, 500 µL alınarak kanlı agar besiyerlerine ekimler yapıldı. Besiyerleri 18-24 saat 35°C'da etüvde bekletildi. İnkübasyondan sonra plaklar incelendi ve bakteri üremesi olmayan polimerin en düşük konsantrasyonunu içeren tüpler saptanarak her bakteri için polimerin MBK değeri bulundu. Deneyler üç kez tekrarlandı.

3.6.4. *C.albicans* için polimerlerin mikrobiyal bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerlerinin belirlenmesi

P(AAm/4VP) ve p(AAm/4VP-Q) polimerleri içinde MOPS'lu RPMI besiyeri bulunan tüplere son konsantrasyonları 50 mg ml⁻¹, 25 mg ml⁻¹, 10 mg ml⁻¹, 7,5 mg ml⁻¹, 5 mg ml⁻¹, 2,5 mg ml⁻¹, 1.25 mg ml⁻¹, 0,625 mg ml⁻¹ olacak şekilde eklendi. *C.albicans*'ın Saboraud dekstroz agarda hazırlanan taze kültüründen alınan koloniler serum fizyolojikte süspanse edildi. Süspansiyon vortekslendi ve bulanıklığı McFarland 0.5'e ayarlandı. Bu süspansiyondan içinde polimer ve mopslu RPMI besiyeri bulunan her tüpe *C.albicans* miktarı 1 – 5 x 10³ CFU ml⁻¹ olacak şekilde eklendi. Tüpler 35°C'daki çalkalamalı inkübatörde 48 saat bekletildi. Her tüpten 24 saat ve 48 saat inkübasyon süresi sonunda 10µl, 100µl, 500 µl alınarak Saboraud dekstroz agara ekimler yapıldı. İnkübasyondan sonra plaklarda üreme kontrolü yapıldı (29).

3.6.5. Öldürme zamanının belirlenmesi (Time kill deneyi)

P(AAm/4VP-Q) polimerinin *S.aureus*, *E.coli* ve *P.aeruginosa* suşlarını öldürme kinetiği araştırıldı. Her bakteri suşu için saptanmış olan p(AAm/4VP-Q) polimerinin

MBK'nu çalışmada kullanılacak polimer konsantrasyonu olarak seçildi. Deneyleer şu şekilde yapıldı;

Steril bir tüpe 2 ml Mueller-Hinton buyyonu eklendi. Daha sonra tüplere p(AAm/4VP-Q) polimerinin MBK'nu sağlayacak miktarda polimerden konuldu. Bakterilerin taze hazırlanmış saf kültürlerinden serum fizyolojikli tüpte süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyonun bulanıklığı McFarland 0.5'e ayarlandı. Polimer, sıvı besiyeri olan tüpe, bakteri miktarı 5×10^5 CFU ml⁻¹ olacak şekilde bakteri süspansiyonundan uygun bir miktar alınarak eklendi. Ayrıca üreme kontrolü olarak kullanılmak üzere içinde polimer olmayan, besiyeri ve bakteri (5×10^5 CFU ml⁻¹) bulunan tüpler de hazırlandı. Tüm tüpler çalkalamalı etüvde 250 rpm'de 35 °C'da inkübasyona bırakıldı. Polimerli, polimersiz tüplerden belirli etkileşme sürelerinde (0., 10., 30., 60., 90., 120., 180., 240. ve 360. dakika) 100'er µl alındı ve 1/10, 1/100, 1/1000 oranında serum fizyolojik içinde sulandırılmaları yapıldı. Bu sulandırılmaların her birinden 10µL ve 100µL alınarak kanlı agara yayma ekimleri yapıldı, besiyerleri 18-24 saat 35°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plaklarda üreyen koloniler sayılarak her inkübasyon süresindeki canlı bakteri sayıları (CFU ml⁻¹) belirlendi. Deneyleer üç kez tekrarlandı, her bakteri için polimerli ve polimersiz (kontrol) deney serilerinden altı olmak üzere toplam oniki sonuç elde edildi.

Öldürme zamanının belirlenmesi deney sonuçlarının değerlendirilmesi

S.aureus ve *P.eruginosa*'ya ait deney serilerinden elde edilen canlı bakteri sayıları SPSS 14. 0 programına yüklenerek, veriler Mann Whitney U testi ve Fischer kesin ki kare testi kullanılarak değerlendirildi. Testlerde yanılma düzeyi 0.05 alındı.

Her bakteri için ayrı ayrı olmak üzere elde edilen altı adet polimerli deney serisi ve kontrol serilerindeki canlı bakteri sayılarının aritmetik ortalamaları ve sonra logaritmaları hesaplandı. Etkileşme zamanları ve bunlara karşılık gelen canlı bakteri sayılarının log₁₀ değerleri grafiklerde gösterildi.

Ayrıca her bakteriye karşı p(AAm/4VP-Q) polimerinin her etkileşme süresindeki antibakteriyel etkinliği de bulundu. Zamana göre antibakteriyel etkinlik değerleri grafiklerde gösterildi. Antibakteriyel etkinlik

$$\frac{(N_0 - N_1)}{N_0} \times 100$$

bağıntısından hesaplandı (30).

Bu bağıntıda N_0 ; polimer içermeyen kontrol tüpündeki canlı bakteri sayısı, N_1 ; polimer içeren deney serisindeki canlı bakteri sayısı

3.6.6. Agar kuyucuk yönteminin uygulanışı

Bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden serum fizyolojik içerisinde 0,5 McFarland'lık süspansiyonları hazırlandı. Bu süspansiyonlardan 1,5 ml alınarak 45 °C'ye kadar soğutulmuş 13,5 ml Müeller-Hinton sıvı besiyeri içeren tüplere eklendi. Bakteri süspansiyonun tüp içinde homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Daha sonra bu karışım 90 mm çaplı steril petri kutularına döküldü. Sıvının homojen dağılması için petriye rotasyon hareketi yaptırıldı. Besiyeri donduktan sonra agar üzerinde 6 mm çapında üç adet kuyucuk açıldı. Kuyucuklara sırasıyla serum fizyolojik, 20 mg p(AAm/4VP) polimeri, 20 mg p(AAm/4VP-Q) polimeri dolduruldu. Ayrıca plağın boş bir yerine de amikasin diski yerleştirildi ve plak bir gece 35°C'da inkübasyona kaldırıldı. İnkübasyon sonunda kuyucuklar çevresinde inhibisyon zonlarının varlığına bakıldı (18).

4. BULGULAR

4.1. Mikroorganizmalar için polimerlerin MBK değerleri

4.1.1. *S.aureus* için MBK değeri:

S.aureus suşuyla p(AAm/4VP) ve p(AAm/4VP-Q) polimerlerinin etkileştirilmeleri sonunda p(AAm/4VP) polimerinin denenen tüm konsantrasyonlarda (10 mg ml⁻¹, 7,5 mg ml⁻¹, 5 mg ml⁻¹ ve 2,5 mg ml⁻¹, 1,25 mg ml⁻¹, 0,625 mg ml⁻¹) bakterilerin üremesini etkilemediği, kanlı agara yapılmış olan kültürlerin tümünde *S.aureus* kolonilerinin ürediği görüldü.

P(AAm/4VP-Q) polimerinin 5 mg ml⁻¹ ve daha düşük konsantrasyonlarda olduğu tüplerden yapılan ekimlerinde üreme görülürken, 7,5 mg ml⁻¹ ve 10 mg ml⁻¹ bulunduğu tüplerden yapılan ekimlerde üreme görülmedi. Böylece *S.aureus* için p(AAm/4VP-Q) polimerinin MBK değeri 7,5 mg ml⁻¹ olarak belirlendi.

4.1.2. *E.coli* için MBK değeri:

E.coli ile için yapılan deneylerde, p(AAm/4VP) polimerinin denenen tüm konsantrasyonlarından (10 mg ml⁻¹, 7,5 mg ml⁻¹, 5 mg ml⁻¹ ve 2,5 mg ml⁻¹, 1,25 mg ml⁻¹, 0,625 mg ml⁻¹) plaklara yapılan ekimler sonunda hepsinde üreme görüldü. P(AAm/4VP) polimerinin bakterileri etkilemediği saptandı.

P(AAm/4VP-Q) polimerinin 1,25 mg ml⁻¹, 0,625 mg ml⁻¹ olduğu tüplerden yapılan ekimlerde ise, bakterilerin ürediği saptanırken, 2,5 mg ml⁻¹ ve üzerindeki konsantrasyonlarda polimer içeren tüplerden yapılan ekimlerde bakteriler üretilmedi. Böylece, *E.coli* için p(AAm/4VP-Q) polimerinin MBK değeri 2,5 mg ml⁻¹ olarak belirlendi.

4.1.3. *P.aeruginosa* için MBK değeri:

P. aeruginosa için yapılan deneyler sonucunda p(AAm/4VP) polimeri içeren tüplerin hepsinde bulanıklık gözlemlendi. Tüplerden agar plaklarına yapılan ekimlerin hepsinde üreme saptandı. P(AAm/4VP) polimerinin bakterileri etkilemediği saptandı.

P(AAm/4VP-Q) polimerinin 5mg ml⁻¹ ve düşük konsantrasyonunun bulunduğu tüplerden yapılan ekimlerde üreme görülürken, 7,5 mg ml⁻¹ ve 10 mg ml⁻¹ polimer bulunan tüplerden yapılan ekimlerde üreme görülmedi. Böylece *P. aeruginosa* için p(AAm/4VP-Q) polimerinin MBK değeri 7,5 mg ml⁻¹ olarak belirlendi.

4.1.4. *C.albicans* için MBK değeri:

C. albicans suşuyla p(AAm/4VP) ve p(AAm/4VP-Q) polimerlerinin etkileştirilmeleri sonunda denenen tüm polimer konsantrasyonlarında (50-0.625 mg ml⁻¹) mikroorganizmanın canlı kaldığı gözlemlendi. Böylece p(AAm/4VP-Q) polimerinin denenen tüm konsantrasyonlarda *C.albicans*'ı etkilemediği sonucuna varıldı.

4.2. Öldürme zamanının belirlenmesi (Time kill deneyi)

Her bakteri için p(AAm/4VP-Q) polimerinin MBK'larıyla bakteriler belirli sürelerde etkileştirildi. Buna göre, *S.aureus* ve *P.aeruginosa*'yla polimerin 7.5 mg ml⁻¹'lik konsantrasyonu, *E.coli*'yle 2.5 mg ml⁻¹'lik konsantrasyonu etkileştirilerek, her etkileşim süresindeki canlı bakteri miktarları Çizelge 4.1, 4.2 ve 4.3'te verildi.

4.2.1. *S.aureus*'la ilgili sonuçlar:

S.aureus ile polimerin etkileştirildiği üç deney serisinden elde edilen altı deney sonucu değerlendirildiğinde; 0., 10., 30., 60. dakikalarda bakterilerin giderek azalan miktarlarda olmak üzere canlı kaldığı (Çizelge 4.1), 90.dakikada; dört deneyde, bakterilerin üremediği, ikisinde çok az miktarlarda (3 CFU ml⁻¹ ve 17 CFU ml⁻¹) ürediği, 120.dakikada sadece birinde (2 CFU ml⁻¹) üreme olduğu, 180, 240 ve 360. dakikalarda ise bakterilerin canlı olmadıkları bulundu.

Kontrol serilerinde, inkübasyon zamanı ilerledikçe, bakteri sayılarının da arttığı gözlemlendi. Son inkübasyon süresinde bakterileri sayısının başlangıç miktarından 10² düzeyde arttığı bulundu.

Her etkileşme süresinde bulunan canlı bakteri sayılarına ait altı değer kendi içlerindeki aritmetik ortalamaları hesaplandı. Bu değerler zamana karşı değişen canlı

bakteri sayıları (S) olarak kabul edilerek, \log_{10} 'ları bulundu. Kontrol serisindeki sonuçlara da aynı işlemler uygulandı. Zamana karşı değişen aritmetik ortalamaların logaritmik değerleriyle, polimerin *S.aureus* suşunu öldürme zamanı eğrisi çizildi (Şekil 4.1). *S.aureus* sayısının 30. dakikada \log_{10}^3 düzeyinde azaldığı, 120.dakikada 10^1 den daha az düzeye geldiği görüldü ve 180. dakikada canlı kalmadığı saptandı.

Çizelge 4. 4 *S.aureus* (ATCC 25922) suşuna P(AAm/ 4VP-Q) polimerinin zamana göre etkisi (öldürme zamanı deney sonuçları).

DeneyNo/Zaman	Canlı <i>S.aureus</i> (CFU ml ⁻¹)								
	0	10	30	60	90	120	180	240	360
1									
(p)	4,0x10 ⁵	3,0x10 ¹	1,0x10 ¹	2,0x10 ⁰	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	4,0x10 ⁵	4,0x10 ⁵	7,0x10 ⁵	9,0x10 ⁵	1,4x10 ⁶	2,0x10 ⁶	4,8x10 ⁶	5,1x10 ⁶	8,0x10 ⁶
(p)	1,0x10 ⁵	1,0x10 ³	3,2x10 ¹	8,0x10 ⁰	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	1,0x10 ⁵	1,0x10 ⁵	6,1x10 ⁵	1,3x10 ⁶	1,8x10 ⁶	3,1x10 ⁶	4,4x10 ⁶	1,8x10 ⁷	4,0x10 ⁷
2									
(p)	3,0x10 ⁵	2,1x10 ²	1,6x10 ²	5,0x10 ¹	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	3,0x10 ⁵	2,0x10 ⁵	2,9x10 ⁵	4,7x10 ⁵	9,0x10 ⁵	1,6x10 ⁶	3,1x10 ⁶	6,2x10 ⁶	2,1x10 ⁷
(p)	3,2x10 ⁵	7,0x10 ³	7,2x10 ¹	9,0x10 ⁰	3,0x10 ⁰	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	3,2x10 ⁵	2,7x10 ⁵	4,9x10 ⁵	5,3x10 ⁵	7,5x10 ⁵	1,1x10 ⁶	1,4x10 ⁶	3,1x10 ⁶	5,1x10 ⁶
3									
(p)	1,0x10 ⁵	4,0x10 ³	1,6x10 ²	3,0x10 ¹	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	1,0x10 ⁵	3,2x10 ⁵	7,0x10 ⁵	1,1x10 ⁶	9,0x10 ⁶	1,9x10 ⁶	2,0x10 ⁷	1,0x10 ⁷	6,0x10 ⁷
(p)	8,0x10 ⁴	2,0x10 ⁴	9,1x10 ¹	2,1x10 ¹	1,7x10 ¹	2,0x10 ⁰	Ø	Ø	Ø
(k)	8,0x10 ⁴	1,4x10 ⁵	3,3x10 ⁵	6,1x10 ⁵	8,0x10 ⁵	1,0x10 ⁶	2,5x10 ⁶	2,9x10 ⁶	4,8x10 ⁶
Ort. (p)	2,16x10⁵	5,3x10³	8,7x10¹	2,0x10¹	1,7x10¹	0,3x10⁰	-	-	-
Ort. (k)	2,16x10⁵	2,38x10⁵	5,2x10⁵	8,1x10⁵	2,44x10⁶	1,78x10⁶	6,03x10⁶	7,55x10⁶	2,3x10⁷

(p) = P(AAm/4VP-Q) + besiyeri+bakteri
(k) = bakteri+besiyeri
Ø = üreme yok
Ort. = aritmetik ortalama

Çizelge 4.5 *E.coli* (ATCC 25922) suşuna P(AAm/ 4VP-Q) polimerinin zamana göre etkisi (öldürme zamanı deney sonuçları).

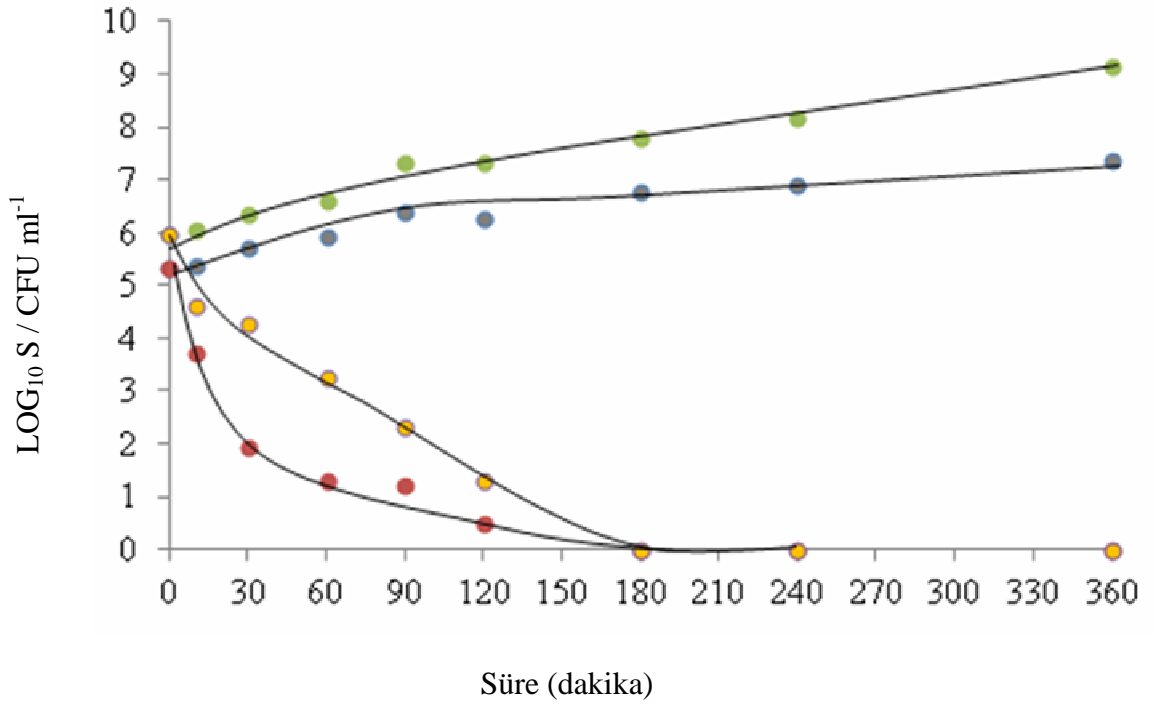
DeneyNo/Zaman	Canlı <i>E.coli</i> (CFU ml ⁻¹)								
	0	10	30	60	90	120	180	240	360
1									
(p)	7,0x10 ⁵	1,7x10 ⁵	5,0x10 ⁴	1,0x10 ³	3,0x10 ¹	1,0x10 ¹	1,0x10 ⁰	Ø	Ø
(k)	7,0x10 ⁵	3,0x10 ⁵	7,0x10 ⁵	5,0x10 ⁵	1,0x10 ⁶	9,0x10 ⁶	2,1x10 ⁷	5,0x10 ⁷	7,0x10 ⁷
(p)	5,7x10 ⁵	9,0x10 ⁴	1,0x10 ⁴	6,6x10 ²	2,0x10 ¹	1,0x10 ⁰	Ø	Ø	Ø
(k)	5,7x10 ⁵	4,5x10 ⁵	6,0x10 ⁵	5,9x10 ⁵	1,0x10 ⁶	5,0x10 ⁶	5,0x10 ⁷	7,0x10 ⁷	1,2x10 ⁸
2									
(p)	1,1x10 ⁶	8,0x10 ⁴	1,2x10 ⁴	1,0x10 ²	5,0x10 ⁰	1,0x10 ⁰	Ø	Ø	Ø
(k)	1,1x10 ⁶	2,1x10 ⁶	9,0x10 ⁶	9,0x10 ⁶	1,8x10 ⁷	2,0x10 ⁷	3,0x10 ⁷	5,5x10 ⁷	1,0x10 ⁸
(p)	5,0x10 ⁵	4,0x10 ⁴	7,3x10 ³	6,5x10 ³	1,0x10 ¹	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	5,0x10 ⁵	5,0x10 ⁵	8,4x10 ⁶	1,0x10 ⁷	1,7x10 ⁷	4,0x10 ⁷	7,0x10 ⁷	1,0x10 ⁸	1,3x10 ⁸
3									
(p)	6,1x10 ⁵	5,3x10 ⁴	3,3x10 ³	8,0x10 ²	2,1x10 ¹	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	6,1x10 ⁵	6,3x10 ⁵	9,0x10 ⁵	1,7x10 ⁶	4,0x10 ⁶	1,0x10 ⁷	3,0x10 ⁷	8,0x10 ⁷	1,0x10 ⁸
(p)	4,0x10 ⁵	3,7x10 ⁴	2,4x10 ³	1,8x10 ²	3,0x10 ¹	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	4,0x10 ⁵	3,7x10 ⁵	6,9x10 ⁵	1,0x10 ⁶	3,0x10 ⁶	4,1x10 ⁷	6,0x10 ⁷	6,6x10 ⁷	9,0x10 ⁷
Ort. (p)	6,46x10⁵	5,02x10⁴	1,41x10⁴	3,02x10²	1,9x10¹	2,0x10⁰	-	-	-
Ort. (k)	6,46x10⁵	7,2x10⁵	33,8x10⁵	37,9x10⁵	7,3x10⁶	20,83x10⁶	4,35x10⁷	7,01x10⁷	1,0x10⁸

(p) = P(AAm/4VP-Q) + besiyeri+bakteri
(k) = bakteri+besiyeri
Ø = üreme yok
Ort. = aritmetik ortalama

Çizelge 4.6 *P.aeruginosa* (ATCC 27853) suşuna P(AAm/ 4VP-Q) polimerinin zamana göre etkisi (öldürme zamanı deney sonuçları).

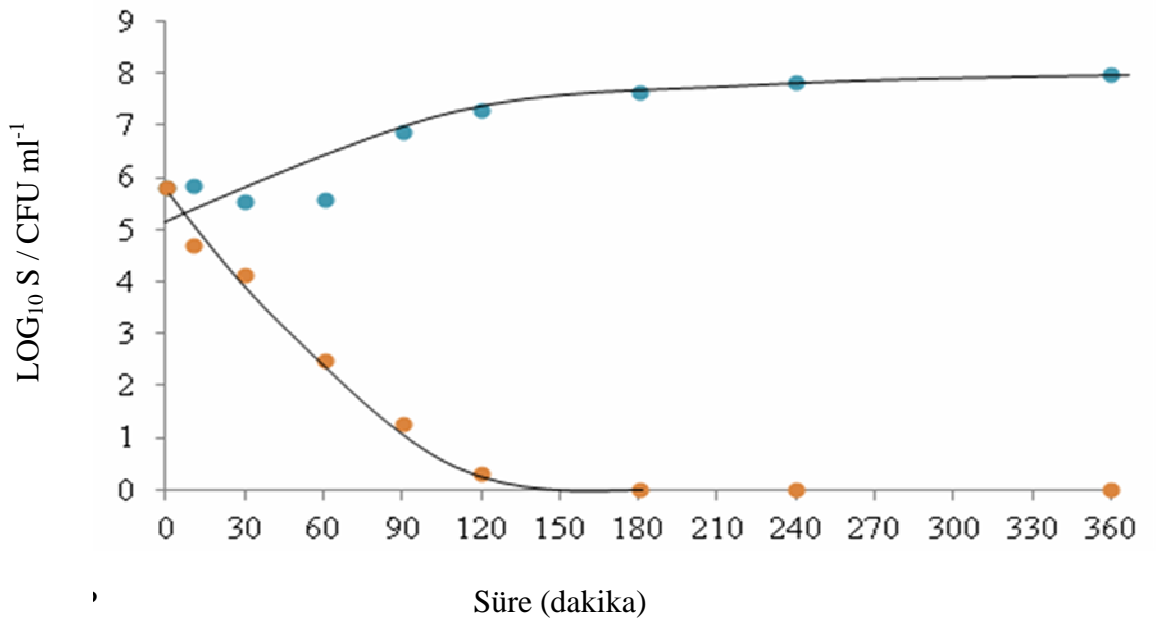
DeneyNo/Zaman	Canlı <i>P.aeruginosa</i> (CFU ml ⁻¹)								
	0	10	30	60	90	120	180	240	360
1									
(p)	9,0x10 ⁵	6,9x10 ⁴	4,5x10 ⁴	2,0x10 ³	5,0x10 ²	2,5x10 ¹	5,0x10 ⁰	Ø	Ø
(k)	9,0x10 ⁵	1,7x10 ⁶	3,7x10 ⁶	3,2x10 ⁶	2,2x10 ⁷	1,0x10 ⁷	4,0x10 ⁷	2,0x10 ⁸	1,0x10 ⁸
(p)	7,0x10 ⁵	8,1x10 ⁴	5,1x10 ⁴	1,3x10 ³	1,9x10 ²	2,0x10 ¹	Ø	Ø	Ø
(k)	7,0x10 ⁵	1,0x10 ⁶	3,9x10 ⁶	5,5x10 ⁶	1,0x10 ⁷	2,1x10 ⁷	2,0x10 ⁸	3,4x10 ⁸	7,2x10 ⁸
2									
(p)	2,5x10 ⁶	2,0x10 ⁴	1,1x10 ³	7,7x10 ²	3,1x10 ²	3,7x10 ¹	Ø	Ø	Ø
(k)	2,5x10 ⁶	1,8x10 ⁶	1,0x10 ⁷	1,7x10 ⁷	3,4x10 ⁷	4,0x10 ⁷	4,7x10 ⁷	1,2x10 ⁸	6,9x10 ⁹
(p)	8,1x10 ⁵	2,4x10 ⁴	1,0x10 ⁴	7,0x10 ³	2,7x10 ²	4,0x10 ¹	Ø	Ø	Ø
(k)	8,1x10 ⁵	1,0x10 ⁶	3,3x10 ⁶	6,0x10 ⁶	9,0x10 ⁶	1,6x10 ⁷	3,4x10 ⁷	8,5x10 ⁷	2,7x10 ⁸
3									
(p)	3,0x10 ⁵	2,4x10 ⁴	4,0x10 ³	1,0x10 ¹	1,0x10 ¹	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	3,0x10 ⁵	7,0x10 ⁵	1,2x10 ⁶	6,0x10 ⁶	5,0x10 ⁷	1,7x10 ⁷	2,8x10 ⁷	1,5x10 ⁸	1,0x10 ⁸
(p)	4,2x10 ⁵	2,0x10 ⁴	5,0x10 ³	3,2x10 ¹	1,2x10 ¹	Ø	Ø	Ø	Ø
(k)	4,2x10 ⁵	3,7x10 ⁵	1,0x10 ⁶	3,0x10 ⁶	6,3x10 ⁶	1,0x10 ⁷	1,0x10 ⁷	3,3x10 ⁷	5,7x10 ⁷
Ort. (p)	9,3x10⁵	3,9x10⁴	1,9x10⁴	1,8x10³	2,15x10²	2,0x10¹	-	-	-
Ort. (k)	9,3x10⁵	1,09x10⁶	2,2x10⁶	3,97x10⁶	2,18x10⁷	2,0x10⁷	5,98x10⁷	1,5x10⁸	13,57x10⁸

(p) = P(AAm/4VP-Q) + besiyeri+bakteri
(k) = bakteri+besiyeri
Ø = üreme yok
Ort. = aritmetik ortalama



Şekil 4.1 P(AAm/4VP-Q) kopolimerinin *S.aureus* ve *P.aeruginosa* suşlarını öldürme zamanı eğrisi

(S: canlı bakteri sayısı, ●: *S.aureus*+kopolimer, ●: *S.aureus* kontrol, ●: *P.aeruginosa*+kopolimer, ●: *P.aureus* kontrol)



Şekil 4.2 P(AAm/4VP-Q) polimerinin *E. coli* suşunu öldürme zamanı eğrisi

(S: canlı bakteri sayısı, ●: *E.coli*+kopolimer, ●: *E.coli* kontrol)

4.2.3. *P.aeruginosa*'yla ilgili sonuçlar:

P.aeruginosa ile p(AAm/4VP-Q) polimerin belirli etkileşme sürelerinde üreyen bakteri miktarları (CFU ml⁻¹) çizelge 4.3'te verildi. 0., 10., 30., 60. 90. dakikalarda bakterilerin giderek azalan miktarlarda olmak üzere canlı kaldığı (Çizelge 4.3), 120.dakikada; dört deneyde, bakterilerin az miktarlarda (25, 20, 37, 40 CFU ml⁻¹) ürediği , ikisinde üremediği, 180.dakikada sadece birinde (5 CFU ml⁻¹) üreme olduğu, 240 ve 360. dakikalarda ise bakterilerin canlı kalmadıkları bulundu.

Kontrol serilerinde, inkübasyon zamanı ilerledikçe, bakteri sayılarının da arttığı gözlemlendi. Son inkübasyon süresinde bakterilerin başlangıç miktarından 10³ düzeyde arttığı bulundu.

S.aureus için yapılan hesaplamalar *P.aeruginosa* için bulunan değerlere de uygulandı. Zamana karşı değişen aritmetik ortalamaların logaritmik değerleriyle, polimerin *P.aeruginosa* suşunu öldürme zamanı eğrisi çizildi (Şekil 4.1). Polimerin MBK değeri *S.aureus* ve *P.aeruginosa* için aynı (7.5 mg ml⁻¹) olduğu için her iki bakteriye ait veriler aynı grafikte gösterildi (Şekil 4.1). P(AAm/4-VP) kopolimerinin 60. dakikada *S.aureus*'u log10⁴ düzeyinde azaltırken, aynı sürede *P.aeruginosa* sayısını log10² düzeyinde azalttığı görüldü. *P.aeruginosa* sayısının 120. dakikada 10¹ düzeyine geldiği ve 180. dakikada canlı kalmadığı saptandı.

4.2.2. *E.coli*'yle ilgili sonuçlar:

E.coli suşuyla p(AAm/4VP-Q) polimerinin belirli etkileşme sürelerinde üreyen bakteri miktarları (CFU ml⁻¹) çizelge 4.2'de verildi. Buna göre; 0., 10., 30., 60. ve 90. dakikalarda bakterilerin giderek azalan miktarlarda olmak üzere canlı kaldığı, 120. dakikada bakterilerin üç deneyde üremediği, üçünde ise çok az miktarlarda (1-10 CFU ml⁻¹) ürediği, 120. dakikada, beş deneyde üremenin olmadığı, birinde ise üremenin 1 CFU ml⁻¹ olduğu, 180., 240. ve 360. dakikalarda ise bakterilerin üretilmediği gözlemlendi.

Kontrol serilerinde, inkübasyon zamanı ilerledikçe, bakteri sayılarının da arttığı gözlemlendi. Son inkübasyon süresinde bakterilerin başlangıç miktarından 10³ düzeyde arttığı bulundu.

S.aureus için anlatılan hesaplamalar *E.coli* için bulunan değerlere de uygulandı. Zamana karşı değişen aritmetik ortalamaların logaritmik değerleriyle, polimerin *E.coli* suşunu öldürme zamanı eğrisi çizildi (Şekil 4.2). P(AAm/4-VP) kopolimerinin 30. dakikada *E.coli* sayısını \log_{10}^2 düzeyinde azalttığı, 90.dakikada 10¹ düzeyine getirdiği, ve 180. dakikada bakterilerin tümünü öldürdüğü görüldü.

4.3. P(AAm/4VP-Q) polimerinin antibakteriyel etkinliği:

S.aureus, *E.coli* ve *P.aeruginosa*'nın polimerle etkileştirildiği her inkübasyon süresinde bulunan canlı bakteri sayılarının aritmetik ortalamalarıyla, kontrol deneylerinden elde edilen sonuçların aritmetik ortalamaları kullanılarak, polimerin her bakteri suşuna olan antibakteriyel etkinlik değerleri gereç ve yöntemde belirtilen formül kullanılarak hesaplandı. Bulunan değerlerin zamana karşı grafikleri çizildi.

Polimerin *S.aureus* ve *P.aeruginosa* olan antibakteriyel etkinliği (AE) aynı grafikte gösterildi (Şekil 4.3). Polimerin 10.dakikadaki *S.aureus*'a olan antibakteriyel etkinliğinin %98'e ulaştığı ve bu değer aynı sürede *P.aeruginosa* için bulunandan (%96,4) daha yüksek olduğu görüldü. *S.aureus* için 30.dakikada antibakteriyel etkinlik değeri %99'a, 180. dakika sonunda ise %100'e ulaştı. *P.aeruginosa* için de 30.dakikada %99 olan antibakteriyel etkinlik değeri 180.dakika sonunda %100 oldu.

E.coli'ye olan antibakteriyel etkinliği Şekil 4.4'te gösterildi. Polimerin 10. dakikada antibakteriyel etkinliği %93 dolayında bulundu, 30. dakika sonunda %99'a ulaşan değer, 180.dakika sonunda %100 olarak saptandı.

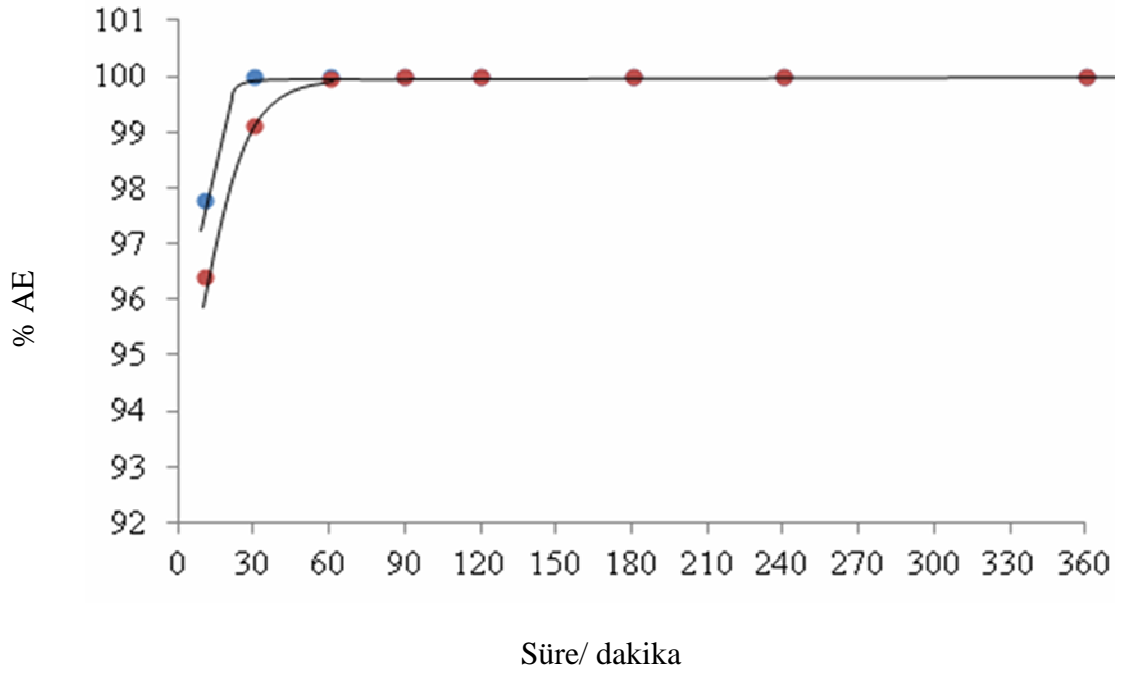
4.4. P(AAm/4VP-Q) polimerinin Bakterilere olan etkisinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

P(AAm/4VP-Q) polimerinin bakteriler üzerinde 10. dakikadan itibaren etkili olduğu bulundu. Polimerin MBK değeri *E.coli* için 2.5 mg ml⁻¹, *S.aureus* ve *P.aeruginosa* için 7.5 mg ml⁻¹ olarak bulunması nedeniyle, *S.aureus* ve *P.aeruginosa*'ya ait deney serilerinden elde edilen canlı bakteri sayıları (Çizelge 4.1, 4.3) istatistiksel olarak değerlendirildi. Buna göre, polimerle her iki bakterinin 0-60. dakikalara kadar olan temas sürelerindeki üreme sayıları karşılaştırıldığında, *S.aureus* ve *P.aeruginosa* için bulunan değerlerde farkın önemli olduğu ($p < 0.05$), *S.aureus* miktarının daha azaldığı

saptandı. Üreme olan ve olmayan deney serilerinin 90. dakikadaki durumları karşılaştırıldığında ise, *S.aureus*'un iki deneyde ürediği, *P.aeruginosa*'nın altı deneyde de ürediği, farklılığın önemli olduğu ($p < 0.05$) bulundu.

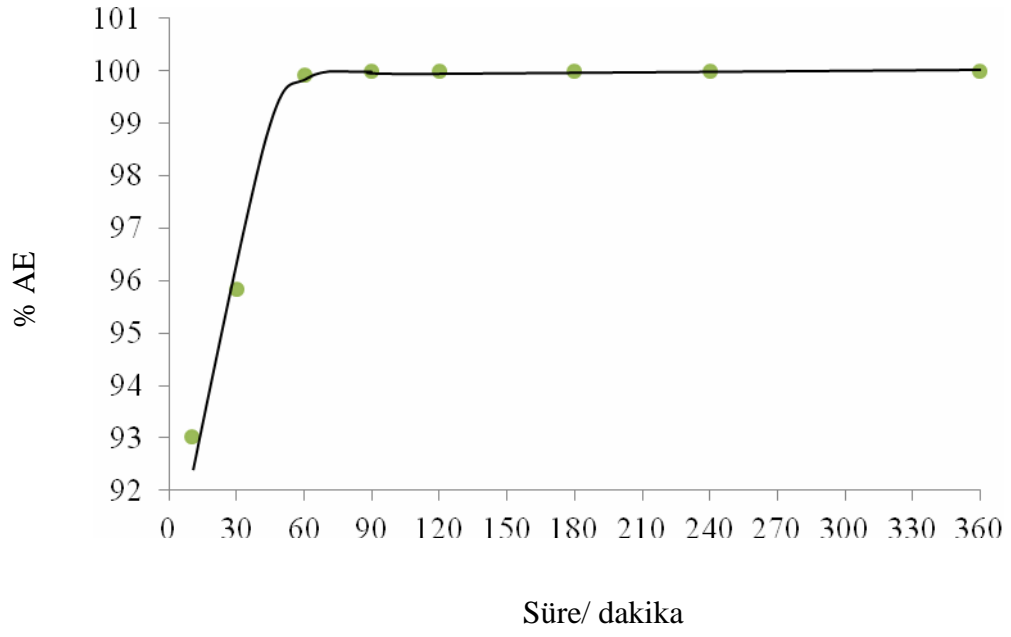
4.5. Agar Kuyucuk Deneyi Sonucu

Her üç bakteri suşu için ayrı ayrı yapılan agar kuyucuk testleri sonucunda p(AAm/4VP), p(AAm/4VP-Q) ve serum fizyolojik içeren kuyucukların etrafında inhibisyon zonu oluşmazken, amikasin diski etrafında belirgin bir inhibisyon zonu oluştu.



Şekil 4.3 P(AAm/4VP-Q) polimerinin *S.aureus* ve *P.aeruginosa* suşlarına karşı antibakteriyel etkinliği

(AE: Antibakteriyel etkinlik, ●:*S.aureus*, ●:*P.aeruginosa*)



Şekil 4.4 P(AAm/4VP-Q) polimerinin *E. coli* suşuna karşı antibakteriyel etkinliği

(AE: Antibakteriyel etkinlik, • :*E.coli*).

5. TARTIŞMA

Mikroorganizmaların ciddi enfeksiyonlara yol açmaları dünyanın her yerinde önemli bir problemdir ve insan sağlığını korumak için patojen mikroorganizmaların çeşitli alanlardan yok edilmesi gerekir. Bu nedenle kimyasal maddeler çeşitli alanların dezenfeksiyonunda, yiyeceklerin korunmasında, endüstriyel ve evsel atıklarda mikrobiyosit olarak kullanılmaktadır. Kimyasal mikrobiyositlerin küçük molekülü ve toksik etkili olmaları nedeniyle, günümüzde antimikrobiyal özellikteki polimerlerin bu amaçlar için kullanılmaları gündeme gelmiştir (3).

Antimikrobiyal polimerler sağlık alanında, hijyenik uygulamalarda çeşitli liflerin içine dahil edilebilir, steril bandaj ve elbise gibi biyomedikal alanlarda kullanılabilir. Bunlara örnek olarak antimikrobiyal ameliyat eldiveni üretimi veya antifungal özellikli giysilerin üretim çalışmaları gösterilebilir (3).

Antimikrobiyal polimerler diş hekimliğinde de kullanım alanı bulmuştur. Kompozit polimerik maddeler diş tedavilerinde sert dokuların yerine yaygın olarak kullanılır. Kompozit resinlere, antibiyotikler, gümüş iyonları, iyot ve kuaterner amonyum bileşikler gibi antibakteriyel etkenlerin dahil edildiği çalışmalar vardır. Bu etkenler buldukları yerde düzenli olarak salınırlar. Fakat salınım özelliği bazı dezavantajları getirir. Bu dezavantajlar, taşıyıcılarının zamanla mekanik özelliklerinin azalması, kısa süreli etkinlik göstermeleri, toksik etki yapma olasılıklarıdır. Konvansiyonel antibakteriyel etkenlerle polimerik antibakteriyeller karşılaştırıldığında, polimerik antibakteriyellerin uçucu olmamaları, kimyasal olarak stabil olmaları, deri yoluyla penetrasyonlarının zor olması gibi avantajları ortaya çıkar. Antibakteriyel özellik gösteren polikasyonların bakteri hücre zarını harap ettiği bildirilmiştir. Bu amaçla birkaç polimer geliştirilmiştir. Bunların içinde çözünen ve çözünmeyen pyridiniumlu polimerler geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, methacryloyloxydodecyl pyridinium bromür (MDPB) monomeri kompozit polimerlere dahil edilmiş ve monomerin dışarıya salınmadığı, antibakteriyel özelliği devam ettirdiği bildirilmiştir (31).

Beyth ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, kuterner amonyum polyethylenimine (PEI) nanopartikülleri diş kompozit rezinlerin içine dahil

edilmiştir. Bu polimerin antibakteriyel etkisi *S.mutans*'a karşı agar difüzyon testi, direkt temas testi ile araştırılmıştır. Rezin temelli malzemelere kuaterner amonyum PEI nanopartikülleri eklendiğinde, bu malzemenin kuvvetli antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur (32).

Diş hekimliğinde kompozit rezinlerde kullanılmak üzere 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromür (MDPB) polimeri geliştirilmiş ve oral streptokoklardan *S.mutans* üzerindeki antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. MDPB'nin resin temelli malzemelere dahil edildiğinde bakterisidal etki göstereceği bildirilmiştir. Bu malzemenin sitotoksik etkisi çalışılan derişimlerde bulunmamıştır (31).

Yapılan çalışmalarda, polimerlerin mol kütlesi polimer ve aktif yer arasındaki uzunluk, hidrofilik hidrofobik denge ve zıt iyonların yapısı gibi polimerlerin bazı yapısal özelliklerinin polimerlerin antimikrobial aktivitelerini ve etki mekanizmalarını etkileyen faktörler olduğu bildirilmiştir. Çözünmeyen antimikrobiyal polimerler ortama toksik madde salmadan mikroorganizmaları inaktive ederek öldürebilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda çözünmeyen özellikte olan yeni sentezlenmiş kopolimerler seçilmiştir (27).

Şimdiye kadar kuaterner amonyum, poliyot ve piridinium tipte olmak üzere antimikrobiyal özellikte polimerler sentezlenmiş ve bazı mikroorganizmalara etkileri araştırılmıştır. Farklı kuaterner amonyum gruplarını içeren çözünmeyen polimerlerin sentezlendiği ve bunların antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, polimerlerin 0.5g'ı serum fizyolojik içinde *S.aureus*'la etkileştirilmiştir. Etkileşme süresi 120 dakika olmak üzere belirli aralıklarda karışımdan alınan örneklerin ekimi yapılarak bakterinin canlılık miktarları belirlenmiştir. Bu çalışmada amonyum gruplarının etkinliğinin alkil uzunluğunun artmasıyla fazlaştığı bildirilmiştir. Alkil zincirinin uzun olması kuaterner grubun hidrofobik özelliğini arttırdığı ve bakterilerin sitoplazma zarıyla ilişkisinin kuvvetlendiği öne sürülmüştür. Polimerin 30 dakika içinde *S.aureus* sayısını 10^3 hücre ml^{-1} azalttığı bildirilmiştir (24).

Çalışmamızda p (AAm/4VP-Q) kopolimerinin MBK değeri *S.aureus* için 7.5 mg ml^{-1} olarak saptanmış, 30 dakika içinde bakteriyi $log10^3$ düzeyinde azalttığı

görülmüştür. Kullandığımız kopolimerin miktarı, Jiang ve arkadaşlarının denediği, *S.aureus*'u etkileyen polimer miktarından çok daha düşük olması nedeniyle, p (AAm/4VP-Q) kopolimerinin bakterisidal etkisinin daha iyi olduğu söylenebilir (24).

Kenawy ve arkadaşları, çapraz bağlayıcı olarak divinilbenzen (DVB)'i kullanarak vinilbenzen klorürün (VBC) hem 2-kloroetil vinil eter (CEVE) hem de metilmetakrilat (MMA) ile çapraz bağlı kopolimerlerini sentezlemişlerdir. Çapraz bağlı bu polimerleri trifenilfosfin ve trietilaminle kuaternize ederek modifikasyon işlemi uygulamışlardır. Modifiye edilen kopolimerlerin çeşitli mikroorganizmalara antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Polimerlerle mikroorganizmalar katı besiyerlerinde etkileştirilmiş, içinde mikroorganizma bulunan katı besiyerlerine kuyucuklar açılarak bu kuyucuklara polimerler doldurulmuş ve inkübasyondan sonra polimerler etrafında inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Kopolimerlerin antimikrobiyal etkinliklerinin olduğu bulunmuş, trifenilfosfonyum tuzu bulunan modifiye kopolimerin bakteri ve mantar türlerine etkinliğinin en iyi olduğu, *S.aureus* suşlarının ise tamamını öldürmediği bildirilmiştir (3).

Bazı araştırmacılar süper adsorbant özellikli polimerlere düşük molekül kütleli antibakteriyel etkenler ilave ederek yeni polimerler sentezlemişlerdir. Böylece bu çalışmalar yeni jenerasyon süper adsorbant özellikli antibakteriyel polimerlerin geliştirilmesi temelini sağlamıştır. Li ve arkadaşları, akrilik asit (AA), akrilamid (AM), N,N'-dimetil-N-etilmetakriloksietilamonyumbromür (DMAEA-EB)'nin amfoterik terpolimerlerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen P(AA-AM-(DMAEA-EB))'nin *E.coli*, *S.hyicus*'a antibakteriyel etkinliği araştırılmıştır. Bakterilerle polimerler serum fizyolojik içinde karşılaştırılmış, polimerin 0.1 g'ı 30 dakikada *E.coli*'nin %96.6'sını ve *S.hyicus*'un %90.3'ünü öldürdüğü bulunmuştur. DMAEA-EB'nin poliamfolitik hidrojellerin antibakteriyel etkisinde önemli rol oynadığı, DMAEA-EB'nin %2 mol olduğunda polimerin antibakteriyel etkinliğinin en yüksek olduğu, DMAEA-EB'nin miktarı arttığında antibakteriyel etkinliğin azaldığı bulunmuştur (30).

Çalışmamızda p (AAm/4VP-Q) kopolimerinin 7.5 mg ml⁻¹'i *S.aureus*'un, 2.5 mg ml⁻¹'i, *E.coli*'nin %99'unu öldürdüğü bulunmuştur (Şekil 4.4). Bu kopolimerin

antibakteriyel etkinliği, Li ve arkadaşlarının P(AA-AM-(DMAEA-EB)) polimeri için bildirdikleri antibakteriyel etkinlikten daha iyidir (30).

Günümüze kadar çok sayıda ve değişik yapıda geliştirilen antimikrobiyal polimerlerin bazılarının antimikrobiyal etkisi olduğu bildirilmiştir (33, 34). 4-vinil piridin (4-VP) ortama bağlı olarak hidrofilik ve hidrofobik denge, amfoterik yapıya sahiptir. Değişebilen pozitif yük pyridin halkasındaki azot atomuna bağlıdır. 4-VP koloidal partikül kompozitler dizayn etmek için istisnai bir araçtır. Yapılan bir çalışmada, polimerik 4-VP partikülleri farklı miktarlarda etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) kullanarak mikroemülsiyon sisteminde sentezlenmiştir. Daha sonra gümüş ve bakır iyonlarını içeren 4-VP nanopartikülleri hazırlanmış ve bunların *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, *E.coli*'ye antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. LB buyyonu içeren tüplerde 5×10^5 CFU ml⁻¹ bakteri süspansiyonuyla farklı miktarlardaki (2-10 mg) polimerler 18-24 saat 35°C'da etkileştirilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplerden alınan örnekler LB agara ekilerek canlı kalan bakterilerin üremesi sağlanmıştır. Polimerlerin MİK ve MBK'ları saptanmıştır. P(4-VP), p(4-VP)-bromoethan, p(4-VP)-bromobütan, p(4-VP)- bromoetilamin polimerlerinin çalışılan konsantrasyonlarda antibakteriyel etkileri gözlenmemiştir. p(4-VP)-HCl, p(4-VP)-2-bromoetilamin-HCl, p (4-VP)-Ag ve p (4-VP)-Cu polimerlerinin antibakteriyel etkili oldukları bulunmuştur. Çalışmada tüm polimerlerin bakterisidal etkili olmadığı saptanmıştır. P(4-VP) partiküllerinin özellikle pozitif yüklü formlarının antibakteriyel oldukları bulunmuştur. *E.coli*'ye sadece p(4-VP)-2-bromoetilamin-HCl polimerinin etkili olduğu bildirilmiştir. Gümüş içeren polimerin antibakteriyel etkisinin bakır içerenenden daha fazla olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak polimerik kompozit nanopartiküllerin biosidal etkili yüzeylerin geliştirilmesinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (6).

Çalışmamızda da, radyasyon yöntemiyle hazırlanmış p(AAm/4VP) ve p(AAm/4VP-Q) kopolimerlerinin *S.aureus*, *E.coli* ve *P.aeruginosa*'ya etkileri dilüsyon yöntemiyle araştırılmış, p(AAm/4VP) polimerinin çalışılan konsantrasyonlarda bakterilere etki etmediği, p(AAm/4VP-Q) kopolimerinin antibakteriyel etkisinin olduğu bulunmuştur. Bu sonuç, üretilen her polimerin antimikrobiyal etkisinin olmayabileceğini göstermesi açısından önemlidir. Ayrıca,

çalışmamızda p(AAm/4VP-Q) kopolimerinin bakteriyel etkisinin bulunması, bu özelliği kopolimere kuaterner amonyum grubunun sağladığını göstermiştir.

Su ve Sun yeni bir vinil hidantoin monomeri olan 3-(4'-vinilbenzil)-5,5-dimetilhidantoin sentezlemişlerdir. Bu monomerin homopolimeri ve vinil asetat, akrilonitril ve metil metakrilat gibi akrilik ve vinil monomerleriyle kopolimerlerini oluşturmuşlardır. Kopolimerlerin halojenlenmiş ürünlerinin *E.coli*'ye karşı kuvvetli antibakteriyel olduğu bildirilmiştir (35).

Ana zincirde veya yan zincirlerinde kuaterner amonyum gruplarını içeren polimerlerin katyonik antibakteriyellere dirençli olan bakterileri öldürebildikleri bulunmuştur. Lu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, benzil klorür (BC), bütül bromür (BB), dodesil bromür (DB), heksadesil bromürle (HB) dimetilaminoetil metakrilat (DMAEMA) kuaternizasyonu ile dört kuaterner amonyum tuz monomeri sentezlenmiştir. Daha sonra monomerlerden farklı uzunlukta alkil zincirli dört polimerik kuaterner amonyum materyali elde edilmiştir. Monomer ve polimerlerin *S.aureus* ve *E.coli*'ye etkileri araştırılmış, MBK'ları saptanmıştır. *E.coli* için DMAEMA-DB monomerinin MBK değeri $24 \mu\text{g ml}^{-1}$, DMAEMA-HB monomerinin MBK değeri $12 \mu\text{g ml}^{-1}$, *S.aureus* için her iki monomerin MBK değeri $12 \mu\text{g ml}^{-1}$ bulunmuştur. Her iki suş için DMAEMA-BC ve DMAEMA-BB monomerlerinin MBK değerleri ise, $50 \mu\text{g ml}^{-1}$ 'den yüksek saptanmıştır. Monomerlerin alkil zincirindeki karbon atomlarının sayısının bakteriyel aktiviteyle ilişkili olduğu bildirilmiştir. Daha uzun alkil zinciri olan polimerin bakteriyel aktivitesi daha fazla bulunmuştur. Bu sonuçların daha önceki çalışmalarla uyumlu olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, DMAEMA-BC ve DMAEMA-BB polimerlerinin bakteriyel etkilerinin monomerlerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durumun polimerizasyondan sonra kuaterner amonyum tuzlarının bakteriyel aktivitesini uzun hidrofobik zincirin artırmasıyla olduğu söylenmiştir. DMAEMA-DB ve DMAEMA-HB polimerleri ise, monomerlerinden daha düşük bakteriyel aktivite göstermişlerdir. Monomerlerinden daha düşük aktivite göstermeleri, polimerlerin suda çözünmemesi nedeniyle antibakteriyel özellikteki gruplarının bakterilerle etkileşiminin zor olmasına bağlanmıştır. Aynı çalışmada polimer ve monomerlerin antibakteriyel etkileri katı besiyerlerinde araştırılmıştır. Nutrient agar yüzeyine bakteri süspansiyonu yayılmış

ve açılan kuyucuklar içine 10 mg polimer ve monomerler eklenerek plaklar inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda inhibisyon zon çapları ölçülerek değerlendirilmiştir. *S.aureus* ve *E.coli* bulunan plaklarda DMAEMA-DB ve DMAEMA-HB polimerleri etrafında hiç inhibisyon zonu bulunmazken, bu maddelerin monomer formlarında inhibisyon zonları oluşmuştur. DMAEMA-BC ve DMAEMA-BB etrafında ise belirli bir inhibisyon zonu gözlenmiştir. Oysa ki bu polimerlerin sıvı ortamda bakterisidal etkileri çok az olmuş veya hiç saptanmamıştır (36).

Çalışmamızda da p(AAm/4VP-Q) kopolimerinin *S.aureus* ve *P.aeruginosa* için MBK değeri 7.5 mg ml^{-1} , *E.coli* için 2.5 mg ml^{-1} olarak saptanmıştır. Lu ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi, bir polimerin farklı bakterilere etkisinin aynı olmayacağı, MBK değerlerinin değişeceği sonucu bulunmuştur.

Ayrıca çalışmamızda, p(AAm/4VP-Q) kopolimerinin bakterisidal etkisi katı besiyerleriyle yapılan difüzyon deneylerinde saptanamamış, polimerlerin etrafında inhibisyon zonu görülemediği. Lu ve arkadaşları sıvı ortamda bakterilere etkili olan bazı polimerlerin katı ortamda etkilerinin saptanmadığını bildirmişlerdir. Bu nedenle, polimerlerin antibakteriyel etkilerinin araştırılmasında kullanılan yöntemlerin çok önemli olduğu, difüzyon ve dilüsyon yöntemlerinin birlikte kullanılmasının daha doğru sonuçların alınmasını sağlayacağı düşünülmüştür. P(AAm/4VP-Q) kopolimerinin çözünmeyen özellikte olması nedeniyle katı ortamda difüze olmadığı için gözle görülür bir inhibisyon çapını oluşturmadığı sonucuna varılmıştır (36).

Hu ve arkadaşları, poli (4-vinil piridin) ve poli (vinil florür) karışımından küresel yapılı mikroboncuklar hazırlamışlar ve daha sonra bunları 4-10 karbon atomlu alkil bromürlerle türevlendirmişlerdir. Piridinum içinde piridin gruplarının kuaternize edilmesiyle uzun süreli ve oldukça etkili antibakteriyel ve antifungal özellikli yüzey oluşturulduğunu bildirmişlerdir. Vinil piridin ve alkil bromür eklenmiş türevlerin *E.coli* ve *Aspergillus niger*'e etkileri araştırılmıştır, 400 mg altı karbonlu küreciklerin 20 dakika içinde *E.coli*'leri öldürdüğü belirlenmiştir. Fakat piridinum gruplarının *A.niger* sporlarına etkisi *E.coli*'ye olan etkilerinden daha az olmuştur. Bu durumun mantarların hücre duvarlarının, bakterilerin hücre duvarlarından farklı olmasına bağlanmıştır. Mantarların hücre duvarının glukan, manan ve kitin içerdiği, bu nedenle pridinium gruplarının hücre içine

penetrasyonunun zorlaştığı ve mantar sporlarının *E.coli*'lerden daha hidrofobik yapıya sahip oldukları bildirilmiştir. Aynı çalışmada farklı zincir uzunluklarına sahip (C4, C6, C10) alkilenmiş mikroküreciklerin antifungal etkinlikleri de karşılaştırılmıştır. C10 zincirine sahip olanlar mantar sporlarına daha etkili olmuşlardır. Sonuç olarak, pridin gruplarının alkil bromürlerle kuaternize edilmesiyle elde edilen mikroküreciklerin antibakteriyel ve antifungal etkilerinin olduğu, 4-10 karbonlu alkil taşıyan pridinium gruplarının *E.coli*'ye daha etkili olduğu, buna karşı 10 karbon atomlu hidrofobik zincirli olanların mantar hücre duvarını harap ettiği bildirilmiştir (37).

Çalışmamızda, p(AAm/4VP-Q) kopolimerinin antibakteriyel etkisi saptanırken, *C.albicans*'ı etkilemediği bulunmuştur. Polimerin 7.5 mg ml⁻¹ konsantrasyonu bakterileri öldürmüştü, 50 mg ml⁻¹ konsantrasyonu ise *C.albicans* hücrelerini etkilememiştir. Bu sonuç Hu ve arkadaşlarının mantar hücrelerinin pridinium gruplarına daha dirençli olduğu bulgusunu desteklemektedir. Çalışmamızda p(AAm/4VP-Q) polimerinin *C.albicans*'ı etkilememesi *Candida*'ların hücre duvarı yapısının bakteri hücre duvarı yapısından daha farklı olmasına, kitin, glukon, manan gibi ek molekülleri içermesi nedeniyle kopolimerle etkileşmemesine bağlanabilir.

Sonuç olarak; p(AAm/4VP-Q) kopolimerinin bakterisidal olduğu, bakterilerle 10. dakikadaki etkileşme süresinde antibakteriyel etkinlik değerinin %93-98'e ulaştığı ve 180.dakikada bakterilerin tümünü öldürdüğü saptandı. Böylece, p(AAm/4VP-Q) kopolimerinin antibakteriyel etkisinin oldukça iyi olduğu, çeşitli alanlarda antibakteriyel kopolimer olarak kullanılabilme kapasitesinin bulunduğu ortaya çıkarıldı.

6. KAYNAKLAR

1. Bilgehan H, Klinik Mikrobiyolojik Tanı, Fakülteler Kitabevi, İzmir, 2009.
2. Nicholson J. W, The Chemistry of Polymers Third Edition, The Royal Society of Chemistry, İngiltere, 376p. 2006.
3. Kenawy El-R, Abdel-Hay FI, El-Magd AA, Mahmoud. Biologically active polymers: VII. Senthesis and antimicrobial activity of some crosslinked copolymers with quaternary amonium and fosfonium groups. Reactive Functional Polymers 66 (2006) 419-429. cut plug
4. Tubitak Bilim ve Teknik Dergisi, Temmuz 2002.
5. Wang S, Li Y, Li J, Du J, Bai J, Yang Q, Chen X, Fabrication and Characterization of CdTe Nanoparticles Attached to Poly(4-vinylpyridine) Nanofibers, Journal of Applied Polymer Science, 108, 281 – 286, 2008.
6. Ozay O, Akçalı A, Otkun Tatman M, Silan C, Aktaş N, Sahiner N: P(4-P) based nanoparticles and composites with dual action as antimicrobial materials. Colloids and SurfacesB: Biointerfaces 79, 460-466, 2010.
7. Campbell N A, Reece J B, Biyoloji, Sixth Edition, Benjamin Cummings-Pearson Education, 2006.
8. Uçar F, Tamer A Ü, Yaşa İ, Koçyiğit A, Prokaryotik Çeşitlilik, İzmir Güven Kitabevi, 2007.
9. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Editör: Ustaçelebi Ş., Güneş Kitabevi, Ankara, Vural T: Bakterilerin Yaşam Siklusu ve Üremelerinin Kontrolü, S: 34 – 44, 1999.
10. Madigan M T, Martinko J M, Dunlap P V, Clark D P, Biologiy of Microorganisms, Twelfth Edition, Benjamin Cummings, 2009.
11. Unat E. K, Temel Mikrobiyoloji, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayın No: 207, İstanbul, 1997.
12. Brooks G F, Carrol K C, Butel J S, Morse S A, Tıbbi Mikrobiyoloji, 2010.
13. Gıda Maddelerinde *Salmonella* ile *E.coli* Aranma ve Sayılma Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Proje No 92111201.
14. Erkoç F, Türkmenoğlu F, Enterobacteriaceae Genel Özellikleri, Gazi Eğitim Fakültesi, Ankara, 2007.

15. Poyraz Ö, Genel ve Özel Tıbbi Mikoloji, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, Sivas, 2006.
16. Bowman S M, Free S J, The Structure and Synthesis of the Fungal Cell Wall, 2006.
17. Textbook of Diagnostic microbiology Third Edition, Mahon C. R, Donal C. L, Manuselis G, Special Antimicrobial Susceptibility Tests, S:358, 2007.
18. Kenawy El-R, Abdel-Hay FI, El-Magd AA, Mahmoud. Biologically active polymers: VII. Synthesis and antimicrobial activity of some crosslinked copolymers with quaternary ammonium and phosphonium groups. Reactive Functional Polymers 66, 419-429, 2006.
19. Değişik Desteklere Tutuklanmış Maya Hücrelerinin Etil Alkol Üretiminin Araştırılması, Cumhuriyet Üniversitesi Araştırma Fonu F-76 Numaralı Proje, 2001.
20. Saçak M, Polimer Kimyası, Gazi Kitabevi, Ankara, 2002.
21. Braun D, Cherdron H, Rehahn M, Ritter H, Voit B, Polymer Synthesis: Theory and Practice Fundamentals, Methods, Experiments, Springer Berlin Heidelberg New York, Almanya, 2005.
22. Chauhan G S, Singh B, Dhiman S K, Functionalization of Poly(4-vinyl pyridine) Grafted Cellulose by Quaternization Reactions and a Study on the Properties of Postquaternized Copolymers, Journal of Applied Polymer Science, 91, 2454 – 2464, 2004.
23. Timofeeva L, Kleshcheva N, Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity, and applications. Appl microbiol biotechnol 89: 475 – 492, 2011.
24. Jiang S, Wang L, Yu H, Chen Y. Preparation of crosslinked polystyrenes with quaternary ammonium and their antibacterial behavior. Reactive Functional Polymers. 62 (2005) 209-213.
25. Davison G, Lane B, Additives in Water-borne Coatings, The Royal Society of Chemistry, İngiltere, 88p, 2003.
26. Karsa, D. R., ve Ashworth, D., Industrial Biocides Selection and Application, The Royal Society of Chemistry, İngiltere, 168p, 2002.

27. Kenawy El-R, Worley S D, Broughton R, The Chemistry and Applications of Antimicrobial Polymers: A State-of-the-Art Review, American Chemical Society, Vol 8, Number 5, 2007.
28. Attendrick D, Krenz M, Balows, A., Ed. Reagent and Strains, Washington: ACM, Manuel of Clinical Microbiology Fifth Ed. 148p, 1991.
29. Barchiesi F., Spreghini E, Maracci M, Fothergill A W, Baldassari I, Rinaldi M G, Scalise G, In Vitro Activities of Voriconazole in Combination with Three Other Antifungal Agents Against *Candida glabrata*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, p3317 – 3322, 2004.
30. Li X, Dong Q, He P, Synthesis and Water Absorbency of Polyampholytic Hydrogels with Antibacterial Activity, Journal of Applied Polymer Sciences, Vol 112, p439 – 446, 2009.
31. Imazato S, Ebi N, Tarumi H, Russell RRB, Kaneko T, Ebisu. Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. Biomaterials 20 (1999) 899-903.
32. Beyth N, Yudovin-Farber I, Bahir R, Domb AJ, Weis EI. Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. Biomaterials 27, 3995-4002, 2006.
33. Worley S D, Sun G, Biocidal Polymers, TRIP, 4, 11, 364 – 370, 1996.
34. Nonaka T, Noda E, Kurihara S. Graft copolymerization of vinyl monomers bearing positive charges or episulfide groups onto loofah fibers and their antibacterial activity. Journal of Applied Polymer Science Vol 77, 1077-1086, 2000.
35. Sun Y, Sun G. Durable and refreshable polymeric N-halamine biocides containing 3-(4'-vinylbenzyl)-5,5-dimethylhydantoin. Journal of polymer science: Part A: Polymer Chemistry, 39, 3348-3355.
36. Lu G, Wu D, Fu R, Studies on the synthesis and antibacterial activities of polymeric quaternary ammonium salts from dimethylaminoethyl methacrylate. Reactive Functional Polymers. 67, 355-366, 2007.

37. Hu FX, Neoh L, Cen L, Kang ET. Antibacterial and antifungal efficacy of surface functionalized polymeric beads in repeated applications. *Biotechnology and bioengineering* vol 89 (4), 474-484, 2005.