

**ANTİBİYOTİK DİRENÇ TAYİNİ İÇİN
NANOKRİSTAL PLATFORMLAR
GELİŞTİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Özlem KALABAK

Eskişehir, 2017

**ANTİBİYOTİK DİRENÇ TAYİNİ İÇİN NANOKRİSTAL PLATFORMLAR
GELİŞTİRİLMESİ**

Özlem KALABAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Mayıs, 2017

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özlem Kalabak'ın “ Antibiyotik Direnç Tayini İçin Nanokristal Platformlar Geliştirilmesi” başlıklı tezi .../.../2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Analitik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Ünvanı-Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

.....

Üye : Prof.Dr. Ebru BİRLİK ÖZKÜTÜK

.....

Üye : Yard. Doç. Dr. Özlem BİÇEN ÜNLÜER

.....

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

ANTİBİYOTİK DİRENÇ TAYİNİ İÇİN NANOKRİSTAL PLATFORMLAR GELİŞTİRİLMESİ

Özlem KALABAK

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mayıs, 2017

Danışman: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Bu çalışmanın ana amacı; beta-laktam antibiyotik direnci geliştirmiş bakterilerin teşhisi için, ilgili enzimlere seçici antikorların kararlı bir şekilde dekore edildiği ve önderiştirme özelliği de barındırabilecek akıllı nanopartikül sistemleri geliştirmek ve spektroskopik yöntemlerle analizlerini yapmaktır.

Günümüzde halk sağlığı açısından enfeksiyon hastalıkları oldukça önemli ve erken tanı sağlandığında uygun bir antibiyotik tedavi ile genellikle tedavide başarının sağlandığı bir sınıftır. Bununla birlikte enfeksiyon hastalıkları gereksiz antibiyotik kullanımı, yanlış antibiyotik seçimi, yanlış doz ve/veya yol nedeni ile tedavi edilememekte ve sonuçta hasta kaybedilmektedir. Bunun yanında bir viral enfeksiyonda antibiyotik kullanımı gibi akılcı olmayan yaklaşımlar sonunda mikroorganizmalar antibiyotiklere direnç kazanmakta ve ekonomi açısından zarar ortaya çıkmaktadır.

Bu temel bilgiden hareketle yapılan çalışmada; yüzeylelerinde beta-laktamaz tanısı için anti-beta-laktamaz antikorların immobilize edildiği CdSe/ZnS nanokristaller sentezlenmiştir. Hazırlanan nanopartiküllerin karakterizasyonunun ardından antibiyotik direnci geliştirmiş bakterilerin tükürük, kan gibi vücut sıvılarında artışına neden olduğu beta-laktamaz enzimleri tayin edilerek uygun bakteri-antibiyotik kullanımının ve antibiyotik direnç tayininin ortaya konması sağlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Nanokristaller, Kuantum nokta, Floresans, Antibiyotikler, Antibiyotik Direnci

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF NANOCRYSTAL PLATFORMS FOR ANTIBIOTIC RESISTANCE DETERMINATION

Özlem KALABAK

Department of Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Sciences, May, 2016

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel Emir DİLTEMİZ

The main purpose of this study is; development of intelligent nanoparticle systems and spectroscopic methods for the diagnosis of bacteria that have developed antibiotic resistance to beta- lactam antibiotics, which can be stable decorated with selective enzymes to the relevant enzymes and also contain pre-compromising properties.

Today, infectious diseases are very important in terms of public health and it is a class where successful treatment is usually achieved with an appropriate antibiotic treatment when it is diagnosed early. However, infectious diseases cannot be treated with unnecessary antibiotic use, wrong antibiotic selection, wrong dose and / or cause and eventually the patient is lost. In addition, unreasonable approaches such as the use of antibiotics in a viral infection, microorganisms gain resistance to antibiotics and occurs the economical loss.

From this basic knowledge forth; CdSe / ZnS nanocrystals were synthesized in which anti-beta-lactamase antibodies were immobilized on their surfaces for the detection of beta-lactamase. Following the characterization of the prepared nanoparticles, beta-lactamase enzymes, which cause the increase of antibiotic resistance in the body fluids such as saliva and blood have been determined and appropriate antibiotic resistance and bacterial antibiotic usage have been determined.

Keywords: Nanocrystals, Quantum dots, Fluorescence, Antibiotics, Antibiotic Resistance

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu çalışmanın hazırlanmasında, beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, eğitim hayatımda olduğu kadar özel ilişkilerde de desteğini eksik etmeyen danışman hocam Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ'e teşekkür ederim.

Tüm araştırma ve deneysel sürecim boyunca tecrübeleri ve bilgi birikimleriyle yardım ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Rıdvan SAY, Prof. Dr. Arzu ERSÖZ, Prof. Dr. Deniz HÜR'e ve Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışan tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zor durumda yardıma koşan, yanımda olduklarını hep hissettiren değerli arkadaşlarım Fatma DUMAN, Özlem YAVUZ, Sevgi MİL ve Kardelen ECEVİT'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca tüm eğitim ve öğretim sürecimde arkamda olan, güvenini hep hissettiren, maddi manevi desteğini esirgemeyen babam Rıdvan KALABAK, annem Sevim KALABAK, canım kardeşim Esra KALABAK' a ve eşim Ulaş KARATAŞ'a çok teşekkür ederim.

Özlem KALABAK

Mayıs, 2017

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

.....

Özlem KALABAK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Nanoteknoloji.....	4
2.1.1. Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi	6
2.1.2. Nanokristal üretim yöntemleri	8
2.1.2.2. Hidrojen redüksiyonu yöntemi	11
2.1.2.3. Asal gaz yoğunlaştırma yöntemi	11
2.1.2.4. Mikroheterojen sistemler yardımıyla nanopartikül eldesi.....	11
2.1.2.5. Alev sentezi ile nanopartikül eldesi.....	12
2.1.2.6. Mekanik aşındırma ile nanopartikül eldesi	12
2.1.2.7. Ultrasonik sprey piroliz ile nanopartikül eldesi	12
2.1.3. Kuantum noktalar ve nanokristaller	13
2.2. Antibiyotikler	18
2.2.1. Antibiyotikler ve tarihçesi.....	19
2.2.2. Antibiyotiklerin sınıflandırılması.....	21

2.2.2.1.	Etki güçlerine göre antibiyotiklerin sınıflandırılması....	23
2.2.2.2.	Etki mekanizmalarına göre antibiyotiklerin sınıflandırılması	23
2.2.3.	Beta- laktam grubu antibiyotikler	26
2.2.3.1.	Penisilinler.....	28
2.2.3.2.	Doğal penisilinler	28
2.2.3.3.	Aminopenisilinler	29
2.2.3.4.	Karboksipenisilinler	29
2.2.3.5.	Üreidopenisilinler	30
2.2.3.6.	Penisilinaza dirençli penisilinler (Antistafilokoksik penisilinler).....	30
2.2.3.7.	Sefalosporinler	31
2.2.3.8.	Monobaktamlar	34
2.2.3.9.	Karbapenemler	35
2.2.3.10.	Beta- laktam/ beta- laktamaz inhibitör kombinasyonları	37
2.2.4.	Beta-laktamaz yapısı ve sınıflandırılması.....	39
2.3.	Floresans Spektroskopisi	42
2.3.1.	Floresansı etkileyen faktörler	45
2.3.2.	Floresans rezonans enerji transferi (FRET)	46
2.3.3.	Floresans spektrometre	49
3.	MATERYAL METOD	51
3.1.	Materyal	51
3.1.1.	Kullanılan kimyasal maddeler	51
3.1.2.	Kullanılan cihazlar	51
3.2.	Metod	52
3.2.1.	CdSe/ZnS nanokristallerinin sentezlenmesi.....	52
3.2.2.	Nanokristallerin yıkanması ve saklanması.....	54
3.2.3.	CdSe/ZnS nanokristallerinin karakterizasyonu	54

3.2.3.1. CdSe/ZnS nanokristallerinin TEM görüntüleri	54
3.2.3.2. Zetasizer ile boyut ölçümü	56
3.2.3.3. CdSe/ZnS nanokristallerinin optik özellikleri	57
3.2.3.6. Nanokristallerin 3-MPA modifikasyonu ile ligand değişimi ve suda çözünürleştirilmesi	61
3.2.4. Nanokristallerin anti-betalaktamaz antibadi ile biyokonjugasyonu	62
3.2.5. Beta- laktamaz tayini için kalibrasyon grafiği elde edilmesi.....	63
3.2.6. Anti Beta-laktamaz konjuge nanokristallerin nicel analizi için validasyon analizi.....	64
3.2.6.1. Standart sapma	65
3.2.6.2. Mutlak standart sapma (RSD)	65
3.2.6.3. Gözlenebilme sınırı (LOD).....	66
3.2.6.4. Çalışma sınırı (LOQ).....	66
3.2.7. Gerçek numune analizi	66
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER.....	69
KAYNAKÇA.....	75
ÖZGEÇMİŞ	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Farklı yapıların boyutlarını gösteren görsel.....	5
Şekil 2.2. Nanoteknolojinin Dört Evresi.....	6
Şekil 2.3. Farklı nanomalzeme şekilleri.....	8
Şekil 2.4. Nanopartikül üretiminde kullanılan yaklaşımlar	9
Şekil 2.5. Nanopartiküllerin başlangıç fazına göre üretim yöntemleri.....	10
Şekil 2.6. İletken, yarıiletken ve yalıtkan malzemelerin enerji bant aralıkları.....	14
Şekil 2.7. Çapı artan gold nanopartiküllerin renklerdeki değişim	16
Şekil 2.8. Antibiyotiklerin sınıflandırılması	22
Şekil 2.9. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları.....	26
Şekil 2.10. Beta- laktam halkası	27
Şekil 2.11. Çeşitli beta- laktam grubu antibiyotikler	27
Şekil 2.12. Penisilin G	28
Şekil 2.13. Penisilin V	29
Şekil 2.14. Amoksisilin.....	29
Şekil 2.15. Sefalotin.....	31
Şekil 2.16. Sefazolin	32
Şekil 2.17 Sefoksitin	32
Şekil 2.18. Sefmetazol	33
Şekil 2.19. Sefepim.....	34
Şekil 2.20. Aztreonam	35
Şekil 2.21. İmipenem	36
Şekil 2.22. Meropenem.....	36
Şekil 2.23. Klavulanik Asit.....	38
Şekil 2.24. Tazobaktam	38
Şekil 2.25. Sulbaktam	38
Şekil 2. 26. Jablonski diagramı.....	43
Şekil 2.27. Temel ve uyarılmış haller	44
Şekil 2.28. FRET gözlenmediğinde floresans emisyon spektrumu	47
Şekil 2.29. FRET varlığında floresans emisyon spektrumu	47
Şekil 2.30. Jablonski diyagramında verici ve alıcı gruplar arasındaki FRET geçişleri ..	48

Şekil 2.31. Floresans spektrometresinin şematik gösterimi.....	50
Şekil 3.1. Sentezlenen nanokristaller. (a) CdSe, (b) CdSe/ZnS.....	53
Şekil 3.2. CdSe/ZnS nanokristali sentez basamakları.....	53
Şekil 3.3. CdSe/ZnS nanokristalinin TEM görüntüsü (60000 büyütme).....	54
Şekil 3.4. CdSe/ZnS nanokristalinin TEM görüntüsü (200000 büyütme).....	55
Şekil 3.5. CdSe/ZnS nanokristalinin TEM görüntüsü (200000 büyütme).....	55
Şekil 3.6. CdSe/ZnS nanokristalinin TEM görüntüsü (200000 büyütme).....	56
Şekil 3.7. CdSe/ZnS nanokristalleri için boyut dağılımı	57
Şekil 3.8. CdSe nanokristali için UV spektrumu taraması	57
Şekil 3.9. CdSe/ZnS nanokristali için UV spektrumu taraması.....	58
Şekil 3.10. CdSe çekirdeği için floresans tarama spektrumu	59
Şekil 3.11. CdSe nanokristalinin floresans spektrumu.	59
Şekil 3.12. CdSe/ZnS nanokristali için floresans tarama spektrumu.....	60
Şekil 3.13. CdSe/ZnS nanokristali için floresans spektrumu.....	60
Şekil 3.14. Nanokristallerin 3-MPA modifikasyonu ile ligand değişimi ve suda çözünürleştirilmesi sonrası floresans tarama spektrumu	61
Şekil 3.15. Yüzeyleri 3- MPA ile modifiye edilen CdSe/ZnS nanokristallerin floresans spektrumu.....	61
Şekil 3.16. Nanokristallerin anti beta- laktamaz antibadi ile biyokonjugasyonu.	62
Şekil 3.17. Nanokristallere uygulanan her işlem sonrası floresans şiddeti düşüşü.....	63
Şekil 3.18. Anti beta-laktamaz antibadi konjuge CdSe/ZnS nanokristallerin eklenen beta- laktamaz enzimine karşı değişen floresans şiddeti değişiminin kalibrasyon grafığı.....	64
Şekil 3.19. A kişisine ait tükürük numunesinin floresans spektrumu.....	67
Şekil 3.20. B kişisine ait tükürük numunesinin floresans spektrumu.....	67
Şekil 3.21. C kişisine ait tükürük numunesinin floresans spektrumu.....	67
Şekil 4.1. CdSeS nanokristali elde etmek için yapılan sulu sentez sonunda elde edilen katı.....	69
Şekil 4.2. CdSeS sulu sentezi sonucu elde edilen yapıların SEM görüntüsü	69
Şekil 4.3. Altın nanorodlar.....	70
Şekil 4.4. Altın nanorodlara ait SEM görüntüsü.....	70
Şekil 4.5. Altın nanopartiküller.....	71
Şekil 4.6. Nanofiber üzerinden uzaklaştırılmayan altın nanopartiküller	71

Şekil 4.7. Nitrosetüloz tabakadan uzaklaştırlamayan nanopartiküller.....	72
Şekil 4.8. Floresans mikroskop ile elde edilen nanokristal gömülü nanofiberler.....	73
Şekil 4.9. Fotoğraflama tekniği için kullanılan nanofiberler (a) gün ışığında, (b) UV ışık altında.....	73

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2. 1. Beta- laktam antibiyotiklerin fonksiyonel ve moleküler sınıflandırılması ...	40
Tablo 2. 2. Elektromanyetik spektrum bölgeleri.....	42
Tablo 3. 1. Şahit numune için beta- laktamaz derişim değerleri (ppm).....	65
Tablo 3. 2. Standart sapma hesabı için elde edilen gerekli veriler.....	65
Tablo 3. 3. Gerçek numuneler için elde edilen veriler.....	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
STM	:	Taramalı tünelleme mikroskobu
SEM	:	Taramalı elektron mikroskobu
AFM	:	Atomik kuvvet mikroskobu
USP	:	Ultrasonik spreysel pirolizi
nm	:	Nanometre
LED	:	Işık yayan diyot
MİK	:	Minimum inhibitör konsantrasyonu
ppm	:	µg/L
6-APA	:	6- aminopenisilanik asit
BOS	:	Beyin- omurilik sıvısı
GSBL	:	Genişlemiş spektrumlu beta- laktam
CdSe	:	Kadmiyum- Selenyum
CdSe/ZnS	:	Kadmiyum-Selenyum/ Çinko- Sülfür
QD	:	Kuantum nokta
TEM-1	:	Beta- laktamaz antibiyotiklere karşı oluşan bir direnç enzimi.
FRET	:	Floresans Rezonans Enerji Transferi
OA	:	Oleik asit
TOP	:	Trioktilfosfin
TOPO	:	Trioktilfosfinoksit
rpm	:	Dakikada döndürme hızı
DPE	:	Difenil eter
ODE	:	1- Oktadesen
LACTB	:	Beta- laktamaz
3-MPA	:	3- Merkaptopropiyonik asit
SS	:	Standart sapma
RSD	:	Mutlak standart sapma

1. GİRİŞ

Günümüzde sürekli bir değişim halinde olan enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotikler kullanılmaktadır. Her yıl pek çok yeni antibiyotik tedavi için piyasaya çıkmaktadır. Bunlardan bazıları özel durumlardaki enfeksiyon hastalıklarında kullanılırken kimisi için yaygın kullanımlar için daha uygun olmaktadır.

Antibiyotikler sanıldıkları kadar masum ilaçlar değildirler. Bilinçsiz kullanımları yeni rahatsızlıklara yol açabilir. Bu ilaç grubu sadece etken mikroorganizmalara karşı etkili olmayıp, vücutta bulunan normalde mikroorganizma florasındaki duyarlı mikroorganizmaların yok olmasına da neden olabilmektedir. Bunun sonucunda ise süper enfeksiyon denilen yeni enfeksiyon durumları ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca bilinçsiz kullanılan antibiyotikler sonucu mikroorganizmalar kullanılan antibiyotiğe karşı direnç geliştirebilmektedir.

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde başarılı olmanın ilk koşulu uygun antibiyotik seçimidir. Bunun için enfeksiyona sebep olan mikroorganizmaların antibiyotiğe in vitro duyarlılığının, suşun ve aynı türün diğer suşlarının duyarlılığı arasındaki ilişkinin, antibiyotik ilacın farmakolojik özelliklerinin (toksikite, proteine bağlanma derecesi, dağılımı, adsorbsiyonu ve vücuttan atılması), aynı mikroorganizma türlerinin neden olduğu enfeksiyonlarında tedavisindeki etkinliği ve konağın immun yapısının bilinmesi gerekir.

Antibiyotik duyarlılık deneyleri her laboratuvarın kendi şartlarına göre yapılır. Farklı ortam ve şartlar altında yapılan direnç deneyleri benzer sonuçlar verebilir ancak paralellik göstermez. Bu farklılığın giderilmesi için Avrupa ülkeleri ortak çalışmalar yaparak ESGAR “European Study Group on Antibiotic Resistance” grubunu oluşturmuşlardır. On iki ülkeye ait yirmi dokuz laboratuvar katılımı ile oluşan grup kontrollü deneyler yapıp, çalışmalarını değerlendirmektedir.

Nanometre ölçekteki yapılar, son yirmi yıldır yeni bir araştırma alanı oluşturmaktadır. Kuantum kuyuları, kuantum telleri ve kuantum noktaları gibi bu düşük boyutlu sistemlerin üretimindeki son teknolojik gelişmelerle, bu yapıların sadece özelliklerinden dolayı değil, aynı zamanda cihaz teknolojisinde, örneğin, çok hızlı bilgisayarlarda uygulanmalarından dolayı hem deneysel ve hem de teorik araştırmalara konu olmaktadır (Demel, 1990), (A. Lorke, 1990), (Johnson, 1995). Atomlarla benzerliğe sahip böyle sonlu fermiyon sistemleri, insan yapımı yapılardır ve laboratuvarlarda tasarlanıp üretilmektedirler. Bütün uzaysal yönlerden yük taşıyıcılarının kuantum

mekaniksel hapsedilmesiyle çok küçük yarıiletken yapıları anlamak mümkün olmaktadır. Bu yapılarda doğal uzunluk ölçeği birkaç nanometre mertebesindedir ve çoğunlukla sıfır-boyutlu cisimler veya daha teknik olarak kuantum noktaları olarak adlandırılırlar. Bu sistemleri yeterince ilginç yapan, bu uzunluk ölçeğinde kuvvetli kuantum etkilerinin ortaya çıkmasıdır. Gerçekten, kuantum noktaları hacimsel (bulk) benzerlerinden oldukça farklı yeni fiziksel etkiler göstermektedir (Liu, 1989), (Hansen, 1989), (A. Lorke, 1990), (A. Lorke, 1990), (Tewordt, 1990), (Harrison, 1999), (Bordone, 1999). Bu nedenle son zamanlarda, teorik ve deneysel araştırmaların çoğunda özellikle elektronik özellikleri olmak üzere bu sistemlerin çeşitli fiziksel özelliklerini incelemek ve anlamak için çalışılmaktadır.

Gün geçtikçe nanoteknolojide yaşanan gelişmelerle beraber, özellikle kuantum nokta yapıların kullanım alanları, araştırmalar arttıkça ve en önemlisi farklı alanlara yayıldıkça çoğalmaktadır. Kuantum noktaların biyokimya ve tıp alanına getirdiği yenilikler gün geçtikçe artmaktadır. Bilhassa tıbbi görüntüleme konusunda floresans ışığa yapan kuantum nokta yapılar ile moleküllerin takip edilmesi ve izlenmesi bunlardan en önemlilerinden biridir (Sattler, 2011). Kolloidal kuantum noktalar, sahip oldukları optik özellikleri sayesinde hastalıkların tanı ve teşhisinde benzersiz olanaklara sahiptir. Bu özellikler ile moleküler ve hücre biyolojisi görüntüleme işlemlerinde floresans özelliğe sahip kuantum noktalar tıpta hastalık teşhisinde önemli bir yer almıştır (Nie, 2004). Kuantum noktalar, nano boyutlu olduklarından molekül hareketine engel olmaz ve biyokimyasal özelliklerini değiştirmez. Bu nedenle hücre içerisinde ve yüzeyinde, biyomoleküller ile etkileşime girebilirler (Sattler, 2011). Böylece kolloidal kuantum noktalar aminoasit, peptit gibi birçok biyolojik moleküle kolayca bağlanabilirler. Bunun anlamı kuantum noktaların, istenen hücreye veya biyomoleküle yüzey modifikasyonu yapabilir nitelikte olmasıdır. Sonuç olarak, moleküllerde prob gibi davranan hücre ve moleküllerle beraber hareket eden kuantum noktalar sayesinde klasik floresans ölçümleriyle moleküllerin takibini yapmak mümkün olmaktadır (Bruchez, 1998). Kuantum noktaların sahip olduğu bu floresans özelliğinden hareketle, bu tez çalışmasında beta-laktam antibiyotiklere karşı oluşan direnç beta-laktamaz antijen tayini ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen kadmiyum-selenyum/çinko-sülfür (CdSe/ZnS) nanokristalleri yüzey modifikasyonu ile beta-laktam antibiyotiğin sabit derişimleri ile etkileştirilerek CdSe/ZnS- beta-laktam antibiyotik konjugasyonu sağlanmıştır (Ngoc Thuy Vo, 2016). Daha sonra her bir CdSe/ZnS- beta-laktam antibiyotik konjugasyonu

artan derişimlerde beta-laktamaz enzimi ile etkileştirilmiş ve artan beta-laktamaz enzimi derişimine karşı artan floresans şiddetleri grafiğe geğirilerek kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Elde edilen bu grafik denklemini ile geręek bir numunede beta-laktamaz tayini yapmak m¼mk¼n olacak, b¼ylece kullanılan antibiyotiğe karşı v¼cutta direnę olup oluşmadığı, eğer oluşmuş ise ilacı değiştirmenin gerektiği önceden tespit edilebilecektir. B¼ylelikle kişinin v¼cudunda yararlı mikroorganizmaların ¼lmesinin engellenmesinin yanı sıra doğru tedaviye geğiş s¼reci kısılacaktır.

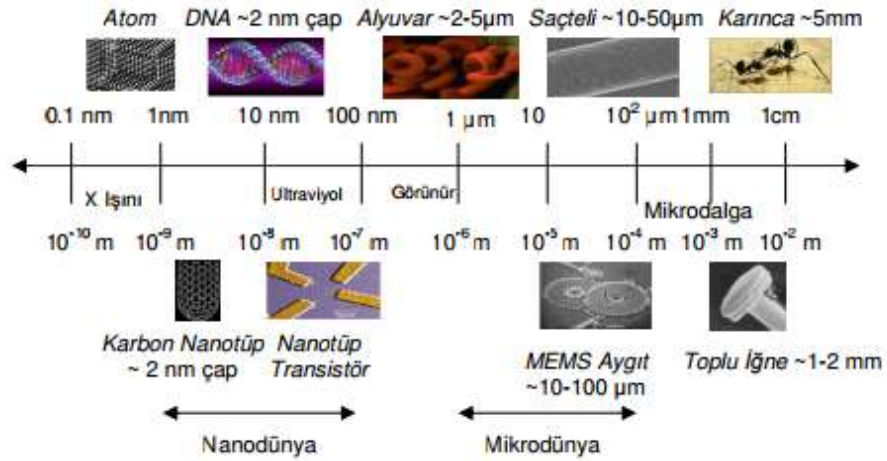
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanoteknoloji

İnsanoğlunun var olduğu günden başlayarak teknoloji kavramı, her geçen gün meydana gelen değişiklikler ile ilerlemekte ve yeni ürünlerin ve teknolojilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Gelişmekte olan pek çok teknoloji alanının içerisinde nanoteknoloji son zamanlarda en çok ilgi duyulan ve en çok çalışılan teknoloji ve bilim dallarının başında gelmektedir.

Nanoteknoloji, yunanca cüce anlamına gelen “Nano” ve “Teknologia” kelimelerinden oluşmaktadır. Nano, kelime anlamı olarak herhangi bir fiziki büyüklüğün milyarda biri anlamına gelmektedir. 1 nm yaklaşık olarak 5-6 atom büyüklüğüne denk gelmektedir. Nanoyapılar ise yaklaşık 10-1000 adet atom içeren atom yığınlarından oluşmaktadır. Nanoteknoloji, metrenin milyarda biri olan nanometrik boyutlarla ilgilenen, maddenin atom seviyesinde işlenmesiyle daha gelişmiş ve tümüyle özellikleri değişmiş malzemeler, araçlar ve sistemler elde etmeyi hedefleyen bir teknolojik alandır. Bu teknoloji ile birlikte malzemeler normalde sahip oldukları özelliklerden çok daha farklı özellikler kazanabilmektedir.

Nanoteknolojide atomların veya moleküllerin tekrar düzenlenip 10-100 nm boyutunda dev atomik yapılar oluşturulur. Yaklaşık 100-1000 atom bir araya gelerek nano ölçeklerde bir nesneyi oluşturmaktadır. Nanoteknoloji de bu bağlamda “çok küçük maddelerin teknolojisi” olmaktadır (Özdoğan, 2006). Atomların tekrar yapılandırılması ve bilinçli olarak işlenmesi ile bulk hallerine göre çok farklı özellikler kazanan malzemeler yepyeni materyallerin elde edilmesine, yeni araçlar ve sistemlerin oluşmasını sağlamaktadır. Nanomalzemeler ile geleneksel ürünler, yerlerini daha uzun ömürlü, akıllı ve hafif ürünlere bırakmaktadır.



Şekil 2.1. Farklı yapıların boyutlarını gösteren görsel

Kaynak: (Roco, 2005)

Periyodik tabloda bir numaralı atom numarasına sahip ve doğada bulunan en küçük atom olan hidrojen atomunun çapı yaklaşık 0,1 nanometredir. Aynı tür veya farklı türdeki atomlar farklı bağlarla bir araya gelerek molekülleri oluştururlar. 30 atomun bir araya gelip oluşturduğu bir molekül, 1 nm çapında bir büyüklüğe sahiptir. Şekil 2.1’ de de gösterildiği üzere insan hücrelerinin boyutu 3.000 ile 200.000 nm arasında değişmektedir.

Nanomalzeme elde ederken yapılan çalışmalarda 100 nm’den daha küçük ölçülerdeki malzemelerin düzenlenmesi amaçlanmıştır. 100 nm’in sınır seçilmesinin amacı ise bu boyut altında malzemelerin özel özelliklerinin gözlenmeye başlandığı sınır boyut olmasıdır. 100 nm altında boyuta sahip malzemeler farklı karakteristik özellikler kazanırlar. Malzemelerin boyutları kontrol edilebilir olduğunda, maddenin özellikleri kolayca kontrol edilebilir olacak ve değiştirilebilecek, böylece mevcut malzemelere yeni fonksiyonlar kazandırılabilir. Bunun yanında yepyeni malzemeler, cihazlar ve sistemler üretilabilecektir.

Nanoteknoloji, farklı bilim dallarını da kapsayan bir teknolojik alandır. Nano teknoloji, Malzeme Bilimi, Matematik, Fizik, Kimya, Biyoloji, Eczacılık ve Tıp, Bilgisayar, Elektronik bilimleri gibi birçok bilim insanını bir araya toplamaktadır. Diğer bilim dallarındaki disiplinler arası ayrılıkların aksine nanoteknolojide disiplinler arası ayrılıklar pek belirgin değildir (Arnall, 2003).

Son yıllarda nanoteknoloji araştırma alanları, aktif nanoyapılar ve nanosistemler, ilaç alanında moleküler ve biyolojik sistemleri, elektronik ve ileri malzemelere yönelmiştir. Bu yeni nano yapılar; daha küçük bilgisayar ve transistörler, kanser ve kronik

hastalıkları tedavi ve teşhis yöntemleri, yapay organlar, elektronik kağıt ve renk değiştiren elbiseler ile hammadde ve enerji tasarrufu için klasik endüstriyel süreçlerin değişmesi olarak örneklendirilebilir.

Nanoteknoloji ürünlerinin, üretimi ve kontrolü için hâlihazırdaki kapasitesinin 2020 yılına ürün ve süreç olarak dört ana evrede ortaya çıkacağı düşünülmektedir (Şekil 2.2). Bu evreler; 2000- 2005 yıllarını kapsayan pasif nanoyapılar, 2005-2010 yıllarını kapsayacak aktif nanoyapılar, 2010-2015 yıllarını kapsayacak üç boyutlu nanosistem sistemleri ve 2015-2020 yıllarını kapsayacak moleküler nanosistemler olarak sıralanmaktadır.



Şekil 2.2. *Nanoteknolojinin Dört Evresi*

Kaynak: (Roco, 2005)

2.1.1. Nanoteknolojinin tarihsel gelişimi

Nanoteknoloji, yaklaşık yirmi yıldır yoğun çalışılan, ancak 1950’li yıllardan beri pek çok araştırmanın yapıldığı bilim dalıdır. Maddelerin minyatürleştirilmesi kavramı, ünlü fizikçi Richard P. Feynman (1918-1988) tarafından ortaya atılmıştır. Feynman, kuantum elektrodinamiği alanında yaptığı çalışmalarla, 1965 yılında Fizik Nobel ödülünü kazanmıştır. Feynman tarafından 29 Kasım 1959’da, Amerikan Fizikçiler Cemiyeti yıllık toplantısında “There’s Plenty of Room at the Bottom- An Invitation to Enter a New Field of Physics; Aşağıda Çok Yer Var: Fiziğin Yeni Bir Sahasına Davet” başlığı altında yapılan konuşma, nanobilim ve nanoteknoloji çağına başlangıç noktası kabul edilmektedir. Feynman, gelecekte pek çok atomun istenilen şekilde düzenlenebileceği öngörmüş, Britanica Ansiklopedisinin tamamının bir iğnenin ucu kadar

küçültülebileceğini, yapılması gereken tek şeyin ansiklopedi de yazan tüm yazıları 25.000 kez küçültmek gerektiğini söylemiştir. Feynman yaptığı konuşmada; atom ve moleküler ölçekte üretim yapılabilse birçok yeni keşfin yapılabileceğini, bunun için önce nanoboyutta özel ölçme ve üretim yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini belirtmiştir.

1990'ların başında Rice Üniversitesi'nde Richard Smalley öncülüğündeki araştırmacılar tarafından 60 karbon atomunun simetrik biçimde sıralanmasıyla elde edilen futbol topu şeklindeki "fullerene" molekülleri geliştirilmiştir. Elde edilen molekül 1 nanometre büyüklüğünde ve çelikten daha güçlü, plastikten daha hafif, elektrik ve ısı geçirgen bir yapıya sahiptir. Bu araştırmacılar 1996 yılında Nobel Kimya Ödülü'nü almışlardır.

1991 yılında Japon NEC firması araştırmacılarından olan, Sumio Iijima karbon nanotüpleri bulmuştur. Karbon nanotüpler, fullerene molekülünün esnetilmiş bir hali olup benzer şekilde önemli özelliklere sahiptir; çelikten 100 kat kadar daha güçlü ve ağırlığı çeliğin ağırlığının sadece 6'da biri kadardır. Yine 1990'lı yıllarda Feynman'ın fikirleri, Eric Drexler'in yazdığı kitap olan "Engines of Creation" ile geliştirilmiştir. Drexler'in fikirleri şüpheyle Karşılanmış, bunun ardından 1992 yılında yayınlamış olduğu kitabı "Nanosystems: Molecular Machinery, Manufacturing, and Computation"da genel kavram ve düşüncelerini detaylı analiz ve tasarımlar ile ayrıntılı olarak yer vermiştir.

1999 yılında ABD'de Bill Clinton hükümeti nanoteknoloji alanında yürütülen araştırma, geliştirme ve ticarileştirme faaliyetlerinin hızını artırma amacını taşıyan ilk resmi hükümet programını, Ulusal Nanoteknoloji Adımını (National Nanotechnology Initiative) başlatmıştır. 2001 yılında Avrupa Birliği, ÇerçeveProgramı'na nanoteknoloji çalışmalarını öncelikli olarak eklemiştir. Avrupa birliğini örnek alan Japonya, Tayvan, Singapur, Çin, İsrail ve İsviçre de benzer programlar başlatarak 21. yüzyılın ilk küresel teknoloji yarışında önlerde yer almak için çalışmalarına hız vermişlerdir.

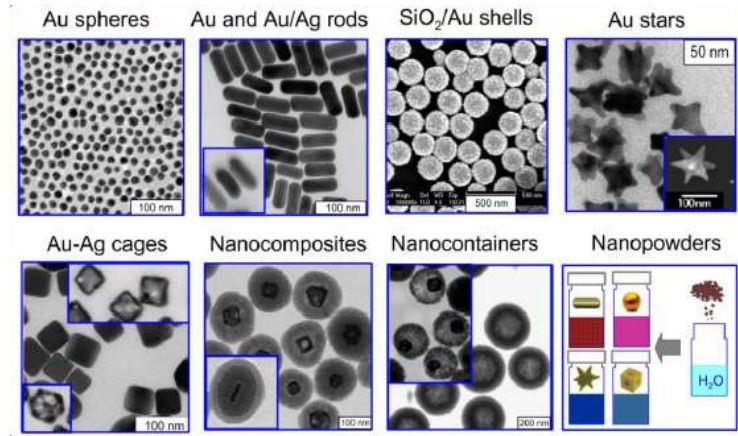
Araştırmacıların daha küçük boyutlarda çalışması yanında bazı problemleri de getirmiştir. Boyutların küçülmesi, yapılan çalışmaların izlenmesini ve takip edilmesini zorlaştırmıştır. 1981 yılında IBM tarafından yeni bir mikroskop türü olan "Taramalı Tünelleme Mikroskobu" (Scanning Tunneling Microscope, STM) geliştirilmiştir. Bu gelişmede payı olan bilim insanları yaptıkları buluş ile 1986'da Nobel Fizik Ödülü'nü almışlardır. Diğer yandan yaklaşık aynı zamanlarda STM mikroskobunun bir türevi olan "Atomik Kuvvet Mikroskobu" (Atomic Force Microscope, AFM) geliştirilmiştir. Feynman'ın bahsetmiş olduğu cihazların (SEM, AFM, yakın alan mikroskobu vb.)

1980'lerde geliştirilmesi ve aynı anda olarak gelişen bilgisayar kapasiteleri ile nano boyutta ölçüm ve modelleme yapılması sağlanmıştır.

Nanoteknoloji ile mevcut boyutlardaki malzemelerin nano boyuta düşürülmesi ile sahip olduğumuz teknolojinin çok daha ileri boyutlara taşınacağı düşünülmektedir. Şu an sahip olduğumuz teknolojiler maddenin sadece fiziksel ve kimyasal özelliklerinden faydalanırken, nanoteknoloji ile kuantum etkisi olarak isimlendirilen ve maddenin boyutu ile değişebilen yeni bir özellik de ortaya çıkmaktadır.

2.1.2. Nanokristal üretim yöntemleri

Nanopartiküller geniş bir kimyasal içerik bileşimi aralığında ve morfolojide üretilebilirler. Günümüzde çekirdek-kabuk, sandviç, boşluklu, küresel, çubuk benzeri ve çok yüzlü gibi farklı morfolojilere sahip metal, metal alaşımı, seramik ve polimer esaslı veya bunların karışımından istenilen özelliklere sahip nanopartiküller hazırlanabilir. Şekil 2.3' de farklı nanopartikül şekilleri gösterilmektedir.

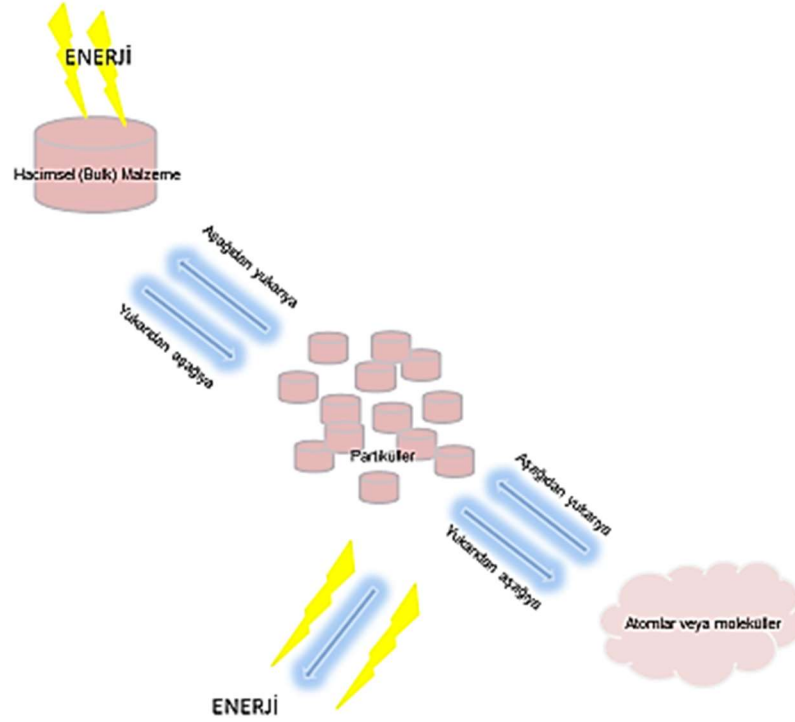


Şekil 2.3. Farklı nanomalzeme şekilleri

Kaynak: (Nguyen V. L., 2010)

Farklı yapı ve şekillerde nanoyapılı malzemelerin üretilmesi için genel olarak kabul edilen temel iki tür üretim yöntemi vardır. Bunlar yukarıdan aşağıya “Top Down” ve aşağıdan yukarıya “Bottom Up” üretim yaklaşımlardır (Sergeev, 2006). Yukarıdan aşağı yönteminde nanopartikül elde edilecek malzemeye mekanik ve/veya kimyasal işlemler ile enerji uygulanarak malzemenin nano boyuta sahip küçük parçalara ayrılması sağlanır. Bu işleme örnek olarak mekanik öğütme verilebilir. Aşağıdan yukarı tekniğinde ise; boyutsal olarak çok küçük malzemelerin kimyasal reaksiyonlar yardımıyla

büyütülerek nanopartikül oluşumu sağlanmaktadır. Bu yaklaşımın en çok bilinen örnekleri; kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma ve sprej pirolizdir. Nanopartiküllerin üretim yaklaşımlarının şematik gösterimi Şekil 2.4' te gösterildiği gibidir.



Şekil 2.4. Nanopartikül üretiminde kullanılan yaklaşımlar

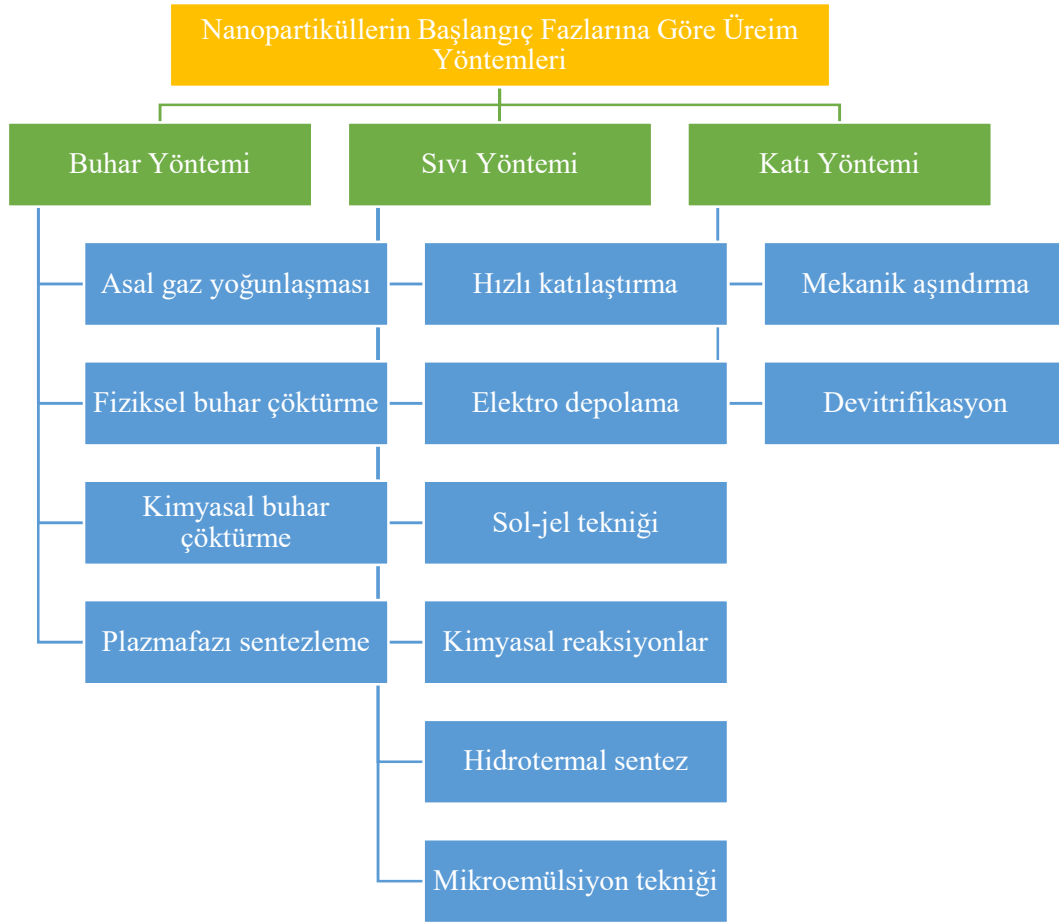
Yukarıdan aşağıya yaklaşımında hacimsel malzemeye dışarıdan mekaniksel bir kuvvet ve/veya kimyasal işlemler uygulanarak sağlanan enerji ile malzemenin nano boyutta parçacıklara dönüşmesi, yani büyük malzemelerden küçük parçaların oluşması temeline dayanmaktadır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı için kullanılan yöntemlere öğütme ve aşındırma örnek verilebilir. Bu tekniklerde klasik öğütme işlemine göre çok daha fazla enerji sarfiyatı olduğundan yüksek enerjili öğütme veya yüksek hız değirmeni de denir.

Aşağıdan yukarıya yaklaşımında; atomik veya moleküler boyuttaki yapılar kimyasal reaksiyonlar ile büyütülerek nanopartiküllerin oluşması sağlanmaktadır. Bu yaklaşımda en çok kullanılan yöntemler ise; gaz yoğunlaştırma tekniği, kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma, sol jel ve sprej piroliz yöntemleridir (Sergeev, 2006).

Nanopartiküllerin üretiminin yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya parçacık üretiminde kullanılan yöntemlerin ayrıca fiziksel veya kimyasal temelli olarak da iki ayrı başlık altında incelenmesi mümkündür. Mekanik enerjinin kullanıldığı yani fiziksel

özelliklerin ön plana çıktığı yöntemler fiziksel ve nanopartiküllerin oluşumunun kimyasal reaksiyonlara dayandığı yöntemler ise kimyasal temelli yöntemlerdir (Dhand C., 2015).

Nanopartiküllerin elde edilme yöntemlerini bir diğer sınıflandırma şekli de başlangıç fazlarından yola çıkarak sınıflandırmadır. Buna göre buhar, sıvı ve katı yöntemler olarak üç farklı başlık altında incelenirler. Nanopartiküllerin başlangıç maddelerinin fazlarına göre üretim yöntemlerinin şematik gösterimi Şekil 2.5 'te verilmiştir.



Şekil 2.5. Nanopartiküllerin başlangıç fazına göre üretim yöntemleri

Yöntem çok miktarda nanopartikülün gerekli olduğu durumlarda kullanılır. Başlangıç malzemesi olarak metalorganikler, karboniller, klorürler ve hidrürler kullanılır. Yöntemin temeli termal parçalamaya dayanır. Termal enerji ile parçalanan gaz fazındaki maddeler nanoboyutta malzemeye dönüşürler. Başlangıç malzemesi olarak kullanılan maddeler gaz fazına geçirilir, ardından gaz akımıyla reaktöre taşınırlar. Reaktör içerisinde bulunan fırınlarda ısı enerjisi ile parçalanırlar. Başlangıç maddesini reaktöre taşıyan

gazlar genelde içerisinde ise ısı parçalanma olayı gerçekleşmektedir. Başlangıç maddesini reaktöre taşıyan gaz olarak genelde He, Ar ve N₂ gibi inert özellik taşıyan gazlar kullanılmaktadır (Wang Z. H., 2003 a), (Wang Z. H., 2003 b).

2.1.2.2. Hidrojen redüksiyonu yöntemi

Gaz fazında indirgeme işlemi ile metalik nanopartiküllerin üretimini gerçekleştiren bir yöntemdir. Genelde bu yöntem demir, nikel ve kobalt gibi metallerin nanopartikül sentezleri için kullanılır. Kullanılan başlangıç çözeltisi buharlaştırılır taşıyıcı ya da redükleyici ya da her iki özelliği de gösteren bir gaz ile ısıtılmış bölgeye daha sonra da indirgemenin olduğu bölgeye maddenin taşınımı ile nanopartiküller üretilir. Hidrojen gazı hem indirgeyici hem de taşıyıcı gaz olarak kullanılırken bunun dışında azot ve argon gibi gazlar da kullanılabilir (Jang, 2004), (Suh, 2006).

2.1.2.3. Asal gaz yoğunlaştırma yöntemi

Bu yöntemde nano boyuttaki metaller ve alaşımlar aşırı doymuş buhar fazı yardımıyla elde edilmektedir. Buharlaşmaya maruz kalan atom ve moleküller ısı kaynağının etrafında aşırı doymuş hale gelirler. Buhar fazındaki başlangıç maddesi ile gaz molekülleri etkileşerek partikül oluşumunu gerçekleştirirler (Swihart, 2003)

2.1.2.4. Mikroheterojen sistemler yardımıyla nanopartikül eldesi

Aşağıdan yukarıya yaklaşım mantığı ile moleküler seviyeden nanopartikül üretimi için kullanılan sentez yöntemleri, farklı mikro heterojen sistemlerin kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Bu mikroheterojen sistemler sıvı kristaller, jeller, misel çözeltileri ve mikroemülsiyonlar olabilir. Bu yöntemin düşük maliyetli olmasının yanında, metaller, oksitler, sülfatlar ve suda çözünmeyen maddelerin yanında suda çözünebilir inorganik ve organik malzemelerin nano boyutta sentezlenmesinde de kullanılmaktadır. Yöntem bunun yanında, çekirdek-kabuk, katkılı, sandviç veya poroz nanopartiküllerin üretiminde de kullanılmaktadır. Yöntemin bir diğer avantajı ise pratik olmasıdır. Manyetik, elektrik, ısıtma ve/veya yağlayıcı özelliklere sahip olabilen ve günden güne daha fazla çalışmalara konu olan bu sistemlere nanoakışkanlar da denir.

Bu yöntemin temel basamakları;

- İstenen nanomalzemeye göre uygun mikroheterojen sistemin seçilmesi,
- Reaktanların çözümlenmesinden sonra yapılarının incelenmesi ve

- Karıştırma işlemi
- Elde edilen ürünün karakterizasyonu

Çoğunlukla oda sıcaklığınının yeterli olduğu yöntem ile ince boyutu, polidisperziteye ve 1D, 2D ve 3D nanopartikül dizilimlerinin hazırlanması mümkün olabilmektedir. Ayrıca atomik veya moleküler boyuttan nanopartikül sentezi yaklaşımına dayandığından uygun mikroheterojen sistem seçildiği takdirde nanopartikül boyut ve şekli kontrol edilmektedir (Liveri, 2006).

2.1.2.5. Alev sentezi ile nanopartikül eldesi

Alev ortamının yüksek oksitleyici etkisinden dolayı yöntem özellikle oksit nanopartiküllerin üretimi için kullanılmaktadır. Özellikle ticari amaçlı nanopartikül eldesinde kullanılır. Bu teknikte kolay uçuculuğa sahip metal halojenürler başlangıç malzemesi olarak kullanılır ve oluşan buhar fazının hava, hidrojen veya oksijen gibi bir gazla alev ortamına taşınmasıyla gerçekleşen gaz fazındaki reaksiyonlar sonucu atom kümelerinin oluşumu ve bunların birlesimiyle de nanopartikül oluşumu gerçekleşir (Swihart, 2003), (Hu, 2007).

2.1.2.6. Mekanik aşındırma ile nanopartikül eldesi

Alaşımın ve faz karışımlarının nanopartikül formuna getirildiği sentez yöntemidir. Yukarıdan aşağıya nanopartikül sentez türü içerisindedir. Nanopartiküller atom ve moleküler düzeyde bulunan büyük tanecik yapısına sahip parçacıkların plastik deformasyon sonucu nanopartikül formuna dönüşmesi ile elde edilirler. Bu yöntem ile genel olarak alaşımların, seramik ve kompozitlerin nano yapıda eldesi gerçekleştirilmektedir (Edelstein, 2001).

2.1.2.7. Ultrasonik sprey piroliz ile nanopartikül eldesi

Ultrasonik atomizasyon ile sprey elde etme tekniği uzun yıllardır bilhassa tıbbi alanda ve ince film üretiminde sıklıkla kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir. Ancak nano boyutta partiküllerin bu yöntemle üretimi yaklaşık son yirmi yıldır gerçekleştirilmektedir.

Toz üretim teknolojisi açısından Ultrasonik Sprey Piroliz (USP) küresel ve aglomere olmamış (topaklanmamış, dispers halde), çok farklı kimyasal bileşimlerde, farklı boyutlarda ve morfolojide nano malzemelerin üretilmesini sağlayan bir yöntemdir.

Bu yöntem ile yüksek saflıkta metal tuzlarının veya ikincil hammaddelerin temizlenmiş lic çözeltileri kullanılmaktadır. Proses birbirinden ayrıık damlacıkların aerosol formunda başlangıç çözeltilisinden oluşumunu, ısıl parçalanmanın gerçekleşmesini ve faz değişiminin kontrolünü kapsamaktadır (Gürmen, 2006).

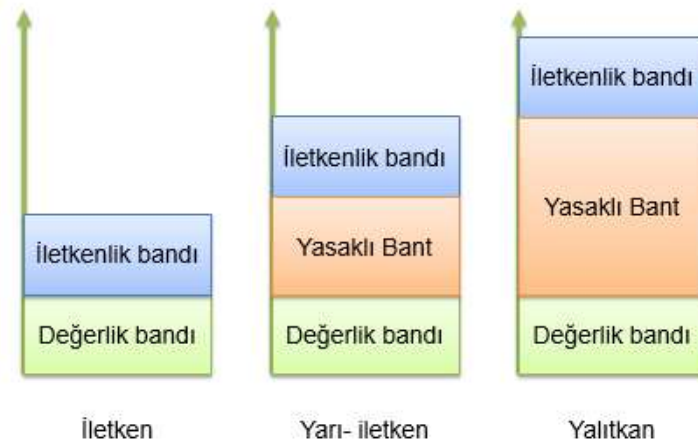
2.1.3. Kuantum noktalar ve nanokristaller

Atomlar, temel olarak (-) yüklü elektron, (+) yüklü proton ve yüksüz olarak kabul edilen nötron parçacıklarından oluşurlar. Atom merkezinde bulunan çekirdek proton ve nötronların bir araya gelmesiyle oluşur. Çekirdek, (+) yüklü protonlar nedeniyle pozitif yüklü olduğu için (-) yüklü elektronları çeker ve elektronlar bu çekim kuvvetinin etkisiyle atom çevresindeki yörüngelerde (orbital) hareket ederler. Bulk (10 nanometreden çok çok büyük; yığın, hacimsel) malzemelerde elektronlar sürekli olarak, gelişigüzel yörüngelerde hareket halindedirler.

Bir elektronun bulunduğu yörüngenin, atom çekirdeğine olan uzaklığı, enerji seviyesi olarak isimlendirilir ve farklı her atom, farklı enerji seviyelerine sahiptir. Bu enerji seviyeleri bulk malzemelerde birbirine neredeyse iç içe denebilecek kadar yakındır, bu sebeple sürekli enerji seviyesi olarak tanımlanmıştır. Bunun anlamı aralarındaki enerji farkının yok sayılacak kadar az olmasıdır. Elektronların uyarılmamış halde buldukları bölgeye değerlik (valans) bandı denir (Lipparini, 2003), (Fox, 2001). Değerlik bandı üzerinde bant boşluğu adı verilen bir seviye bulunur. Elektronlar bu bant boşluğuna çıkacak enerjiye sahip olmadıklarından bant boşluğu yasaklı olarak tanımlanmıştır. Enerji seviyeleri nasıl atomlara özgüyse, bant boşluğu da atomdan atoma farklılık gösterir.

Bant boşluğunun üzerinde iletkenlik bandı denilen bir başka enerji seviyesi bulunur. Bir elektronunun değerlik bandından iletkenlik bandına geçebilmesi için bant boşluğunu geçecek kadar veya daha fazla enerjiye sahip olması gerekir. Çekirdek tarafından çekilmekte olan elektron dışarıdan ısı, voltaj veya foton akışı gibi bir uyarın tarafından sağladığı enerji ile değerlik bandından kurtulup iletkenlik bandına geçebilir. Değerlik bandında bulunan elektron iletkenlik bandına geçen elektrona uyarılmış elektron denir. Bant boşluğu mesafesi, bir malzemenin iletkenlik özelliklerinde en önemli belirleyici etkenlerden biridir. Boşluk ne kadar büyükse, elektronun değerlik bandından iletkenlik bandına geçmesi için ihtiyacı olan enerji de o kadar büyük olacaktır. Bu sebeple, iletken malzemelerde elektronun iletkenlik bandına geçişi bant boşluğunun kısa oluşundan dolayı oldukça kolay ve az enerji gerektirirken, yalıtkan malzemelerde bu

boşluk çok daha büyüktür ve çok daha fazla enerji gerektirir. Yarı-iletkenler denilen sınıf ise bu iki malzeme grubunun arasında bir bant boşluğu seviyesine sahiptir. İletkenlerde çok az olan bant boşluğu elektronun dışarıdan aldığı çok küçük bir uyarı ile bile bant boşluğunu aşarak iletkenlik seviyesine geçmesini sağlar ve enerji seviyeleri arasındaki sürekli geçişler enerji akımını oluşturur (Kittel C., 2004), (Fox, 2001). Yalıtkan malzemelerde ise bir elektronun iletkenlik bandına geçebilmesi için çok büyük enerjiler gereklidir ve normal koşullarda bu tip maddeler yalıtkan olarak kabul edilir (Fox, 2001).



Şekil 2.6. İletken, yarıiletken ve yalıtkan malzemelerin enerji bant aralıkları

Evrende her şey kararlı olduğu hale dönmeye çalışır. Uyarılan elektron da temel hale yani kararlı olduğu değerlik bandına dönmek ister. Elektron aldığı enerjile uyarıldıktan sonra iletkenlik bandına geçtiğinde değerlik bandında bıraktığı boşluğa tekrar geri dönebilmesi için sahip olduğu enerjiyi harcaması gerekir. Bu enerji atomun değerlik bandı ve iletkenlik bandı arasındaki bant boşluğunun uzaklığı ile doğru orantılıdır ve elektron bu enerjiyi ışımaya yayarak verir. Bant boşluğu arttıkça elektronun yaydığı enerji de artar. Bulk haldeki yarı-iletken malzemelerin iletkenliği sağlama koşulları bu şekildedir.

Kuantum noktalar da yarı-iletken malzemelerdir yani iletkenlik özellikleri belli bir uyarı sonucunda ortaya çıkar. Temel olarak değerlik bandı, bant boşluğu ve iletkenlik bantları aynıdır. Fakat kuantum noktalarda bulk malzemelerden farklı olarak bant boşluğuna “Excitation Bohr Radius” (Bohr uyarıma çapı) ve elektron- boşluk ikilisine ise “Ekziton” denir (Frenkel, 1936). Bir yarıiletken kristal, bir fotonla uyarıldığı zaman, eğer fotonun enerjisi yeteri kadar çok ise, değerlik bandındaki elektronlardan birini

iletkenlik bandına taşır ve elektron- deşik çifti ayrılır. Eğer fotonun enerjisi, elektron ve deşığı ayırmaya yetecek büyüklükte değılse, elektron ve deşikten oluşan birleşik bir yapı oluşur (Frenkel, 1936), (Wannier, 1937), (Mott, 1938). Elektron ve deşik çifti Coulomb etkileşmesiyle birbirine bağlanır ve beraber hareket ederler. Beraber hareket eden bu yapı Frenkel (1936) tarafından ekziton (exciton) olarak adlandırılmıştır. 1930'dan sonra hacimli (bulk) kristallerde görülen ekziton yapı, kuantum noktalarında teorik anlamda ilk kez Efros ve Efros (Efros, 1982) tarafından çalışılmıştır. Bu teorik çalışmayı takiben taban durum enerjilerini daha doğru hesaplamak için, iyileştirilmiş varyasyonel şemalar kullanarak hesaplamalar yapılmıştır (Kayanuma, 1988), (Takagahara, 1987).

Kuantum noktaların boyutlarının ekziton Bohr yarıçapından küçüktür ve uyarılmış bir elektron bu mesafe kadar uzağı gitmek ister fakat sınırlandırılmış olduğundan gidemez ve kuantum kimyasına özel özellikler göstermeye başlar. Bu olaya kuantum sınırlaması denir. Bulk haldeki bir malzemede sınırlandırma yoktur, kuantum kuyusunda (quantumwell) tek boyutta, kuantum telde (quantumwire) iki boyutta ve kuantum noktada ise üç boyutta sınırlandırma mevcuttur (Harrison, 1999). Kuantum noktada üç boyutta da sıkışan elektron fazla enerjisini harcamaya çalışacak ancak üst seviyelere çıkamadığı için enerjisini harcayamayacak ve kinetik enerjisi artmaya başlayacaktır. Enerjisi arttığından dalga boyu kısılacaktır. Artan enerji ve kısalan dalga boyu ile ışımaya daha şiddetli ve parlak olur. Malzemelerin boyutu excitonbohr yarıçapına indirildiğinde bir kuantum özelliğı olan renk değışimi ortaya çıkar. Yani bir malzemenin boyutu kontrollü olarak değıştirilerek renk değıştirmesi sağlanabilir. Yani biz malzemenin boyutunu excitonBohr yarıçapının altına indirdiğimizde sıra dışı bir kuantum özelliğı olan malzemenin renginin değışmesi özelliğı ortaya çıkar. Kontrollü renk değışimi özelliğı sayesinde özellikle tıpta teşhis için kullanılan nano malzemeler, az enerji ile çalışan lazerler, istenilen renklerde LED ışıklandırmalar, çok daha verimli güneş panelleri ve daha fazlası mümkün olmaktadır.

1-100 nm boyutlarda maddenin enerjisi ve iletkenliğı de, geometrisine ve büyüklüğüne göre değışir ve malzemeler olağanüstü özellikler kazanır. Örneğın; silisyum yarıiletken bir malzemedir. Silisyum bir teli çapı nanometre boyutlarına düşürüldüğünde, tel iletken özellik kazanır.

Altın bildiğimiz üzere sarı renkli bir metaldir. Nano boyutta ise, 1 nm büyüklüğündeki altın tanesi kırmızı renkliken, farklı boyutlarda sentezlenen ve çapları

1 ile 70 nm arasında değişen altın nanokristallerin renkleri de büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Çapı artan gold nanopartiküllerin renklerindeki değişim

Kaynak: (Huang X., 2001)

Bulk malzemelerde yarı-iletken kristallerin boyutları ekziton Bohr yarıçapından çok daha büyüktür. Kristalin ekziton Bohr yarıçapına eşit veya daha küçük olduğunu düşünülürse, bu koşullarda enerji seviyeleri sürekli şekilde değil ayırık olarak davranmaya başlar. Aralarında sonlu küçük ayrımlar olur. Kuantum sınırlaması denilen bu ayırık enerji seviyelerine sahip olan malzeme artık bulk malzeme özelliği değil kuantum özellikleri göstermeye başlar. Bu malzemelere sahip oldukları kuantum özellikleri ve boyutları sebebiyle kuantum nokta (kuantum dot) denir. Kuantum noktalar dev atom yapılarıdır ve bu dev atomlara atom ekleyip çıkarmak mümkündür. Kuantum noktalar, ekziton Bohr yarıçapından küçük olduğundan, enerji seviyelerinin şekli boyutlarıyla ilgili olduğundan ve en önemlisi kuantum noktaların boyutlarını değiştirebilmek ve istenildiği gibi boyutlarını ayarlayabilmek mümkün olduğundan bu enerji seviyeleriyle kolaylıkla oynanabilen malzemeler olduğu anlamına gelir. Bunun anlamı istenilen özelliklere sahip yepyeni yapay atomlar demektir. Bu yepyeni yapay atomlar kimya ve malzeme bilimciler için keşfedilecek pek çok özellik ve atom, ayrıca ihtiyaca yönelik yeni malzemeler demektir.

1980'li yıllardan sonra, yarı iletken teknolojisi gelişmeye başlamış ve kuantum noktalar üretilmeye başlamıştır (Norris, 1996), (Bawendi, 1990). CdSe kuantum noktalarında ekziton yapıların elektronik ve optik özelliklerini yapının boyutlarına bağlı olarak teorik ve deneysel olarak incelemiştir. Sonraki yıllarda ise çekirdek – kabuk kuantum nokta yapılarının sentezlenmesi (Dabbousi, 1997) ile ekzitonlar, çekirdek-kabuk

kuantum noktalarında da incelenmeye başlanmıştır. 2000'li yıllarla beraber hem kuantum noktaların daha kaliteli bir şekilde üretilmesi hem de hesaplama yöntemlerinin iyileştirilmesiyle beraber teorik ve deneysel çalışmaların her ikisi için de sonuçlar çok daha tutarlı olmaya başlamıştır.

Ekziton sistemlerinin çözümü için etkin kütle yaklaşımı ile çeşitli teorik ve deneysel çalışmalar yapılmıştır (Humway, 2001), (Brovelli, 2011). Etkin kütle yaklaşımı ile yapılan bu çalışmalar, ekziton yapılarının daha iyi yorumlanmasında önemli fayda sağlamıştır.

Günden güne yarıiletken teknolojisinde yaşanan gelişmelerle beraber, özellikle kuantum nokta yapıların kullanım alanları, araştırmalar arttıkça ve en önemlisi farklı alanlara yayıldıkça çoğalmaktadır. Kuantum noktaların uygulama alanlarına, tıbbi görüntüleme konusunda floresans ışımaya yapan kuantum nokta yapılar kullanılması verilebilecek örneklerden sadece bir tanesidir (Sattler, 2011). Kolloidal kuantum noktalar, sahip oldukları optik özellikleri sayesinde hastalıkların tanı ve teşhisinde benzersiz olanaklara sahiptir. Bu özellikler ile moleküler ve hücre biyolojisi görüntüleme işlemlerinde floresans özelliğe sahip kuantum noktalar tıpta hastalık teşhisinde önemli bir yer almıştır (Nie, 2004). Kuantum noktalar, nano boyutlu olduklarından molekül hareketine engel olmaz ve biyokimyasal özelliklerini değiştirmez. Bu nedenle hücre içerisinde ve yüzeyinde, biyomoleküller ile etkileşime girebilirler (Sattler, 2011). Böylece kolloidal kuantum noktalar aminoasit, peptit gibi birçok biyolojik moleküle kolayca bağlanabilirler. Bunun anlamı kuantum noktaların, istenen hücreye veya biyomoleküle yüzey modifikasyonu yapabilmesidir. Sonuç olarak, moleküllerde prob gibi davranan hücre ve moleküllerle beraber hareket eden kuantum noktalar sayesinde klasik floresans ölçümleriyle moleküllerin takibini yapmak mümkün olmaktadır (Bruchez M. P., 2004).

Kuantum noktalar yeni nesil güneş pillerinin üretilmesi için de yaygın olarak üzerinde çalışılan yapılardır. Güneş enerjisini elektrik enerjisine dönüştürmek için yapılan teorik hesaplamalar, güneş ışığının %93'ünden daha fazlası elektrik enerjisine dönüştürülebileceğini göstermektedir (Eychmüller, 1993). Günümüze kadar üç farklı tip güneş hücresi üretilmiştir. Bunların ilki birinci nesil denilen silisyum tek tabanlı güneş hücreleridir. Birinci nesil güneş hücrelerinin maliyetlerinin çok yüksek olması bilim insanlarını ikinci nesil denilen ince film tabanlı güneş hücrelerine yönlendirmiştir. İkinci nesil güneş hücreleri maliyet düşüklüğü açısından beklentiyi karşılamış olsa da verimin de düşük olması bilim insanlarını üçüncü nesil güneş hücrelerine yönlendirmiştir.

İstenilen düşük maliyetli ancak yüksek verimli güneş hücreleri bilim insanlarını nano kristal tabanlı fotovoltaiik hücrelerin araştırılıp geliştirilmesine yönlendirmiştir. Nanokristallerin sahip olduğu yasaklı bant güneş ışığının soğurulması için uygundur. Ayrıca nano kristallerde artmış olan iyonlaşma etkisi soğurulan her fotona karşı birden fazla ekzitonun oluşmasına neden olur (Schaller R. D., 2006), (Schaller R. D., 2004), (Beard, 2007). Oluşan bu birden fazla ekziton ile kuantum verimi her ne kadar %700'lere ulaşmış olsa da fotoakım kuantum verimliliği %100'ün üzerine çıkamamıştır (Nozik, 2005).

Kuantum noktaların başka bir uygulama alanı da kuantum nokta lazerlerdir. Kuantum noktasında ışık ile uyarma yoluyla oluşan elektron–deşik çifti, yeniden birleştiğinde yani uyarılmış elektron temel hale döndüğünde bir foton yayar. Bu temel bilgiden yola çıkılarak, çok sayıda aynı kuantum nokta yapının uyarılmasıyla kuantum nokta lazerler üretilmiştir. 1970'lerde başlayan kuantum kuyu lazer fikri ile R.Dingle ve C.H.Henry (1976) tarafından ilk olarak kuantum kuyu lazer patenti alınmıştır. 1994 yılında da ilk kuantum nokta lazer üretilmiştir (Ledentsov, 1994).

Kuantum noktalar ile karmaşık sistemlerin hareketlerini gerçek zamanlı olarak takip etmek mümkün olmuştur. Özellikle, son yıllarda kanserli hücrelerin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda kuantum noktalar, aktif olarak kullanılmaya başlanmıştır (Nie, 2004).

2.2. Antibiyotikler

Antibiyotikler, genellikle mikroorganizmalardan, mantarlardan veya sentetik, yarısentetik yöntemlerle elde edilen, çok küçük dozlarda bile vücuda verildiğinde bakteriler üzerinde öldürücü etki (bakterisid) veya üremelerini engelleyici etki (bakteriyostatik) gösteren, vücuda zararı olmayan ya da yok denecek kadar az olan bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçlardır (Walsh, Antibiotics: Actions, Origins, Resistance, 2003)

Konakçı canlıya zarar vermeden hastalık sebebi bakteri, protozoa, virüs, parazit gibi enfeksiyon faktörlerine toksik veya öldürücü etki yapan kimyasal maddelere kemoterapötikler denir. Kemoterapötik ilaçlarla yapılan tedavilere kemoterapi denir (Kemoterapötik İlaçlar, 2011)

Modern kemoterapi 1932'de Domagk'ın bir azo boyası olan Prontosil'in Streptokok enfeksiyonlarına karşı etkinlik gösterdiğini fark etmesiyle başlamıştır. Bunun

ardından güçlü sülfonamidler klinikte tedavi amaçlı kullanılmaya başlamıştır. Kemoterapideki en büyük gelişme ise penisilinlerin klinik kullanımıyla başlamıştır (Cingi M. G, 1996). Kemoterapide kullanılan ilaçlar, genel olarak etki yaptıkları mikroorganizmanın cinsine göre sınıflandırılırlar. Bunlar; antibakteriyel ilaçlar, antihelmintik ilaçlar, antimalaryal ilaçlar, antiamibik ilaçlar, antiriketsial ilaçlar, antiviral ilaçlar, antineoplastik ilaçlardır (Kemoterapötik İlaçlar, 2011), (Wright, 2003). Kemoterapötik ilaçlar önlemsel olarak sağlıklı kişileri, maruz kaldıkları veya kalacakları enfeksiyon etkenlerinden korur ve bu etkenlerin vücuda yerleşmelerini önlemek için, başka bir hastalığı olan kişilerde, ikinci bir bakteriyel enfeksiyon oluşmasını engellemek için, cerrahi işlemlerden hemen önce veya işlem anında veya daha sonra gelişme ihtimali olan ameliyat sonrasında gelişme ihtimali olan enfeksiyonları engellemek için kullanılırlar (Kemoterapötik İlaçlar, 2011).

Enfeksiyon tedavilerinde kullanılan antibiyotik ilaçların sahip olması istenen belirli özellikler vardır. Bunlar;

- Geniş bir mikroorganizma spektrumuna sahip olmalıdır.
- Bakteriyostatik değil bakterisid etki göstermelidir.
- Kolayca direnç oluşmamalıdır.
- Uzun ve kısa süreli kullanımlarda etki gücü değişmemelidir.
- Ciddi yan etkiler oluşturmamalıdır.
- Organizmada duyarlılığa neden olmamalıdır.
- Bütün yollardan aynı etkinlikte kullanılmalıdır.
- Suda iyi çözünmeli oda ısısında uzun sürede bozunmamalıdır.
- Adsorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım özellikleri hızlı ve sürekli ve bakterisid etki gösterecek şekilde olmalıdır.
- Kolay ulaşılabilmesi ve ucuz olmalıdır (Hancock, 2007).

2.2.1. Antibiyotikler ve tarihçesi

Antibiyotik sözcüğü yunanca anti ve bios sözcüklerinden türeyen ve “Bitkilerde ve küf mantarlarında bulunan ya da yapay olarak üretilen, bakteri ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini sonlandıran ya da yok olmalarını sağlayan maddelere verilen isimdir (Walsh, Antibiotics: Actions, Origins, Resistance, 2003).

Enfeksiyonları tedavi edecek maddelerin arayışı içinde olan Alman bakteriyolog Paul Ehrlich, 1909 yılında bulduğu arsenik temelli bir maddenin sifilizin erken

döneminde etkili olduğunu tespit etti ve bu maddeyi “savlarsan” olarak isimlendirdi. Salvarsan ile birlikte, 19. yüzyılın ortalarına doğru Louis Pasteur bazı mikroorganizmaların diğerlerini öldürdüğünü gözlemledi. 1928 yılında İskoç bilim adamı Alexander Fleming tesadüfen “*Penicilliumnotatum*” olarak isimlendirdiği bir mantar küfü süzüntüsünün stafilokokların gelişiminin fark etti. İlk antibiyotik 1929 yılında *Penicillium* küfü ile kontamine olmuş agar plağında stafilokokların üremesinin durduğunu gözleyen Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilmiştir. İkinci Dünya Savaşı sırasında savaş sonucunda oluşan yaraların sekonder bakteriyel enfeksiyonlarının ve pnömoni, sepsis gibi sistemik enfeksiyonların tedavi edilmesinde başarılı olunmuş ve bu enfeksiyondan kaynaklanabilecek ölümlerin büyük ölçüde önüne geçilmiştir (Tanır G., 1999).1940’lı yıllarda Howard Florey ve Ernst Chain’in Oxford Üniversitesi’nde Fleming’in mantar küfü süzüntüsünden penisilin tozunu izole ettiler. Elde edilen bu toz maddenin süzüntüden kat kat etkili olduğunu gözlemlediler. Penisilin ve hemen ardından Alman farmakolog Gerhald Domagk’ın keşfettiği streptekokları öldüren madde olan ve İsveçli bilim adamı Daniel Bovert’in “sülfonamid” dediği boyar maddenin de keşfi bugün de kullanılan bir çok antibiyotiğin ilham kaynağıdır (Khardori, 2006)

1935 yılında Domagh infeksiyon hastalıklarının modern kemoterapisini sulfonamid ilaçlarla başlatmış ve prontosil türü antibiyotik üzerinde yaptığı çalışmalar için 1938 yılında Nobel ödülü kazanmıştır. Hızlanan antibiyotik çalışmalarıyla on yıl içerisinde 5400 farklı sulfonamid türevi sentezlenmiş ve büyük çoğunluğu kliniklerde denenmiştir. 1942 yılına, yani penisilin ilk denemesine kadar sülfonamidler antibakteriyal tedavinin en etkili ilacı olarak kullanılmıştır (Koç Türkoğlu, 2008). Chain ve Flarey 1940 yılında *Penicillium notatum*’dan elde ettikleri bir maddenin mikroorganizmaları öldürdüğünü fark ettiler. Daha sonraları 1944 yılında Streptomisin, 1946 yılında kloramfenikol, 1948 yılında tetrasiklinler, 1952 yılında eritromisin, 1960’larda ise yeni kemoterapötikler sentezlenmiştir (Hancock, 2007).

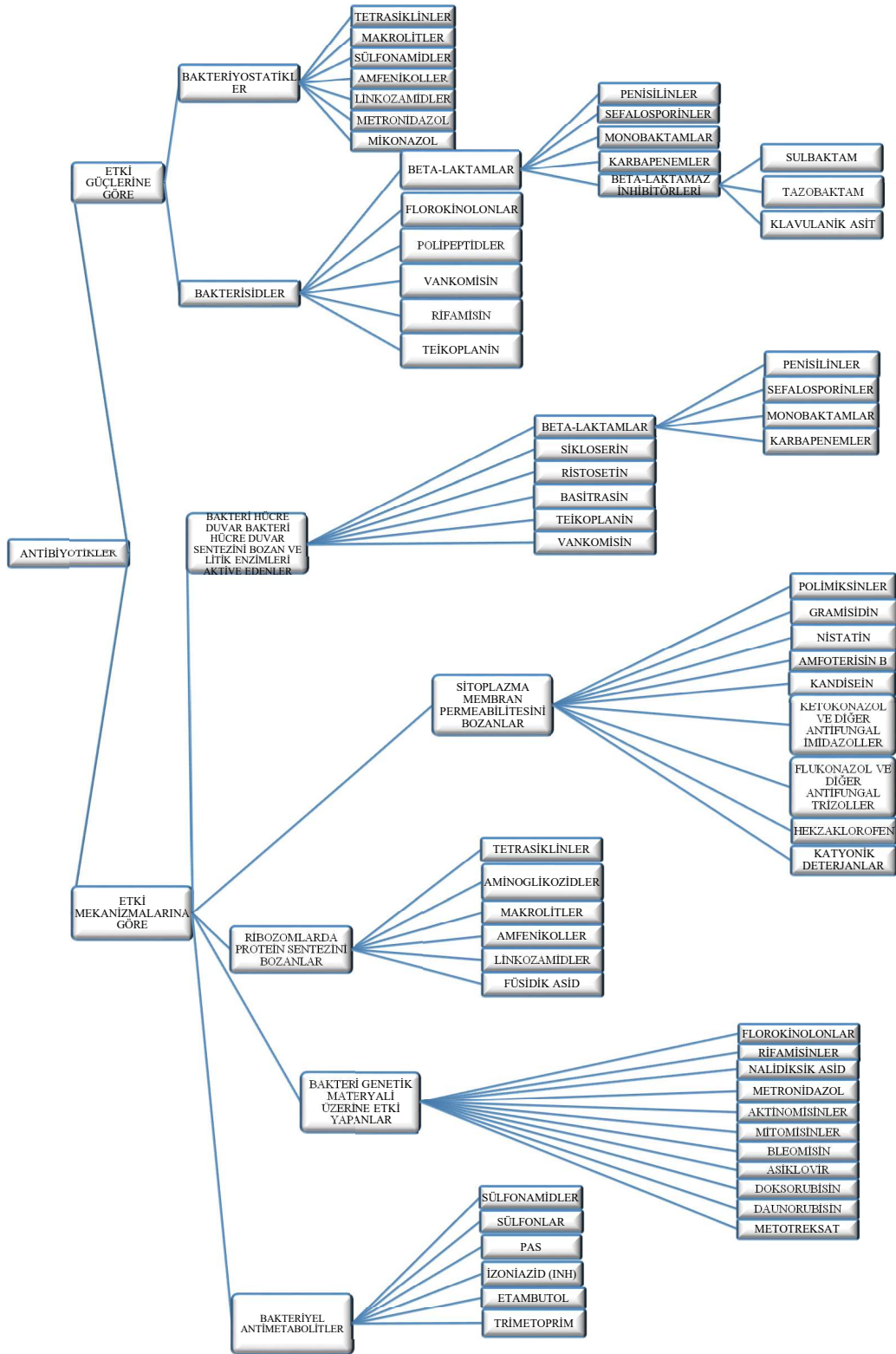
1950’li yıllardan sonra Pasteur ve Joubert steril idrarda iyi üreyen Çarbon basillerinin diğer bakterilerle kirlenmiş idrarda üreyemediklerini ve sonunda öldüklerini fark etmiş ve bu gözlemlerinin nedenlerini deneysel olarak ortaya çıkarmaları, enfeksiyonların antibiyotiklerle tedavisi alanındaki ilk adımları oluşturmuştur (Koç Türkoğlu, 2008).

1930-1960 yılları arasında penisilin ve sülfonamidler ile başlayan ve daha sonraları daha geniş spektrumlu antibiyotiklerin geliştirilmesiyle başlayan süreçte birçok

enfeksiyona bağlı hastalık tedavisi sağlandı. Şu an bilinen antibiyotik sayısı 5000 kadardır ve bunun yaklaşık 100 kadarı günümüzde kliniklerde kullanılmaktadır (Tanır G., 1999).

2.2.2. Antibiyotiklerin sınıflandırılması

Antibiyotikler için yapılmış pek çok sınıflandırma mevcuttur. Ancak en temel olarak yapılan sınıflandırma antibiyotiklerin etki mekanizmalarına ve etki güçlerine göre yapılan sınıflandırmadır (Bennet, Mandel, & Dolin, 1995). Şekil 2.8'de antibiyotiklerin sınıflandırılması gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Antibiyotiklerin sınıflandırılması

2.2.2.1. Etki güçlerine göre antibiyotiklerin sınıflandırılması

Antibiyotikler, vücutta mikroorganizmalar üzerindeki etkilerine göre ikiye ayrılırlar.

Bakteriyostatikler

Bu sınıf içerisinde bulunan antibiyotikler bakteri hücrelerinin gelişimini önleyerek veya üremesini engelleyerek etki gösterirler. Gelişmesi ve üremesi sonlanan bakteriler, vücuttaki bağışıklık sistemi hücreleri tarafından yok edilirler. Bakteriyostatik etki gücü “*Minimum inhibitör konsantrasyonu = MİK*” ile ifade edilir (Dökmeci, 1996).

Bakteriyostatik etki mekanizmasına sahip antibiyotik türleri Şekil 2.8 'de gösterilmiştir.

Bakterisidler

Bu sınıfa dâhil antibiyotikler bakterileri doğrudan yok ederler. Bakterisid etki gücünün göstergesi “*Minimum Bakterisid Konsantrasyonu = MBK*” ile ifade edilir (Dökmeci, 1996). Bunun anlamında sıvı kültür ortamında bulunan standart koşullardaki bakterilerin %99,9'dan fazlasını öldürüyorsa bakteriyostatik etki gösterir. Yani bakterilerin üremesinin durmasını sağlarlar (Kayaalp, 2009).

Bakterisid etki mekanizmasına sahip antibiyotik türleri Şekil 2.8. 'de gösterilmiştir.

2.2.2.2. Etki Mekanizmalarına göre antibiyotiklerin sınıflandırılması

Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler beş sınıf içerisinde incelenir.

Bakteri hücre duvar sentezini bozan ve litik enzimleri aktive edenler

Bakteri hücrelerinin tamamında lipid yapıda bir sitoplazma membranı ve buna ilave olarak dış yüzeyi saran bir hücre duvarı bulunur. Gram negatif bakterilerdeki hücre duvarı gram pozitif bakterilere göre daha incedir. Gram pozitif bakteri hücre duvarında peptidoglikan ve teikoik asit bulunurken, gram negatif bakteri hücre duvarlarında ise peptidoglikan tabaka (mürein tabakası) ve dış tarafında lipopolisakkarit-lipoproteinden oluşan ikinci bir duvar daha bulunur. Gram pozitiflerde bulunan peptidoglikan tabaka gram negatifler bakterilere göre daha kalındır. Hücre duvarı, yüksek iç osmotik basıncı

koruyarak hücre bütünlüğünü sağlar ve bunu peptidoglikan tabakası sayesinde yapar (Gülay, 2003), (Demir, 2006).

Peptidoglikan tabakasını zayıflatan maddeler bakterinin şeklini ve bölünme özelliğini kaybetmesine ve osmotik lizisle parçalanmasına neden olurlar. Hücre duvar sentezini inhibe eden maddelerin tamamı peptidoglikan sentezinin farklı basamaklarında görev alırlar. Peptidoglikan yapı sadece prokaryotlarda bulunan bir yapı olduğundan aslında sadece bu yapıyı etkileyen maddelerin konakçı üzerinde toksisitesinin düşük olması beklenir. Ama bazı antibiyotiklerin hedef aldıkları bölgelerin bağlanma noktaları ökaryotik canlılarda da bulunmaktadır. Bu yüzden konakta toksik etki oluşumu görülebilmektedir. Hücre duvar sentezinde yer alan üç farklı enzim vardır. Bunlar;

- Transpeptidasyon basamağında görev alan penisilin bağlayan proteinler (PBPlar),
- Pentapeptid zincir sentezinin yürütüldüğü mur enzim sistemleri,
- Hücre duvarını parçalayan enzimlerdir. Hücre duvarı sentezini inhibe eden maddeler, Beta- laktamlar ve beta- laktam halkası içermeyenler olarak iki gruba ayrılırlar(Kiraz, 2006).

Penisilin, sefalosporin, klavulonik asit, sulbaktam, karbapenemler, beta-laktam/ betalaktamaz inhibitörü kombinasyonları, aztreonam, vankomisin, sikloserin, teikoplanin, fosfomisin, basitrasin bu gruba dahil antibiyotik türleridir. Bunların çoğu bakterisid etkili ilaçlardır. Yani doğrudan bakterileri öldürürler. Gelişmekte olan bakterileri öldürürler, ancak gelişimini tamamlayan bakteriler üzerinde etkileri yoktur. Bunun sebebi gelişimini tamamlayan bakterilerin hücre duvarı sentezini tamamlamış olmasıdır. Ancak etkilerini hücre duvarı sentezi tamamlanmadan gösterebilirler (Kayaalp, 2009).

Sitoplazma membranpermeabilitesini bozanlar

Bu tip antibiyotikler bakteri hücresinin çeperini parçalarlar, yani bir nevi deterjan etkisi gösterirler. Bu grupta, polimiksinler, siklosporin A, gramisidin, amfoterisinB, nistatin ve katyonik deterjanlar bulunur. Hücre membranı zarar gören ve parçalanan bakteri hücrelerine ait amino asit ve nükleotitler hücre dışarısına çıkar ve hücre ölür. Bakterisid etki göstermiş olur (Kayaalp SO, 1994).

Ribozomlarda protein sentezini bozanlar

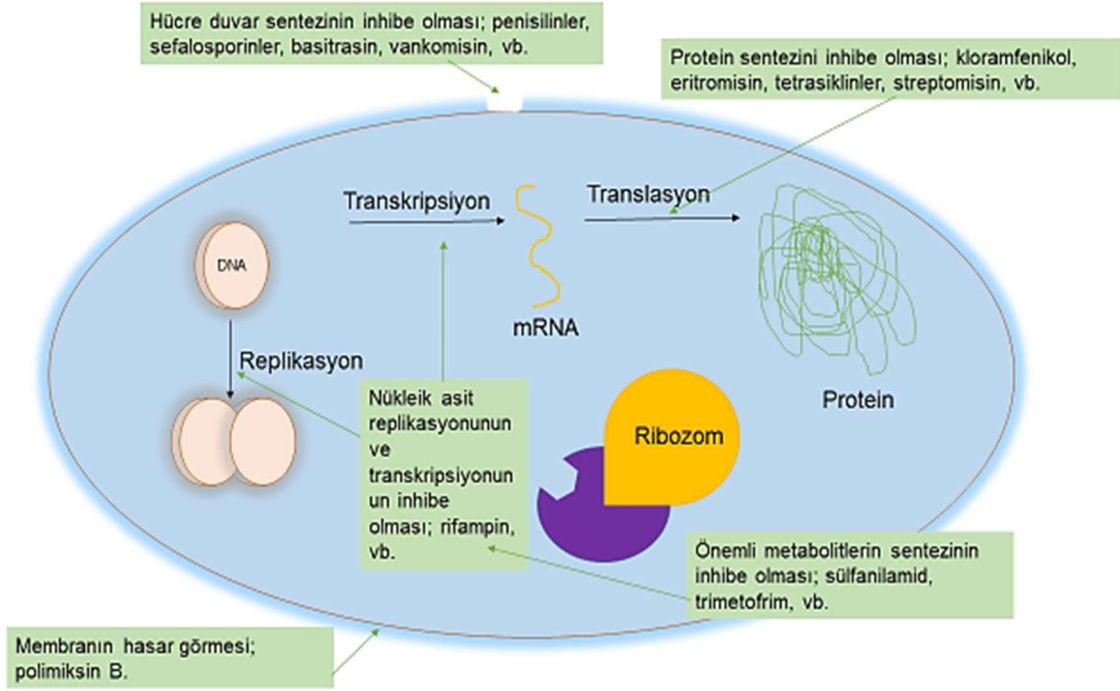
Hücrede protein sentezinden sorumlu olan ribozom organeli, bakterilerde 70 S ribozomudur ve insanlardaki 80 S ribozomuna göre antibiyotiklere duyarlılığı daha fazladır. 70 S ribozomun 23 S, 16 S ve 5 S proteinlerine sahiptir ve 70 S ribozomu protein sentezi esnasında 30 S ve 50 S alt birimlerine ayrılır. 30 S alt ünitesine bağlanan antibiyotik türleri, aminoglikozidler, tetrasiklin, 50 S alt ünitesine bağlanan antibiyotikler, kloramfenikol, tiamfenikol, eritromisin, azitromisin, spiramisin, klaritromisin, klindamisin ve linkomisinidir. Aminoglikozidler bakteriyostatik özelliğe sahipken geri kalan tamamı ise bakterisiddir. Protein sentezini engelleyen bu grup antibiyotikler memeli hücrelerinin mitokondrilerinde bulunan 55S ribozomları tarafından sağlanan protein sentezini inhibe ederken 80S ribozomunda etkili değildir (Kayaalp, 2009).

Bakteri genetik materyali üzerine etki yapanlar

Bu tip antibiyotikler bakteri hücresindeki genetik materyali hedef alır. Antineoplastikler ve rifamisinler, protein sentezinde görev yapan ve DNA'ya bağlı olarak çalışan RNA polimeraz enzimini inhibe eder. RNA polimeraz enzimi olmadan mRNA sentezi yani transkripsiyon adımı gerçekleşmeyeceğinden bakteri hücresi çoğalamaz. Kinolonlar grubu antibiyotikler DNA giraz enzimini inhibe ettiğinden bakteri ölür. Mitomisinler ise DNA zincirinin alkilenmesine sebep olur. Alkilenen DNA parçalanır ve molekülleri birbirinden ayrılır, böylece ölür ve DNA replikasyonu durduğu için çoğalamaz (Kayaalp, 2009).

Bakteriyel antimetabolitler

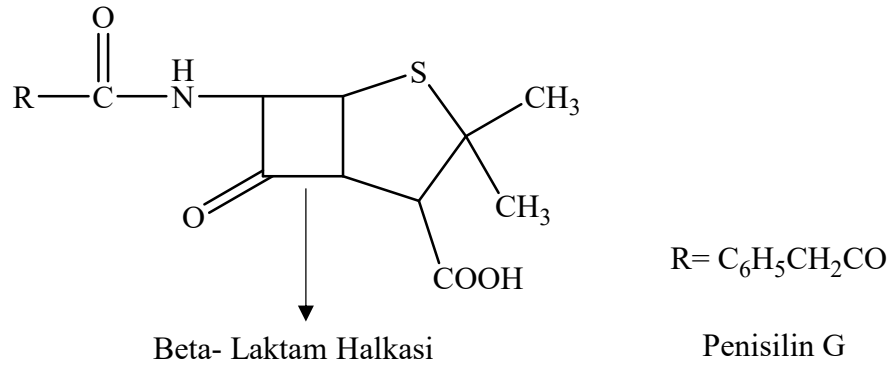
Sülfonamidler, sülfonlar, trimetoprim, p-aminosalisilikasid, izoniazidler ise bakterinin canlı kalması için gereken metabolitlerin üretilmesine engel olarak bakterinin ölmesini sağlarlar.



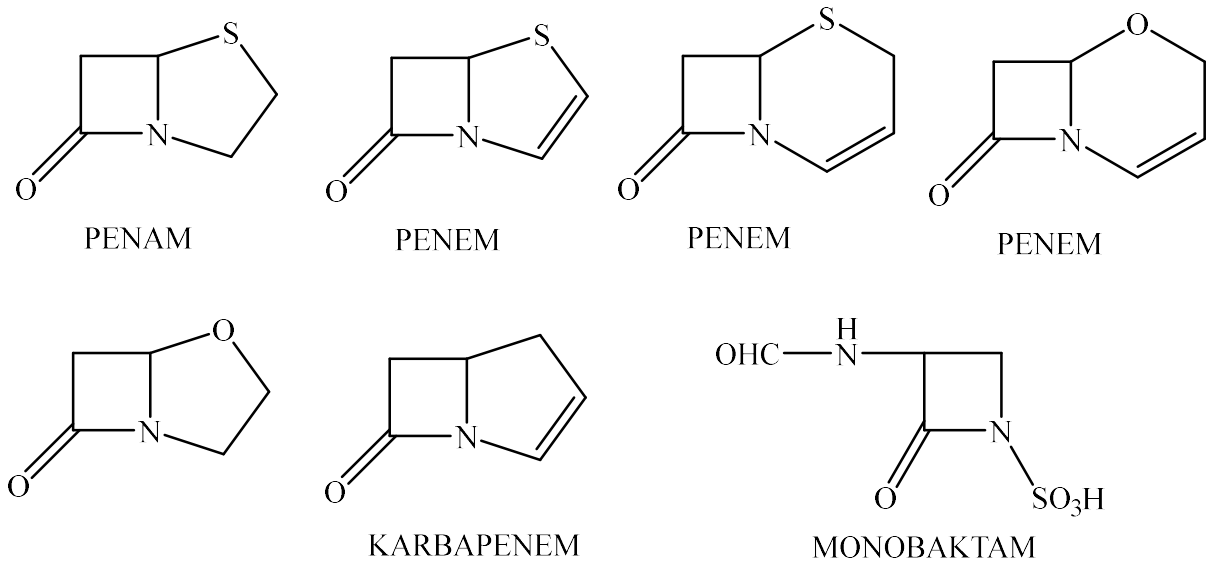
Şekil 2.9. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları

2.2.3. Beta- laktam grubu antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotikler; antibakteriyel etki alanları, kimyasal yapıları ve farmakokinetik özellikleri farklı pek çok antibiyotiğin bulunduğu geniş bir gruptur. Bu gruba ait antibiyotilerde ortak olarak bir beta-laktam halkası (Şekil 2.10.) bulunur (Gülay, 2003). Beta-laktam halkası tiazolidin halkasına bağlı olarak bulunur. Beta-laktam halkasının beta-laktamaz enzimi ile etkileşmesi sonucu antibiyotiğin biyolojik aktivitesi yok olur. Yan zincirdeki grupların değişmesi ile ise antibiyotiğin beta-laktamaz enzimine karşı hassasiyeti, antibakteriyel spektrumu ve farmakolojik özellikleri değişir (Richmond, 1979). Bu grupta bulunan antibiyotiklerin etki mekanizmaları ve kendilerine karşı gelişen direnç yolları aynıdır (Neu, 1983). Bu grup içinde yer alan antibiyotikler; penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler ve betalaktam/ betalaktamaz inhibitörü kombinasyonlarıdır.



Şekil 2.10. Beta- laktam halkası



Şekil 2.11. Çeşitli beta- laktam grubu antibiyotikler

Beta-laktam antibiyotiklerin tamamı bakterilerde hücre duvar sentezinde görevli penisilin bağlayan proteinlerin (PBP) transpeptidaz aktivitesini bloke ederek peptidoglikan sentezini engelleyerek etki gösterirler. Hücre duvar sentezi yapamayan bakteri lizise uğrar ve ölür. Beta-laktamlar bakterisidal etkileri yavaştır. Beta-laktam antibiyotiklerin etki hızları dozdan çok süreye bağlıdır. Bunun anlamı enfeksiyon olan bölgede antibiyotik derişiminden çok ne kadar süre bulunduğu daha önemlidir. Antibiyotik o bölgede ne kadar uzun süre bulunursa etki o kadar hızlı olur. Beta-laktamlar sadece üreme sürecinde olan bakterilerde etkilidir. Maksimum etki gösterdikleri konsantrasyon ise minimum inhibasyon konsantrasyonlarının (MİK) dört katına ulaştığında görülür (Akalin, 1994), (Andriole, 1998), (Cunha, 1995).

2.2.3.1. Penisilinler

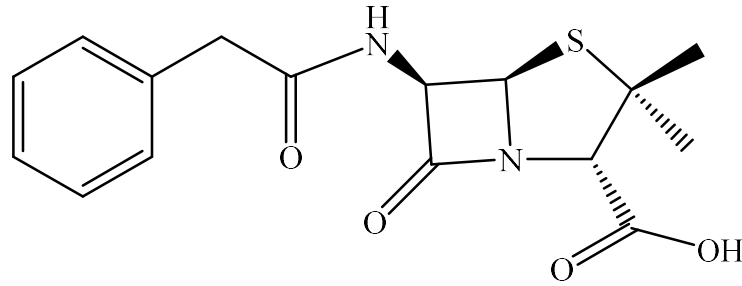
İlk kez 1928 de Fleming, *Penicilliumnotatum* adındaki bir mantarın stafilokokların parçalanmasına neden olan bir madde keşfetmiş ve buna penisilin adını vermiştir. Saha sonralarda ise 1940'lı yıllarda saflaştırılmış ve klinik olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Penisilinlerin hepsinin kimyasal yapısında β laktam halkasına bağlı beş üyeli bir tiyazolidin halkasından oluşan 6 aminopenisilanik asit çekirdeği bulunur (6-APA) (Çetin, 1986). Beş grupta incelenirler (Demir, 2006).

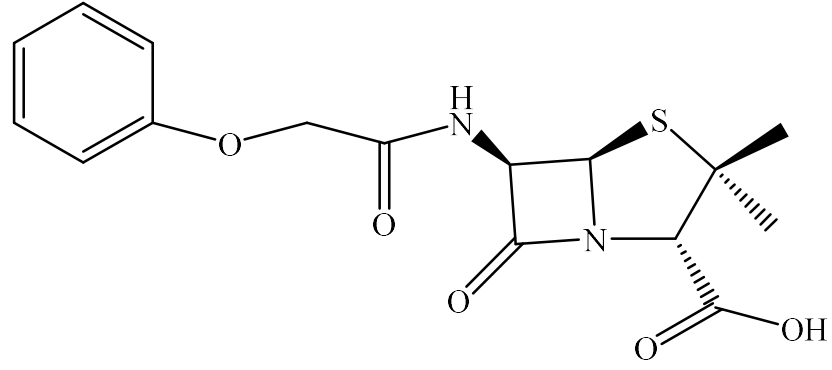
2.2.3.2. Doğal penisilinler

Doğal penisilin grubunda bulunan penisilinler; penisilin G ve penisilin V (fenoksimetilpenisilin) dir. Penisilin G (Şekil 2.12) parenteral yolla kullanılan penisilin ve penisilin V (Şekil 2.13) oral yolla kullanılan penisilindir. Penisilin G mide asidinde inaktif olduğu için parenteral yolla kullanılır. Penisilin V oral kullanılan tek penisilindir. Ciddi enfeksiyonlarda önerilmezken, hafif ve orta dereceli enfeksiyonlarda ve doku zedelenmelerinde kullanılmaktadır (Gülay, 2003). Beta-laktamaz üretmeyen gram pozitif kok ve basiller, anaeroblar, *Neisseria* türleri, *Haemophilus* türleri ve *Pasteurella multocida* gibi gram negatif bakterilere, *Treponema* ve *Leptospira* gibi spiroketlere karşı etkilidir. Enterekoklara ve beta-laktamaz üreten bakterilere karşı dirençlidir (Saran & Karahan, 2010)

Doğal penisilinler başlıca gram-pozitif bakterilere etkilidir. A-grubu beta-hemolitikstreptokoklar ve pnömokoklar etkili olduğu bakteriler arasındadır. Stafilokokların ise %90'ından fazlası salgıladıkları penisilinaz enzimi ile penisilin aktivitesini inaktive eder. Gram negatif bakterilere karşı ise etkisizdirler.



Şekil 2.12. Penisilin G

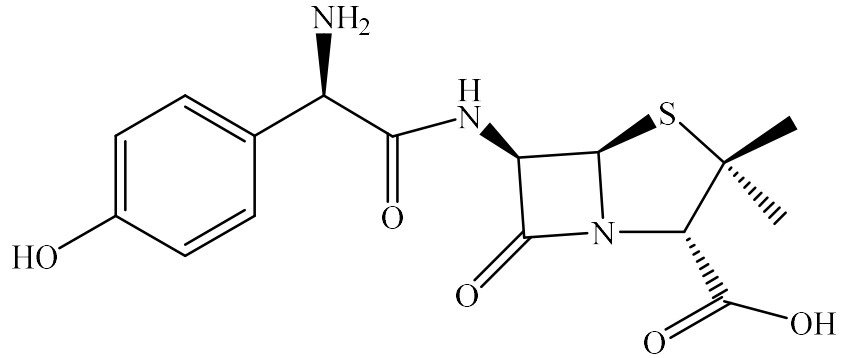


Şekil 2.13. *Penisilin V*

2.2.3.3. *Aminopenisilinler*

Doğal penisilinlerin aksine etki spektrumuna *E.coli*, *P.mirabilis*, *Salmonella* ve *Shigella* gibi bazı gram-negatif bakteriler dâhildir. Beta-laktamaz üreten tümbakterilere ve *P.aeruginosa*'ya karşı etkisizdirler. Bu grubun üyeleri ampisilin, amoksisilin ve bakampisilindir.

B- laktamaz üreten tüm bakterilere ve *P. aeruginosa*'ya karşı etkisizdirler. Bu grupta ampisilin, amoksisilin ve bakampisilin bulunur. Ampisilin hem oral hem parenteral kullanılabilir. Gruptaki diğer ilaçların yalnız oral kullanımları mümkündür. Amoksisilin biyoyararlanımı ampisiline göre daha yüksektir (Ulusoy, 2003).



Şekil 2.14. *Amoksisilin*

2.2.3.4. *Karboksipenisilinler*

Bu grupta tikarsilin ve karbenisilin bulunur. Aminopenisilinlerin etki alanına ek olarak *P.aeruginosa*, *Serratia* ve *Enterobacter* türlerine karşı da etkilidir. Ancak, günümüzde oldukça yüksek direnç oranına sahip olmaları ve yine çok yüksek oranlarda tuz içermeleri sebebiyle kullanılmamaktadırlar (Ulusoy, 2003).

2.2.3.5. Üreidopenisilinler

Diğer isimleri antipseudomonal penisilinler veya geniş spektrumlu penisilinlerdir. Bu grupta; azlosilin, piperasilin ve mezlosilin olup, bunlar ampisilinin yarı-sentetik türevleridir. Hepsi monosodyum tuzu şeklinde kullanılırlar. Birincil etkinlikleri gram- negatif bakterilere ve *P.aeruginosa* ' e karşıdır.

2.2.3.6. Penisilinaza dirençli penisilinler (Antistafilokoksik penisilinler)

Stafilokok grubunun hemen hemen tamamı penisilinaz enzimi sentezler. Bu enzim penisilini inaktif eder. Bu grupta bulunan penisilinler ise penisilinaza karşı dayanıklıdır. Hemen tamamının salgıladığı penisilinaz enzime dayanıklı olan tek penisilin grubudur. Bunun dışında streptokoklara karşı da etkilidirler. Klinik olarak sadece stafilokok enfeksiyonlarında kullanıldıklarından penisilinaza karşı dayanıklı penisilinlere antistafilokoksik penisilinler denir. Bu gruba dahil penisilinler nafsilin, metisilin, oksasilin, kloksasilin, dikloksasilin ve flukloksasilindir.

Penisilinlerin klinik kullanımları

Penisilin G

A,B,C,G grubu streptokoklarla oluşan enfeksiyonlar (tonsillofarenjit, erizipel, impetigo gibi), duyarlı *S.pneumoniae* ' nin neden olduğu menenjit, pnömoni, gibi enfeksiyonlar, *N.meningitidis* menenjit, gonore, sifilis, tetanoz, şarbon, aktinomikoz gibi enfeksiyonlarda kullanılırlar (Akalin, 1994).

Penisilinaza dirençli penisilinler

Penisilinaz yapan ama metisiline duyarlı stafilokokların neden olduğu osteomyelit, endokardit, sepsis, yumuşak doku enfeksiyonları, menenjit gibi stafilokok enfeksiyonlarında kullanılırlar (Bennet, Mandel, & Dolin, 1995).

Üreidopenisilinler

Gram-negatif bakteriler ve *P.aeruginosa* ' nın neden olduğu daha çok hastane kökenli sepsis, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu, intra-abdominal enfeksiyonlar (antianaerop bir ajanla kombine), deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında kullanılır (Akalin, 1994).

Aminopenisilinler

Beta-laktamaz yapmayan *H.influenzae*'nin neden olduğu menenjit, otitismedia, sinüzit, pnömoni gibi enfeksiyonları, *Listeriamonocytogenes*menenjiti, komplike olmayan üriner sisteme, tifo, basilli dizanteri gibi enfeksiyonlarda kullanılır (Gülay, 2003).

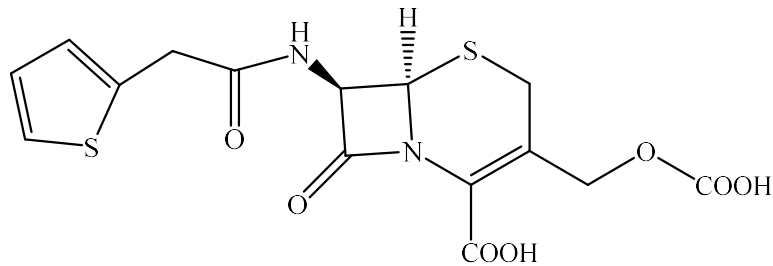
2.2.3.7. Sefalosporinler

1945'te *Cephalosporicum acremonium* isimli bir mantardan elde edilmiştir. Sefalosporin C ilk sefalosporin türüdür (Öncül, 2002). Kimyasal yapısında altı üyeli dihidrotiyazin halkası ve buna bağlı dört üyeli β laktam halkası bulundurur (Gülay, 2003). Beta-laktam halkasının yedinci pozisyonundaki farklılıklar antibakteriyel etkinin üçüncü pozisyonundaki farklılık gösteren yan dallar ise farmakokinetik ve toksik özelliklerinin değişiklik göstermesine neden olur (Öncül, 2002) Sefalosporinlerin çekirdeğini 7-aminosefalosporinik asit oluşturur (Kemoterapötik İlaçlar, 2011). Diğer beta-laktam grubu antibiyotikler gibi hücre duvarının sentezini bozarak ve otolitik enzimleri aktif ederek bakterisidal etki oluştururlar.

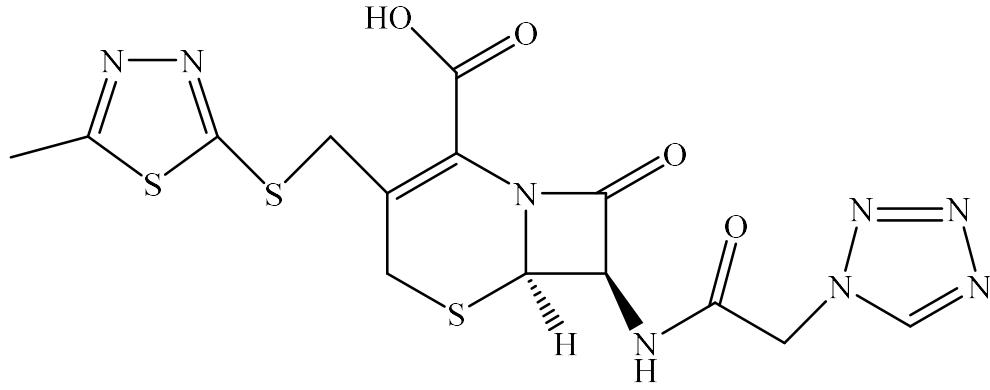
Sefalosporinler etki spektrumlarına göre dört kuşak olarak incelenirler. Genel anlamda kuşak sayısının artması gram-negatif etkinlik artar, kuşak sayısı azaldıkça ise gram pozitif etkinlik artar(Öncül, 2002).

1. Kuşak sefalosporinler

Gram-pozitif bakterilere karşı en etkili grup sefalosporin grubudur. Streptokoklara, metisiline duyarlı *S aureus*ve, *S epidermidis*'e çok etkilidir. Bu nedenle antistafilokoksiksefalosporinler olarak da bilinirler. Genel olarak, yumuşak dokufeneksiyonlarıgibi stafilokoksikenfeksiyonlarda ilk tercih edilen ilaçlardır. Bunun dışında idrar yolu enfeksiyonları ve safra enfeksiyonlarında da kullanılabilirler (Gülay, 2003).



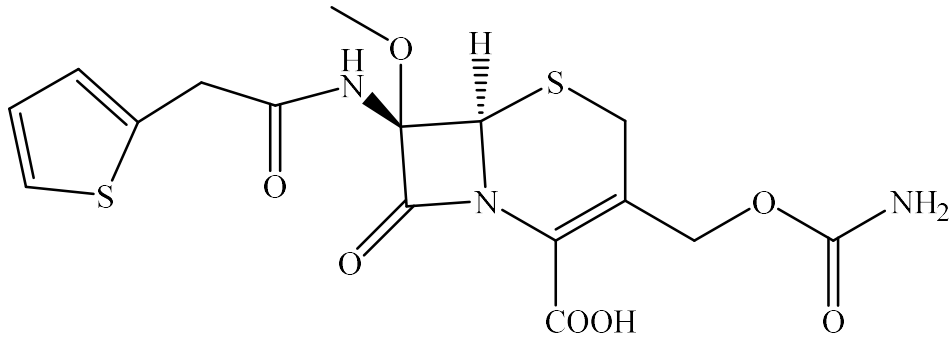
Şekil 2.15. Sefalotin



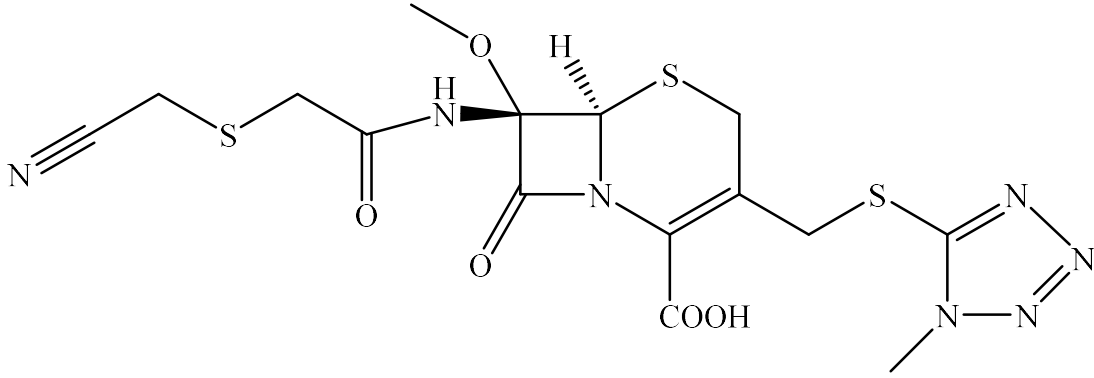
Şekil 2.16. Sefazolin

2. Kuşak sefalosporinler

Sefaklor, sefuroksim, sefuroksimaksetil, sefprozil bu gruba ait antibiyotiklerdir. İkinci kuşak sefalosporinler ile birinci kuşak sefalosporinler birbirine yakın veya eşit bir gram-pozitif etkinliğe sahiptir. İkinci kuşak sefalosporinlerin birinci sınıf sefalosporinlere göre gram-negatif etkinlikleri biraz daha fazladır. Asıl önemli özellikleri *H.influenzae*, *S.pneumoniae* ve *M catarrhalis* gibi solunum yolu patojenlerine karşı çok yüksek etkinliğe sahip olmalarıdır. Sefoksitin ise bu grupta bulunan diğer tüm sefalosporinlerden farklı olarak çok iyi bir antianerop etkinliğe sahip olmasıdır. En çok kullanıldıkları alan solunum yolu enfeksiyonlarıdır. Akut tonsillofarenjitler, akut otits media ve akutsinüzit gibi üst solunum yolu enfeksiyonları, pnömoni ve KOAH alevlenmeleri gibi altsolunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde ilk akla gelen seçenekler arasındadırlar. Bunun dışında, basit üriner sistem enfeksiyonları, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında da tercih edilmektedirler (Khardori, 2006).



Şekil 2.17 Sefoksitin



Şekil 2.18. Sefmetazol

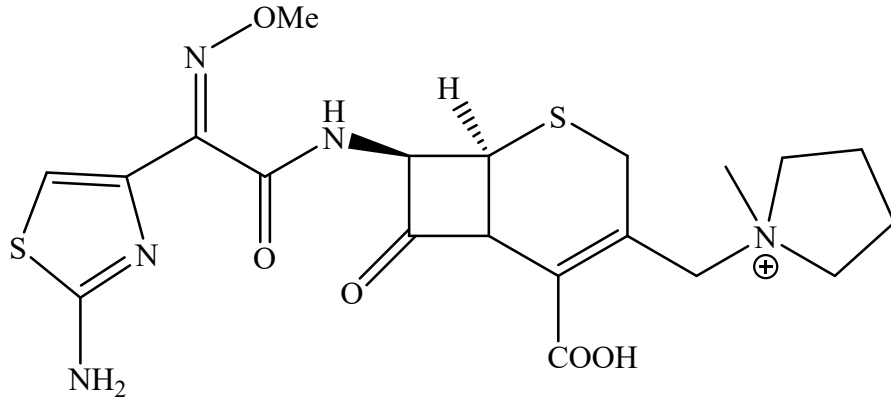
3. Kuşak sefalosporinler

Üçüncü kuşak sefalosporinlerin etki spektrumları bir ve ikinci kuşak sefalosporinlerden daha geniştir. Bir ve ikinci kuşak sefalosporinlerin etki spektrumunda bulunan bakterilere ek olarak, Serratia, Pseudomonas, Citrobacter ve Enterobacter gibi gram negatif bakterilere etki gösterirler (Öncül O.,2002). E. coli, P. mirabilis, Klebsiella, Neisseria ve H. influenzae gibi birçok bakteriye karşı son derece etkilidirler. Fakat hiçbiri iyi bir anti-anaerop etkinliğe sahip değildir (Ulusoy, 2003). Diğer kuşak sefalosporinlerden en önemli farkları ve üstünlükleri BOS geçmeleridir. Sefotaksim ve seftriakson genellikle penisiline dirençli pnömokoklara karşı da etkilidir. Gram pozitif etkinliği en iyi olan türü sefotaksimdir. Bunun dışında 1. kuşağa kıyasla oldukça düşüktür. Bu gruptaki antibiyotiklerin tamamı parenteral yoldan kullanılırlar. Oral yolla tek kullanılan sefiksimdir. Sefotaksim, seftriakson, seftazidim ve sefiksimin BOS'a geçişi iyi olduğundan için aminoglikozitlerle kombine olarak akut pürülan menenjit tedavisinde başarıyla kullanılmaktadır (Gülay, 2003). Bunun dışında, pnömonide, ciddi üriner sistem enfeksiyonlarında, viridans streptokok kaynaklı endokarditlerde, gonokok enfeksiyonları ve hastane ortamında gelişen ciddi enfeksiyonların tedavisinde, yumuşak doku enfeksiyonlarında, osteomyelit, septik artrit, akut bakteriyel menenjit, abdominal, jinekolojik ve diyabetik ayak enfeksiyonlarında ve çeşitli gram negatif bakterilerle oluşan sepsis olgularında kullanılmaktadır (Nemutlu & Kır, 2009).

4. Kuşak sefalosporinler

Bu grupta sefepim bulunur. Sefepimin gram-negatifbakterilere karşı etkinliği mükemmeldir. 3.kuşaklar antibiyotiklerden farklı olarak *Enterobacter* türlerine etkinliğide çok iyidir. *P.aeruginosa*'ya etkinliği en az seftazidim kadardır. 3.kuşaklardan

farklı olarak gram-pozitif bakterilere karşı daha etkilidirler. Amaantianerop etkinliği iyi değildir. Kullanım alanları ise 3.kuşak sefalosporinlere benzerdir (Öncül, 2002).

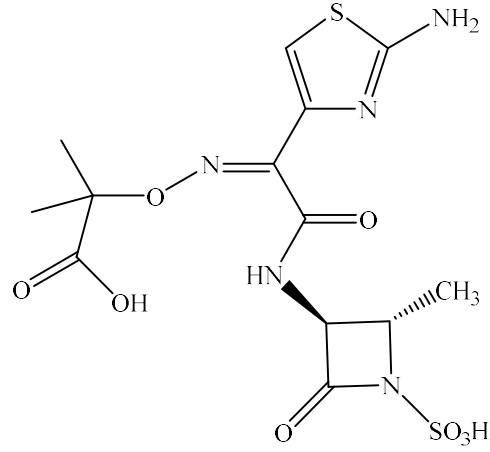


Şekil 2.19. Sefepim

2.2.3.8. Monobaktamlar

Penisilin ve sefalosporinlerden farklı olarak beta- laktam halkasına ilave başka bir halka yapısına sahip olmamalarıdır (Demir, 2006). Gram negatif bakterilere etkili diğer bakterilere karşı etkisiz olduklarından dar spektrumludurlar. Bu grup antibiyotiklerden sadece klinikte kullanılan aztroenamdır. Aztroenametki mekanizması bakteride PBP-3'e bağlanmaktadır. Oral kullanımının etkisi düşüktür. Bu yüzden parenteral kullanımı tercih edilir (Öncül, 2002). Polimikrobik enfeksiyonların tedavisinde ve idiyomatik enfeksiyonlarda kullanımı için uygun değildir.

Aztreonam özellikle piyelonefrit ve üriner sistem enfeksiyonlarında aminoglikozidler ile birlikte alternatif olarak kullanılır. Bunun sebebi aminoglikozidler kadar toksik değildir ve bunun yanında en önemli avantajı ise penisilin alerjisi olan bireyler tarafından da kullanılabilir olmasıdır. Diğer bir avantajı ise penisiline alerjisi olanlar kullanabilir. Alt solunum yolu enfeksiyonları, pnömoni, bronçit, septisemi, cilt kaynaklı enfeksiyonlar, yara enfeksiyonları, intraabdominal enfeksiyonlar, peritonit, jinekolojik enfeksiyonlarda kullanılır (Gülay, 2003).



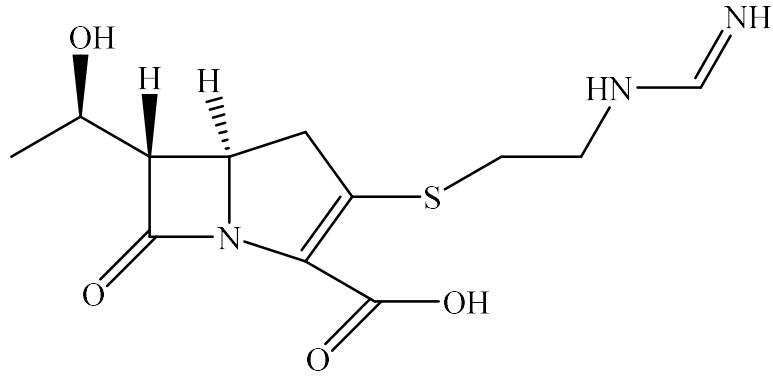
Şekil 2.20. Aztreonam

2.2.3.9. Karbapenemler

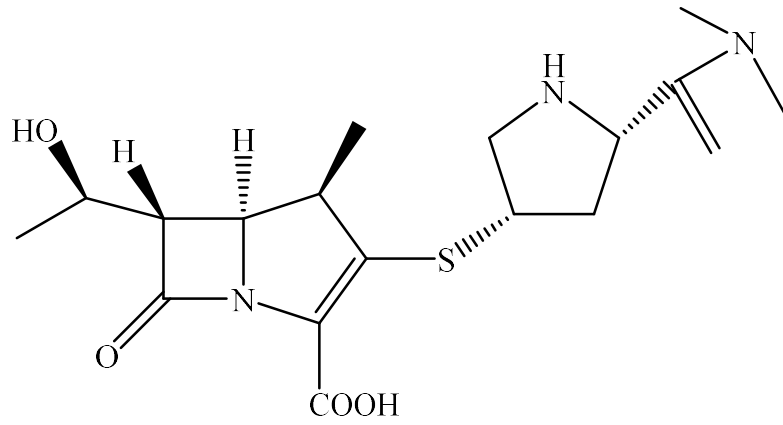
Penisilinlerin sahip olduğu beş üyeli ve çiftli bağ içeren halka yapısında bulunan kükürt yerine metilen molekülü geçmiştir (Demir, 2006). Bu değişiklik, antibiyotığın bakterideki aktif bölgeye bağlanmasını arttırmıştır. Bunun anlamı antibiyotığın etki spektrumunun artması demektir. Molekül ağırlıklarının düşük oluşu, bakteri hücre membranından kolayca geçiş yapmasına yardımcı olur. Beta-laktam halkasında bulunan hidroksietil yan zincirinin penisilin ve sefalosporinlerde cis konumundadır. Karbapenemlerde ise trans konumunda bulunur. Bu da karbapenemlerin beta-laktamaz enzimlerine karşı daha dayanıklı olması demektir (Öncül, 2002).

Etki mekanizmalarını tüm beta-laktam antibiyotiklerde olduğu gibi PBP'lere bağlanıp peptidoglikan tabaka sentezini önleyerek gerçekleştirirler. Penisilin ve sefalosporinler PBP 3'e bağlanırken karbapenemler ise PBP 1, 2 ya da 3'e bağlanırlar. Karbapenemlerin penisilin ve sefalosporinlerden farkı, birçok gram negatif bakterilere karşı güçlü bir postantibiyotik etkiye sahip olmasıdır (Öncül, 2002). Karbapenem grubu antibiyotikler oldukça geniş bir spektruma sahip olduklarından kullanılırken son çare olarak değerlendirilmelidir. Çok güçlü beta-laktamaz indüklemeye özelliğine sahiptirler. Bu yüzden beta-laktamlarla kombinasyonlarının kullanımı uygun değildir (Gülay, 2003), 2003). Son derece güçlü olan bu beta-laktamaz grubunun bilinçsiz kullanımı bakterilerin karbapenamlara karşı direnç mekanizmaları geliştirmesine sebep olmuştur (Öncül, 2002).

İmipenem, meropenem, ertapenem ve doripenem bu gruba aittir.



Şekil 2.21. İmipenem



Şekil 2.22. Meropenem

Son yıllarda kliniklerde kullanılmakta olan antibiyotikler içerisinde en geniş etki alanına sahip olan gruptur. Bunlardan klinik kullanımda olan iki karbapenem imipenem ve daha sonra kullanıma giren meropenemdir. Etki alanları neredeyse aynıdır. Meropenemin gram-negatif, imipenemin ise gram-pozitif etkinliği biraz daha fazladır. Anaeroplara etkinlikleri arasında ise fark yok denecek kadar azdır. Her iki karbapenem de gram-negatif enterik bakteriler, non-fermantatif bakterilerden *P.aeruginosa* ve *Acinetobacter* türlerine karşı çok etkindirler. *H.influenzae*, *Neisseria* türlerine de çok etkilidirler. Yalnız, *Burkholderia cepacia* ve *Stenotrophomonas maltophilia*' ya etkindeğildirler. Gram pozitif bakterilerden streptokoklara, pnömokoklara, stafilokoklara (metisiline duyarlı olanlar) karşı etkinlikleri çok iyidir. Metisiline dirençli stafilokoklara, enterokoklara ve *Corynebacterium* türlerine etkin değildir. *Clostridium difficile* dışındahemen tüm anaeroplara karşı çok iyi etkinlikleri vardır.

Karbapenem grubu antibiyotikler son derece geniş spektrumlu oldukları için rezerv olarak saklanmalı ve her zaman son seçenek olarak kullanılmalıdırlar. Geniş spektruma

sahip olmalarından dolayı genelde bazı istisnalar dışında tek ilaç olarak kullanılırlar. Bu yüzden, daha çok kaynağı bilinmeyen sepsis gibi ciddi enfeksiyonların ampirik başlangıç tedavisinde, birden çok bakteri ile oluşan mikst enfeksiyonlarda, ciddi *P.aeruginosae* enfeksiyonlarında, çoklu dirence sahip gram-negatif bakterilerin sebep olduğu hastanede gelişen pnömoni, gram negatif bakteremi/ sepsis, komplike üriner sistem enfeksiyonları, pelvik ve intra-abdominal enfeksiyonlar, tedaviye cevap vermeyen gram-negatif bakteri osteomyelitlerinde ve febrilnötropenikhastaların ampirik başlangıç tedavilerinde kullanılırlar (Ulusoy, 2003).

2.2.3.10. Beta- laktam/ beta- laktamaz inhibitör kombinasyonları

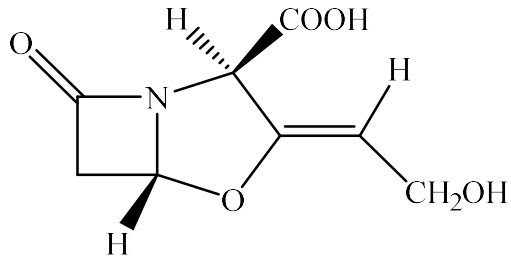
Beta-laktam antibiyotiklere karşı bakterilerin kullandıkları en yaygın direnç mekanizması, salgıladıkları beta-laktamaz enzimi ile beta-laktam halkasını parçalayarak antibiyotiğin etkisiz hale getirmektir. Farklı bakteriler tarafından plazmid veya kromozomların kontrolünde sentezi gerçekleşen pek çok ve farklı kimyasalyapılarda beta-laktamaz enzimleri bulunmaktadır (Saran & Karahan, 2010), (Ulusoy, 2003). *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* gibi bakteriler beta-laktam antibiyotiklerin etkisini kaybetmesine neden olan beta-laktamaz enzimini sentezleyebilen ve günümüzde ciddi problemlere sebep olan bakterilerdir (Tunalı, Karaca, Öztürk, & Korkmaz, 2009). Sentezlenen beta-laktamaz enzimi penisilin, sefalosporin, monobaktam veya karbapenem grubu antibiyotikleri etkisiz hale getirebilir (Gülay, 2003). Bu durumu önlemek adına beta-laktam antibiyotikler, beta-laktamaz inhibitörleri ile kombine edilerek kullanılırlar (Saran & Karahan, 2010).

Beta-laktamaz inhibitörleri, aynı beta-laktam antibiyotikler gibi yapılarında beta-laktam halkasına sahip kimyasal maddelerdir. Yalnız başına kullanıldıklarında antibiyotik etkileri ya yok ya da yok denilecek kadar azdır. Etkilerini beta-laktamaz enziminin aktif bölgesine bağlanarak gösterirler ve bu bağlanma sonucunda enzim inaktif olur (Tülek, 2000). Günümüzde kliniklerde kullanımı olan üç adet beta-laktamaz inhibitörü vardır. Bunlar; klavulanik asid, tazobaktam ve sulbaktamdır (Gülay, 2003). Amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin-sulbaktam, tikarsilin-klavulanik asit, piperasilin-tazobaktamdan gibi çeşitli kombinasyonlar mevcuttur. en geniş spektrumlu kombinasyon ise piperasilin-tazobaktam kombinasyonudur (Saran & Karahan, 2010).

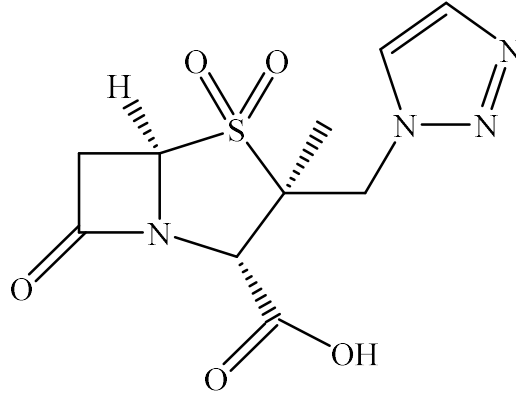
Ampisilin-sulbaktam ve amoksisilin-klavulanik asit kombinasyonları genel olarak; akut sinüzit, akut otitis media, pnömoni, kronik obstrüktif akciğer hastalığı,

yumuşak doku ve deri enfeksiyonları, diyabetik ayak enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılmaktadır.

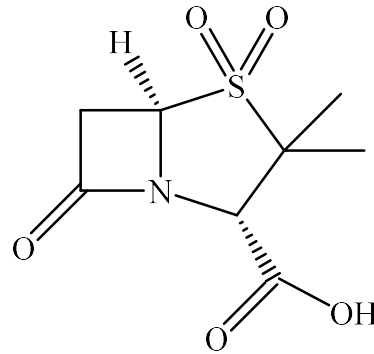
Tikarsilin-klavulanik asit ve piperasilin-tazobaktam kateter kullanımından kaynaklanan bağlı üriner sistem enfeksiyonları, hastanede gelişen; pnömoniler, bakteremiler, intraabdominal ve intrapelvik enfeksiyonlar, osteomyelitler, sepsis, nedeni bilinmeyen mikst enfeksiyonlar, yoğun bakım enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Bu kombinasyonlar ise sadece parantel olarak kullanılır(Ulusoy, 2003).



Şekil 2.23. Klavulanik Asit



Şekil 2.24. Tazobaktam



Şekil 2.25. Sulbaktam

2.2.4. Beta-laktamaz yapısı ve sınıflandırılması

Beta-laktamazlar kromozomal olarak ya da plazmid kontrolünde sentezlenirler. Plazmidler kromozom dışı genetik elemanlar olup direncin yayılmasında çok önemlidirler. Gram negatif bakterilerde direnç genleri plazmidler tarafından konjugasyon ile yayılır (McManus, 1997). Gram pozitif bakterilerde ise beta-laktamazlar ekzoenzim olarak hücre dışına salgılanırken, Gram negatif bakterilerde ise enzim periplazmik boşlukta bulunur. Bu nedenle Gram negatif bakterilerde az miktarda enzim bile antibiyotikleri etkisiz hale getirebilir (Livermore D. , 1995). Günümüze kadar bilinen birbirinden farklı 600 üzerinde farklı beta-laktamaz enzimi bulunmaktadır. Bu enzimlerin bazı özellikleri değerlendirilerek çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır. Ambler, betalaktamazları aminoasit ve nükleotid dizilerine göre moleküler olarak, Bush ise biyokimyasal (substrat profili) özelliklerine göre genotipik olarak sınıflandırmıştır (Bush, Jacoby, & Medeiros , 1995). Tablo 2.1' de Bush-Jacoby-Medeiros sınıflandırması gösterilmiştir. Bu sınıflamaya göre Grup 1 (Ambler C) beta-laktamazlar baskılayıcılarına dirençlidir ve kromozomal genler tarafından kodlanır. *Salmonella* dışındaki tüm Gram negatif bakterilerde bulunurlar. Bu enzimlerin sentezi bakteri betalaktam antibiyotikle karşılaştırıldığında çok arttığından “indüklenebilen beta laktamazlar” olarak da adlandırılırlar. *E. coli* suşlarında giderek artan oranlarda olduğu tespit edilmiştir (Jones, Baquero, Privitera, Inoue, & Weidemann, 1997). Grup 2 (Ambler A) beta-laktamazlar ise plazmid tarafından taşınan genler tarafından kodlanmaktadır. Grup 2a, klavulanik asit ile baskılanan penisilinazları içerir ve penisilinleri sefalosporinlere göre daha hızlı hidrolize eder. *Stafilokoklar*, *Bacillus cereus*, *Citrobacter*, *Eikenella* ve *Fusobacterium* enzimleri bu grupta yer alır (Bush, Jacoby, & Medeiros , 1995). Grup 2b'de “Genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazlar” (GSBL) yer alır. Bu enzimler sefalosporinlere ve aztreonama direnç oluşturan ve genetik şifresi plazmidler üzerinde taşınan enzimlerdir. GSBL pozitif bakteriler bu özelliklerini kolayca diğer bakterilere de aktarırlar. Bu enzimleri taşıyan bakteri türleri günden güne tüm dünyada artmaktadır (Livermore D. , 2008). Çoğunlukla bu enzimler TEM ve SHV'den köken almaktadır. Türkiye'de ilk kez 1992'de tespit edilmiştir. *K.pneumoniae* olmak üzere birçok Gram-negatif bakteride bulunduğu bilinmektedir (Gur, Pitt, LMC, Akalın, & Livermore, 1992). GSBL enfeksiyonlarında karbapenem kullanımı önerilmektedir. Grup 3 (Ambler B) beta-laktamazlar karbapenemlerin aktivasyonunu durduran metallo beta-laktamazlardır. Bu enzimlerin aktivitesi için çinko iyonlarına ihtiyaçları vardır ve baskılayıcılarından

etkilenmezler. Bu grup enzimler *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacteroides fragilis* ve *P.aeruginosa*'da bulunmaktadır. Grup 4 beta-laktamazlar ise klavulanat ile baskılanmayan penisilinazlardan oluşmaktadır. Diğer gruplara dâhil edilememiş ve yapıları tam olarak aydınlatılamamıştır (Livermore D. , 2008).

Tablo 2. 1. Beta- laktam antibiyotiklerin fonksiyonel ve moleküler sınıflandırılması.

Fonksiyonel Sınıf	Moleküler Sınıf	Substrat	Klavulonik asit tarafından inhibasyon	Enzimler
1	C	Sefalosporinler	Yok	Gram negatif bakterilerin AmpC enzimleri
2a	A	Penisilinler	Var	Gram negatif bakterilerin penisilinazları
2b	A	Penisilinler, sefalosporinler	Var	TEM- 1, TEM- 2, SHV- 1
2be	A	Penisilinler, dar ve geniş spektrumlu sefalosporinler, monobaktamlar	Var	GSBL' ler
2br	A	Penisilinler	±	İnhibitörlere dirençli TEM beta- laktamazları (IRT)
2c	A	Penisilinler, karbapenisilin	Var	PSE- 1, PSE-3, PSE- 4"
2d	D	Penisilinler, kloksasilin	±	OXA-1, OXA- 11, PSE- 2
2e	A	Sefalosporinler	Var	<i>P. vulgaris</i> ' in indüklenebilir sefalosporinazlar 1

Tablo 2. 1. (Devam) Beta- laktam antibiyotiklerin fonksiyonel ve moleküler sınıflandırılması.

2f	A	Penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler	Var	<i>E. cloacae</i> 'nın NMC- A' sı
3	B	Karbapenemler dahil bir çok beta- laktam	Yok	<i>S. maltophilia</i> ' nın L1'i, B. Fragilis' in CerA' sı
4	A	Penisilinler	Yok	<i>Burkholderia</i> <i>cepacia</i> penisilinazı

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda beta laktam antibiyotiklere karşı, bakterilerde büyük direnç artışı olduğu gözlemlenmiştir. Bugün *Staphylococcus aureus*, *Haemophilis influenzae*, *Enterobacteriaceae* ve *Bacteroides*'lerde bazı beta laktam antibiyotiklere belirli derecelerde direnç gelişimi olduğu gözlenmektedir. *Klebsiella*'ların tüm suşları, kromozomal olarak taşınabilen beta laktamazları üretebilmektedirler. *Neisseria gonorrhoeae*'nin penisilinaz üreten suşları önceleri Uzakdoğu ve Batı Afrika ile sınırlı iken, son senelerde ABD dâhil tüm ülkelerde saptanmaktadır (Coşkun & Altanlar, 2012).

Beta-laktamaz enzim üretimi, beta-laktam antibiyotikleri etkisiz hale getirerek, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün gerçekleştirdiği en önemli direnç mekanizmalarından biridir. Günümüze kadar yaklaşık 350 civarı beta-laktamaz tanımlanmıştır. Bunların 150 kadarı genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlardan (GSBL) olup plazmidik özellikleri sayesinde bakteriler arasında transfer edilebilirler. GSBL'ler, gram negatif çomaklarda bulunan, geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama karşı dirençten sorumlu olan enzimlerdir. Özellikle *Klebsiella* türleri ve *Escherichia coli* olmak üzere, GSBL üretimi ve patojen bakteriler arasında hızla yayılıyor olması enfeksiyon tedavilerinde önemli sorunlar oluşturmaktadır (Paterson & Bonomo, 2005).

İlk kez beta-laktamaza, penisilin tıbbi tedavide yaygın kullanımının başlaması ardından *E. coli*'de saptanmıştır. Gram negatiflerde ilk plazmid ile ilişkili beta laktamaz olan TEM-1 ise 1960'lı yılların başında tanımlanmıştır. Orijinal TEM-1 enzimi Yunanistan'da "Temoniera" adındaki bir hastanın kan kültüründen üreyen bir *E. Coli* suşunda bulunmuştur ve enzim adı hastanın isminin ilk 3 harfi olan "TEM" ile anılmaya

başlanmıştır. Bu enzimin izolasyonundan bir süre sonra TEM-1 enzimi tüm dünyada yayılım göstermiştir (Bush & Jacoby, 1997). TEM-1 enzimi günümüzde *Enterobacteriaceae* ailesinin pek çok üyesinde, *P. aeruginosa*, *H. influenzae* ve *N. gonorrhoeae* gibi birçok farklı türde bulunmaktadır. Beta-laktamlara karşı gelişen direncin fark edilmesi üzerine son yıllarda özellikle beta-laktamazların hidrolitik aktivitesine dirençli olması için birçok antibiyotik geliştirilmiştir. Bu durum bir yandan iyi iken diğer taraftan bulunan her yeni ilaca karşı yeni beta laktamazların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Günümüzde 150'nin üzerinde farklı GSBL mevcuttur (Bradford, 2001).

2.3. Floresans Spektroskopisi

Bir elektromanyetik dalga türü olan ışın aynı zamanda bir enerji türüdür. Elektromanyetik dalgalar boşlukta ışık hızıyla hareket eder. Işın, elektrik ve manyetik olarak 2 vektörden oluşur. Elektromanyetik spektrum bölgeleri Tablo 2.2.' de verilmiştir.

Tablo 2. 2. *Elektromanyetik spektrum bölgeleri*

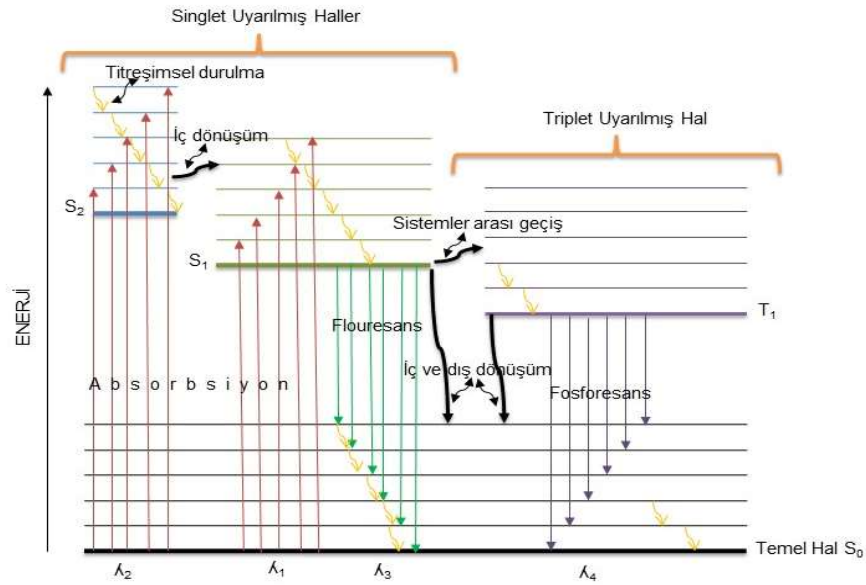
Frekans (Hz)	Radyo	Mikrodalga	Kızılötesi	Görünür Bölge (VIS)	Mor Ötesi (UV)	X Işınları	Gama Işınları
	10^6 – 10^{10} nm	10^{10} – 10^{12} nm	10^{12} – 10^{15} nm	10^{15} – 10^{16} nm	10^{16} – 10^{17} nm	10^{17} – 10^{21} nm	10^{21} – 10^{24} nm

Bir atom veya molekülün absorpladığı ışını, gelen dalga boyunda veya daha uzun bir dalga boyunda geri vermesine fotolüminesans denilmektedir. Absorblanan enerjinin bir kısmı absorblayan maddede kaldığından geri verilen ışındaki enerji azalacak dolayısıyla dalga boyu artacaktır. Fotolüminesans olayı iki farklı şekilde gerçekleşir. Bunlar; floresans ve fosforesans olaylarıdır (Rendell, 1987). Eğer maddelerin floresans özelliğinden yararlanılıyorsa, yapılan analiz floresans spektroskopisi olarak isimlendirilmektedir.

Bu olayların oluşum mekanizmaları esasen birbirinden farklıdır ve bu fark bu olayların gerçekleşme süreleridir. Floresansta, ışının absorpsiyonu kesildikten sonra ($< 10^{-6}$ s) ışıldama biter; fosforesansta olayında ise olay izlenebilecek kadar uzun bir süre devam eder. Bu özellikleriyle analitik yönden floresans fosforesanstan daha önemli

olduğundan pek çok analitik çalışmada maddelerin floresans özellikleri kullanılmaktadır. Eser miktardaki pek çok inorganik ve organik madde floresans şiddetinin ölçümüyle kantitatif olarak analiz edilebilir. Özellikle biyolojik sistemler için çok sayıda florometrik yöntem geliştirilmiş ve geliştirilmeye de devam edilmektedir. Fluorometrenin en önemli özelliklerinin başında yapısından kaynaklanan hassasiyet gelir. Yöntemin çalışma sınırı (LOD), bir absorpsiyon yönteminden en az 10 kat daha düşüktür (1-100 ppb). Seçiciliği ise absorpsiyon yöntemlerine göre daha iyidir. Tüm bu avantajlara rağmen florimetre diğer absorpsiyon yöntemleri kadar fazla kullanılmaz. Bunun nedeni her maddenin floresans özellik göstermemesi, gösterenlerin ise sınırlı sayıda olmasıdır.

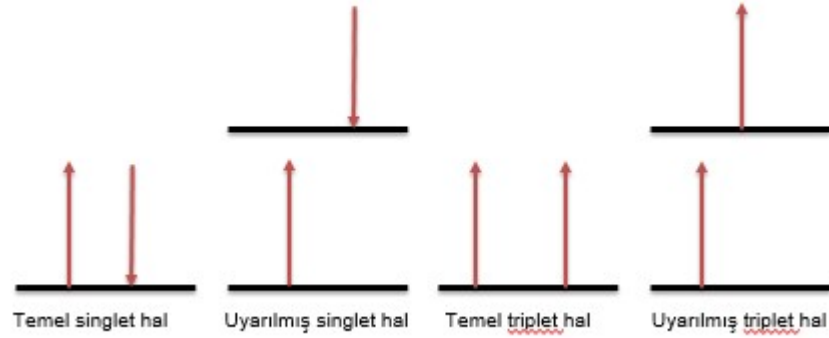
Işığın madde ile etkileşmesi sonrasında ortaya çıkan absorpsiyon ve emisyon olayı Alexander Jablonski, Jablonski diyagramı ismini verdiği diyagram ile açıklamıştır (Jabłoński, 1933). Jablonski diyagramı Şekil 2.26'da gösterilmiştir.



Şekil 2.26. Jablonski diyagramı

Uyarılmış bir molekülün yüksek elektronik seviyenin düşük titreşimsel seviyesinden, bir alt enerji seviyesinin yüksek titreşim seviyesine geçişine iç dönüşüm denir. Bir molekülün iç enerjisi, moleküle ait elektronik, titreşimsel ve dönme enerjilerinin toplamı kadardır. Elektronik enerji seviyeleri bir seri titreşimsel enerji seviyesinden meydana gelir. Titreşimsel seviyeler ise aynı şekilde dönme seviyelerinin bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. Moleküllerin normal şartlar altında yani uyarılmadıkları durumda temel elektronik halin en düşük titreşim seviyesinde bulunduğu

varsayılır. Moleküllerin titreşim enerji seviyelerinde spinleri birbirine ters halde olan elektron çifti bulundurmasına singlet hal, elektronların birbirleriyle aynı spine sahip oldukları durum ise triplet hal olarak adlandırılmaktadır. Singlet ve triplet halin gösterimi Şekil 2. 27’de verilmiştir.



Şekil 2.27. Temel ve uyarılmış haller

Molekül tarafından ışık absorplandığında temel elektronik enerji seviyesindeki elektronlardan üst enerji seviyelerine geçişler olur. Elektronun uyarılan singlet halin en düşük titreşim seviyesinden temel haldeki enerji seviyesine geçerken yaydığı enerjiye floresans denir (Karagöz, 2015).

Temel seviyede bulunan bir molekül, S_0 olarak adlandırılan singlet temel elektronik durumda bulunur. Uyarılmış singlet halde, yüksek-enerji orbitalindeki bir elektron ile düşük enerji orbitalindeki ikinci bir elektron zıt spin yönelimlerine sahiptirler. Singlet durumu belirleyen zıt spin yönelimli bu elektronlara “çiflenmiş elektronlar” denir. Floresans; ışın ile uyarılan molekülün, birinci uyarılmış singlet elektronik durumdan (S_1 seviyesi), temel enerji seviyesine dönerken ışımaya yapması olayıdır. Eğer molekül fazla enerji alıp S_2 enerji seviyesine çıkmışsa, önce iç dönüşüm denilen olaylarla fazla enerjisini harcayarak S_1 enerji seviyesine düşecek, daha sonra da floresans yaparak temel enerji seviyesine dönecektir. Singlet uyarılmış durumdan, singlet temel duruma dönüş, zıt yönlü elektronların yönelimlerini değiştirmezken, triplet durumda değiştirir. Pauli’nin dışlama ilkesine göre aynı spin yönelimine sahip iki elektronun bir arada bulunmaları yasaktır. Triplet durumdaki elektronlar aynı yönetime sahip elektronlardır. Triplet seviyeden yapılan ışımalar fosforesans ışımalarıdır.

2.3.1. Floresansı etkileyen faktörler

Floresansı etkileyen faktörler temel olarak şunlardır;

- Molekül yapısı
- Yapısal rijidite (yapısal esnemezlik)
- Sıcaklık ve çözelti
- pH
- Ortamdaki oksijen
- Işığın dalga boyu ve şiddeti
- Konsantrasyon

Aromatik halkaya sahip yapılar floresans özelliğini en iyi gösteren yapılardır. Çünkü aromatik halkalarda $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişleri olmaktadır. Aromatik halkaların haricinde yapısında konjuge çift bağ içeren yapıların floresans özelliği gösterirler. Karbonil grubu içeren moleküller floresans, azot içeren heterosiklik halkalar ise uyarılmış singlet halden uyarılmış triplet hale dönüşmekte ve fosforesans özellik göstermektedirler.

Uyarılmış triplet halden temel seviyeye dönüşte fosforesans olayı meydana gerçekleşir. Benzen halkasına farklı gruplar bağlandığında floresans şiddetinde değişimler meydana gelir. Benzen halkasına karboksil veya karbonil gruplarından birinin bağlanması floresans özelliği azaltmaktadır (Karagöz, 2015). Moleküllerin rijit özelliğe sahip olması, yani yapısal rijidite özellikte olması floresans özelliğini arttırmaktadır. Yüksek esneklik derecesi olan moleküllerin çarpışma olasılıkları yüksek olduğundan floresans özellikleri düşüktür. Fakat daha sert, esnemez yapılar daha düşük çarpışma olasılıklarına sahiptirler ve böylece floresans potansiyelleri daha yüksektir. Şelat komplekslerinin oluşumu rijiditeyi artırır. Moleküllerde rijidite arttığında iç dönüşüm zorlaşır ve ışısız olarak enerji kaybı riski azalır. Sıcaklık artışı ile beraber kinetik enerji artışında moleküllerde çarpışma artar ve dolayısıyla floresans şiddeti artar. Çözücülerin viskozite etkisi floresans ile ters orantılıdır. Viskozitenin artışı ile moleküllerin hareketi azaldığından çarpışma ihtimali azalır. Çarpışmanın azalması ile floresans düşer. Numune hazırlanırken seçilecek çözücü de floresansı etkileyen etmenlerden biridir. Özellikle polar çözücülerin kullanılmasıyla floresans artmaktadır. Bunun nedeni polar çözücünün varlığında $n \rightarrow \pi^*$ geçişindeki enerji farkının artmasıdır. Yapısında asidik veya bazik gruplar içeren moleküllerin floresans özelliği pH değişiminden etkilenir. Bu moleküllerin çözücü ortamında iyonlaştıktan sonraki hali ile iyonlaşmadan önceki halinin floresans

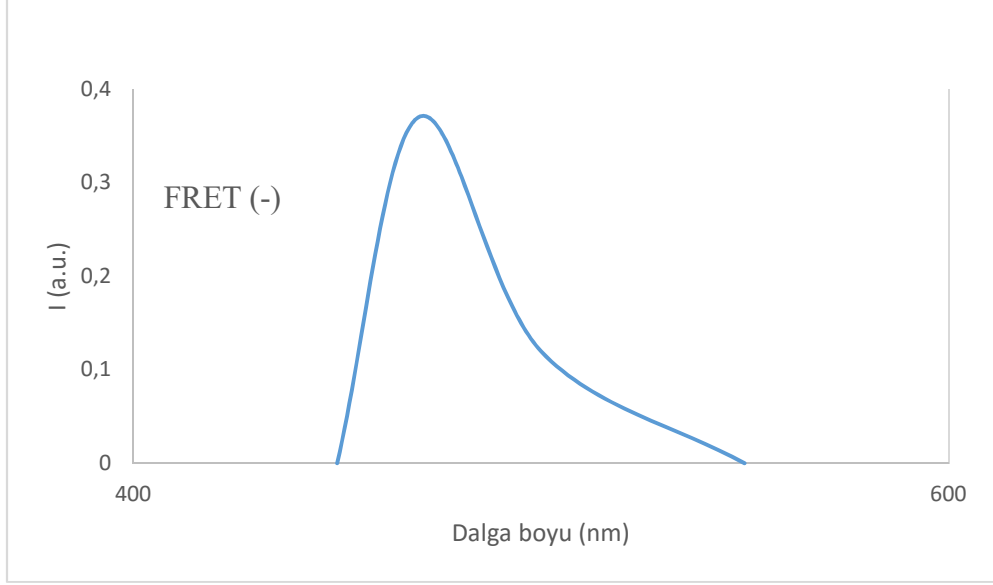
özelliği farklıdır. Numune çözeltisi içerisinde çözünmüş halde bulunan oksijen de floresansı etkileyen etmenlerden birisidir. Eğer çözücü içerisinde çözünmüş halde oksijen bulunuyorsa floresans azalır. Bunun nedeni oksijen molekülünün paramanyetik özellik göstermesidir. Floresans şiddeti analit konsantrasyonu ile orantılıdır.

$$F = K' (P_0 - P) \quad (2.1)$$

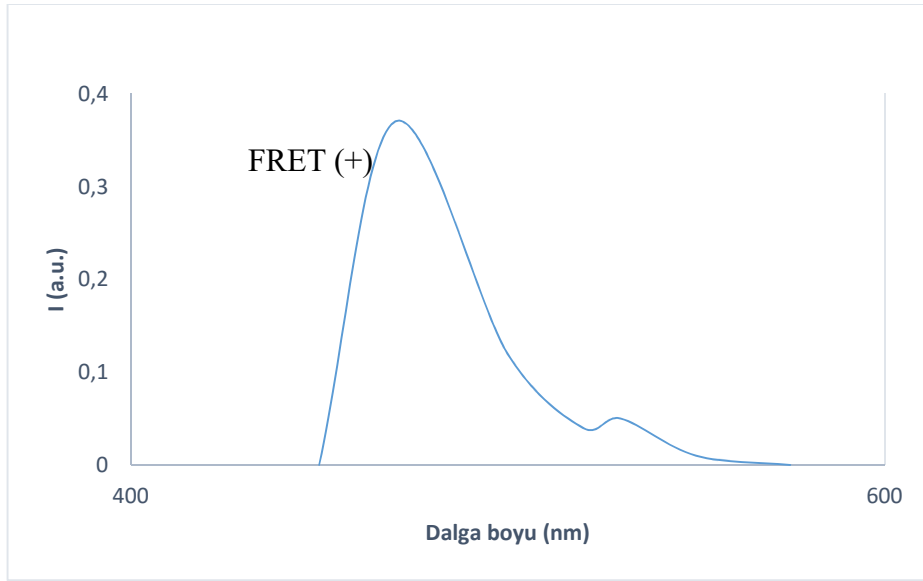
Verilen eşitlikte F, floresans şiddetini, K, kuantum verimini, P₀, floresans özelliği gösteren molekülün üzerine düşen ışık demetinin şiddetini, P, ışın demetinin çözeltide 1 cm yol aldıktan sonraki şiddetini göstermektedir. Floresans özelliği gösteren maddenin absorpsiyonu eğer 0,05'den küçük ise floresans derişim ile artmaktadır. Eğer 0,05'den büyükse derişim artışı ile floresans şiddetinin artışı doğrusallıktan sapar ve aşağı doğru bir eğilim görülür. Bunun iki nedeni vardır. Birincisi kendi kendini sönmülendirmesidir. Floresans özelliğe sahip moleküller derişim yüksek olduğunda çarpışma ihtimalleri fazla olduğundan birbirlerine çarparak sönmülenmelerine neden olurlar. Diğer neden ise kendi kendine absorpsiyondur. Floresans ışıması yapan molekülerin yaydıkları ışımaya diğer moleküler tarafından soğurulur. Dolayısıyla floresans azalır (Karagöz, 2015).

2.3.2. Floresans rezonans enerji transferi (FRET)

Floresans rezonans enerji transferi, bir florofor yapının, yani floresans özellikli bir molekülün, yaptığı floresans ışımasının emisyon spektrumunun başka bir florofor yapının uyarılma spektrumu ile örtüşüyorsa bu iki molekül birbirlerine yeteri kadar yakın olduklarında (yaklaşık 10 Angstromluk mesafede), birinci florofor molekülün emisyon ışıması ikinci florofor maddenin uyarılmasını sağlayarak daha uzun dalga boyuna sahip ışımaya neden olmasındır. Burada ilk florofor madde verici (donör), ikinci ile alıcı (akseptör), olarak isimlendirilir. Çok uzun zaman önce Förster klasik elektromanyetik ve kuantum kuramları yardımıyla bu enerji transferini ön görmüştür (Förster, 1959). Bu çalışmalarda en çok kullanılan ikili floresein- rodamin verici- alıcı çiftidir. Şekil 2.28 'de FRET olmadığı Şekil 2.29 'da ise FRET olduğu floresans spektrumları gösterilmiştir.



Şekil 2.28. *FRET gözlenmediğinde floresans emisyon spektrumu*



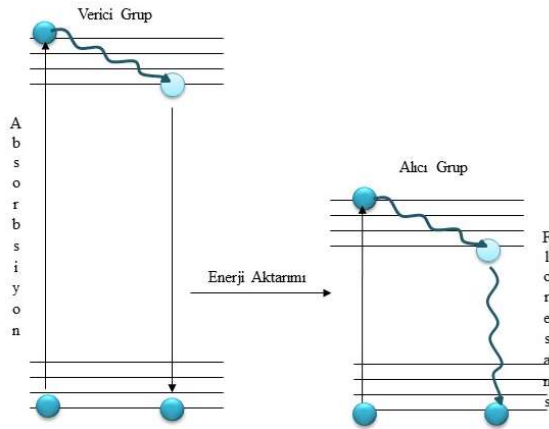
Şekil 2.29. *FRET varlığında floresans emisyon spektrumu*

FRET mekanizması, uzaklığa duyarlı olduğundan, FRET moleküler düzeyde etkileşimleri araştırmak için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir.

Floresans rezonans enerji transferi mekanizması, uyarılmış elektronik durumda olan ve uyarılma enerjisini uzak mesafeli dipol-dipol etkileşimleri ile yakındaki bir alıcı florofor gruba aktarabilecek bir adet alıcı florofor grup içerir. Enerji transferini destekleyen teori, enerji transferi yapmaya müsait titreşimli bir dipola sahip uyarılmış elektronik durumda olan florofor kısmın benzer bir rezonans frekansına sahip ikinci bir dipol ile etkileştirilmesi mantığına dayanmaktadır. Rezonans enerji transferi aynı

frekansa sahip ve benzer titreşim davranışı gösteren gruplar arasında gerçekleşir. Enerji transferi, verici ve alıcı grupların fiziksel boyutlarına, optik özelliklerine, ölçüm alınan kabın geometrisi ve uyarılma dalgasının geliş yönüne bağlıdır. Işınımsal mekanizmadan farklı olarak, rezonans enerji transferi ile verici-alıcı çiftinin yapısal durumları hakkında önemli miktarda bilgi sağlanabilmektedir (Schimmel & Cantor, 1980). Rezonans enerji transferinde florofor grubun içerisinde bulunduğu çözücü özellikleri önemli değildir. Rezonans enerji transferinde florofor gruplar üzerinde çözücünün asıl önemli etkisi, alıcı-verici gruplarının spektral özellikleri üzerine olan etkisidir. Işıma olmadan enerji transferi kısa menzilli çözücü etkilerinden çok daha uzun mesafelerde gerçekleşir. Rezonans enerji transferi asıl olarak verici- alıcı florofor gruplar arasındaki mesafeye ve bu grupların benzer titreşim ve frekans davranışı göstermesine bağlıdır (Van Der Meer, Coker, & Chen, 1994).

Floresans enerji transferinde, başlangıçta bir verici grup ışıkla uyarılma yoluyla enerjiyi absorplar ve uyarılma enerjisini yakınındaki alıcı bir florofor gruba transfer eder. Enerji transferi kendini verici grubun floresansının azalması ya da düşük enerji bölgesine kayması ile gösterir. Ayrıca bu duruma donör grubun floresansının uyarılmış hal ömrünün azalması, alıcı grubun floresans yoğunluğunun artması olarak görülür. Şekil 2.30' de Jablonski diyagramında verici ve alıcı gruplar arasındaki FRET geçişleri gösterilmektedir.



Şekil 2.30. Jablonski diyagramında verici ve alıcı gruplar arasındaki FRET geçişleri

FRET prosesinin meydana gelmesi için temel birkaç kriter vardır. Öncelikle, verici molekülünün floresans emisyon spektrumu ile alıcı molekülün absorpsiyon veya uyarılma spektrumları arasında örtüşme olmalıdır. Verici ve alıcı gruplar birbirine

(yaklaşık 10 nm) yakın olmalıdır. Alıcı ve verici grupların geçiş dipol yönelimleri yaklaşık birbirine paralel olmalıdır. Ayrıca, verici molekülün floresans ömrü, FRET sürecinin gerçekleşmesine imkan sağlayacak kadar yeterince uzun olması gerekmektedir (Förster, 1959).

FRET olayının gözlenmesi ve etkinliğinin ölçümü değişik yollarla yapılabilir. Basitçe FRET hem donör ve hemde akseptör içeren uyarılmış moleküllerden oluşan bir örnek tarafından tespit edilebilir. Bu molekülde merkez grubun absorpladığı ışık dalgaboyu ve akseptör grubun emisyonu birbirlerine yakın olmalıdır. FRET olayı donör molekülünün floresansında azalmaya sebep olurken akseptör grubun floresansında artışa neden olabilir (Jares-Erijman & Jovin, 2003).

Floresans rezonans enerji transferi mekanizması özellikle moleküler biyolojide, transfer olunan enerjinin büyüklüğü veya verimliliği ve iki florofor arasındaki mesafeyi tespit açısından yararlı bir araçtır (Jares-Erijman & Jovin, 2003). Ayrıca floresans rezonans enerji transferi mekanizması yapısal ölçme amaçlı (Chapman, Alexander, Vorherr, Carafiol, & Storm, 1992), konformasyonel değişikliklerin algılanması (Heyduk, 2002), moleküller arası etkileşimin tespiti (Hink, Bisselin, & Visser, 2002) ve biyokimyasal olayların takibi (Bunt & Wouters, 2004) gibi alanlarda kullanılmaktadır.

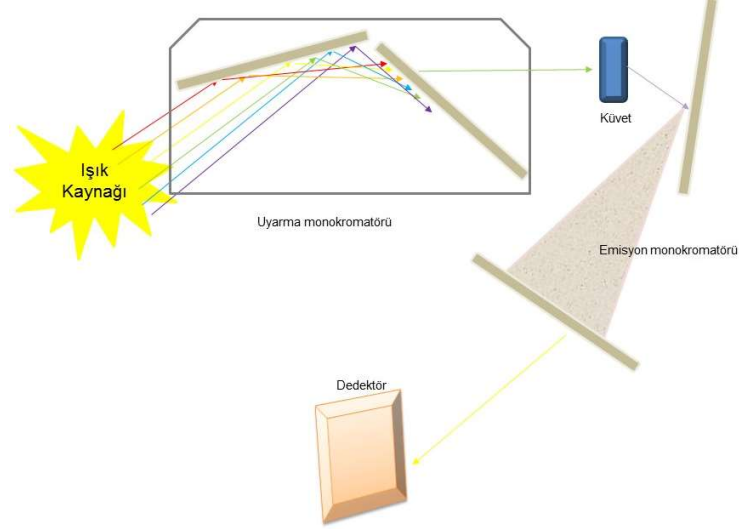
2.3.3. Floresans spektrometre

Floresans spektrometre cihazı temel olarak;

- Arc lamba
- Ayarlanabilir slitler
- Uyarma monokromatörü
- Örnek hücresi
- Uyarma ve emisyon optik düzenekleri
- Emisyon monokromatörü
- Dedektör

parçalarından oluşur. Işık kaynağından çıkan ışın uyarma monokromatörüne gelir. Burada molekülü uyarmak için gerekli olan dalga boyundaki ışın monokromatörü geçerken diğerleri ayrılır, geçemez. Floresans olayı numuneden her yöne doğru gerçekleşir. Ancak en doğru sonuç uyarma ışınına göre dik açıdan yapılan ölçümlerle sağlanan floresanstır. Farklı açıda gerçekleşen floresanslar saçılmaya neden olur ve ölçüm hatası meydana gelir. Bunun yanı sıra daha da önemlisi ışık kaynağından çıkan

ışının detektöre ulaşması da hataya sebep olabilir. Bu yüzden floresans spektrometreleri 90^0 açıda bulunan numune kabı ve detektöre göre tasarlanmıştır. Örnekten yayılan ışın emisyonu monokromatöründen geçtikten sonra dedektöre ulaşır. Referans ışın demeti ile numuneden elde edilen ışın cihaz tarafından karşılaştırılarak spektrumlar elde edilir. Floresans spektrometresinin şematik gösterimi Şekil 2.31’de verilmiştir.



Şekil 2.31. Floresans spektrometresinin şematik gösterimi

Floresans spektrometresinde en sık kullanılan lamba düşük basınçlı civa buhar lambasıdır. Civa buhar lambası 254, 302, 313, 546, 578, 691 ve 773 nm’de ışınlar üretir. Civa buhar lambasında çeşitli dalga boylarında ışınlar üretilebildiğinden farklı maddelerin analizine olanak sağlamaktadır. Floresans spektrometresinde ışın ayırıcı olarak genelde bir veya iki optik ağı monokromatörler kullanılır. Dedektör olarak en yaygın kullanılan cihaz fotoçoğaltıcı tüplerdir. Küvet olarak ise cam veya silisden yapılan silindirik veya dikdörtgen prizmalar kullanılır.

3. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Çekirdek/kabuk yapılı nanokristallerin sentezi için kullanılan kimyasallar; kadmiyum asetat dihidrat ($\text{Cd}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Oleic asit (OA), trioktilfosfin (TOP), yağ banyosu için kullanılan silikon yağı Fluka AG (Buchs, Switzerland) firmasından alınmıştır. Difenil eter (DPE),heksan, tolüen, metanol,1-oktadesen (ODE), trioktilfosfin oksit (TOPO), çinko asetat dihidrat ($\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Aldrich (Milwaukee, WI, USA) firmasından temin edilmiştir. Toz selenyum (Se) Riedel de Haen (Honeywell Riedel-de Haën, USA), Kükürt Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmış ve diğer bütün kimyasallar ve biyokimyasallar analitik saflıkta olup Aldrich (Milwaukee, WI, USA) firmasından temin edilmiştir.

Antibiyotik direnç tayininde kullanılan antikor olan anti-betalaktamaz için Sigma Aldrich'ten temin edilen Anti-LACTB ve antijen olarak Aldrich (Milwaukee, WI, USA)'ten temin edilen Penicilinase kullanılmıştır. Bu malzemeler pH 7,8 fosfat tamponunda hazırlanmış ve saklanmış olup Sodyum fosfat monobasic, Potasyum fosfat dibasic Sigma'dan, Amonyum sülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) Panreac'dan satın alınmıştır. Saf su Thermo Scientific firmasından alınan saf su cihazından elde edilmiş olup iletkenliği 18 megaohm cm^{-1} dir.

Kuantum noktaların biyokonjugasyonunda kullanılan 3-merkaptopropiyonik asit (3-MPA) Merck'ten, kloroform Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Sentezlenen nanokristallerin karakterizasyonu için kullanılan cihazlar; Shimadzu UV-2450 UV-VİS spektrofotometre; Varian Cary Eclipse marka spektrofluorometre cihazı, Yüzey morfolojisinin incelenmesinde Carl Zeiss Ultra Plus Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve JEOL 1220 Geçirimli Elektron Mikroskopu (TEM), Malvern Instruments Nano ZS zetasizer cihazı kullanılmıştır. Kullanılan santrifüj cihazı ise Sigma markasının 2-16KL modelidir.

Ayrıca floresans ölçümleri esnasında yine karakterizasyon aşamasında da kullanılan Varian Cary Eclipse marka spektrofluorometre kullanılmıştır.

Nano partiküllerin karakterizasyon işlemlerinde, cihazlar dışında sentez ve ölçüm aşamasında 0,7 μL kuartz floresans küveti, Eppendorf markalı mikropipet seti ve uçları,

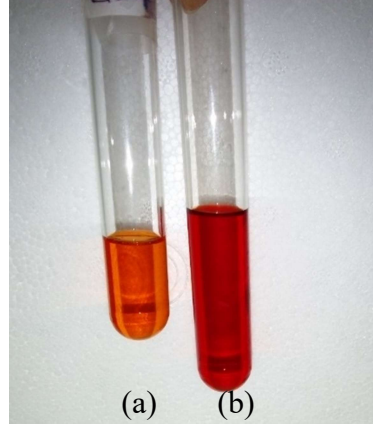
3 boyunlu balon, farklı hacimlerde şırıngalar, geri soğutucu, manyatik balık, ısıtıcı-karıştırıcı ve termometre kullanılmıştır.

3.2. Metod

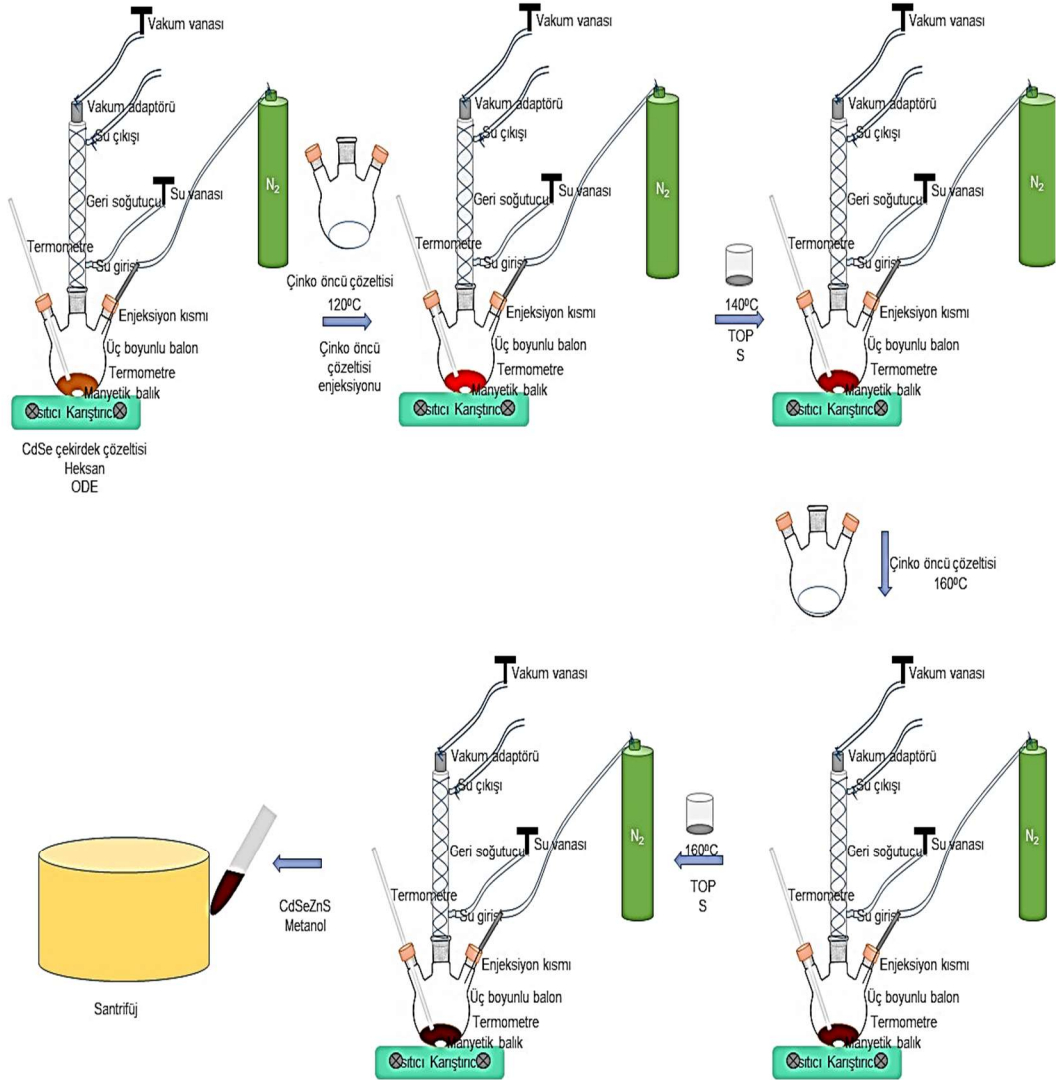
3.2.1. CdSe/ZnS nanokristallerinin sentezlenmesi

Nanokristal sentezinin gerçekleştirilmesi N. T. Vo ve arkadaşlarının 2015 yılında yapmış oldukları çalışma temel alınarak yapılmıştır (Vo, Ngo, Vu, Duong, & Lam, 2015). Yöntem üç adımda gerçekleşmektedir ve tüm adımlar azot atmosferinde ve geri soğutucu ile gerçekleştirilmiştir.

- CdSe çekirdeğinin sentezlenmesi için, 0,133g Cd(Ac)₂.2H₂O ve 0,64 mL OA 5ml DPE içerisinde 120⁰C 'ye kadar ısıtılmıştır. Sıcaklık 120⁰C'ye geldiğinde sabit kalması sağlanarak yaklaşık 30 dakika karıştırılmıştır. Süre sonunda sıcaklık 120-180⁰C dereceye getirilerek önceden hazırlanan TOP çözeltisi içerisindeki 1M Se (TOP-Se, trioktilfosfinselenid) hızlıca reaksiyon balonuna eklenmiştir. Şeffaf renkli çözelti enjeksiyon işlemiyle beraber aniden kırmızı renge dönmüş ve CdSe çekirdekleri oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır
- CdSe/ZnS çekirdek kabuk yapısının oluşumu için öncelikle çinko öncü çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için 43,9mg (Zn(Ac)₂.2H₂O), 0,25g TOPO, 1mL TOP ve 4mL ODE 200⁰C' ye ısıtılırken, diğer taraftan 6,4mg kükürt 5 ml TOP ile şiddetli bir şekilde karıştırılmıştır.
 - CdSe çekirdek karışımından alınan 2 mL, 0,165 mL heksan ve 3mL ODE ısıtıcı karıştırıcıda şiddetli bir şekilde ve sürekli karıştırırken sıcaklık 120⁰C' ye ulaştığında 1,237 mL çinko öncü çözeltisinden ilave edilmiş ve sıcaklığın 10 dakika sabit kalması beklenmiştir.
 - 10 dakika sonunda sıcaklık artırılarak 140⁰'ye ulaştığında 0,247 mL kükürt karışımından ilave edilmiş ve 10 dakika daha sıcaklığın 140⁰C' de sabit kalması sağlanmıştır.
 - Süre sonunda sıcaklığın tekrar artması sağlanarak 160⁰C' de 1,742mL çinko öncü çözeltisi ilave edilerek 10 dakika sıcaklık sabit tutulmuş ve süre sonunda 0,348 mL kükürt çözeltisi eklenmiş ve ısıtma işlemi sonlandırılarak balon ısıtıcıdan uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.1. Sentezlenen nanokristaller. (a) CdSe, (b) CdSe/ZnS



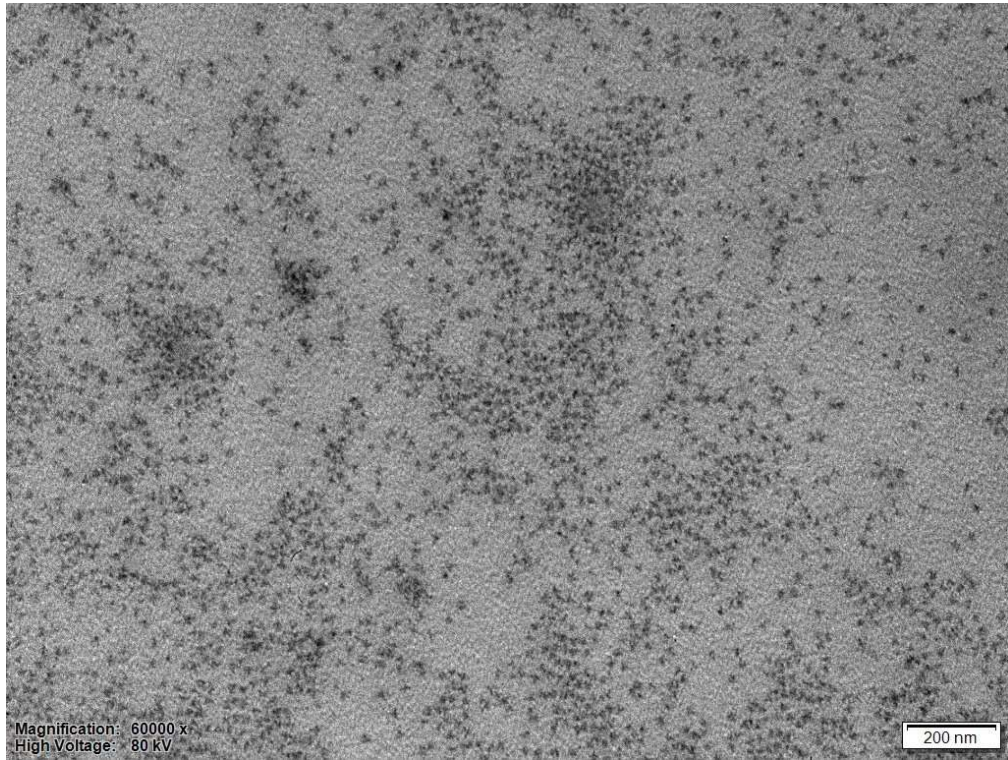
Şekil 3.2. CdSe/ZnS nanokristali sentez basamakları

3.2.2. Nanokristallerin yıkanması ve saklanması

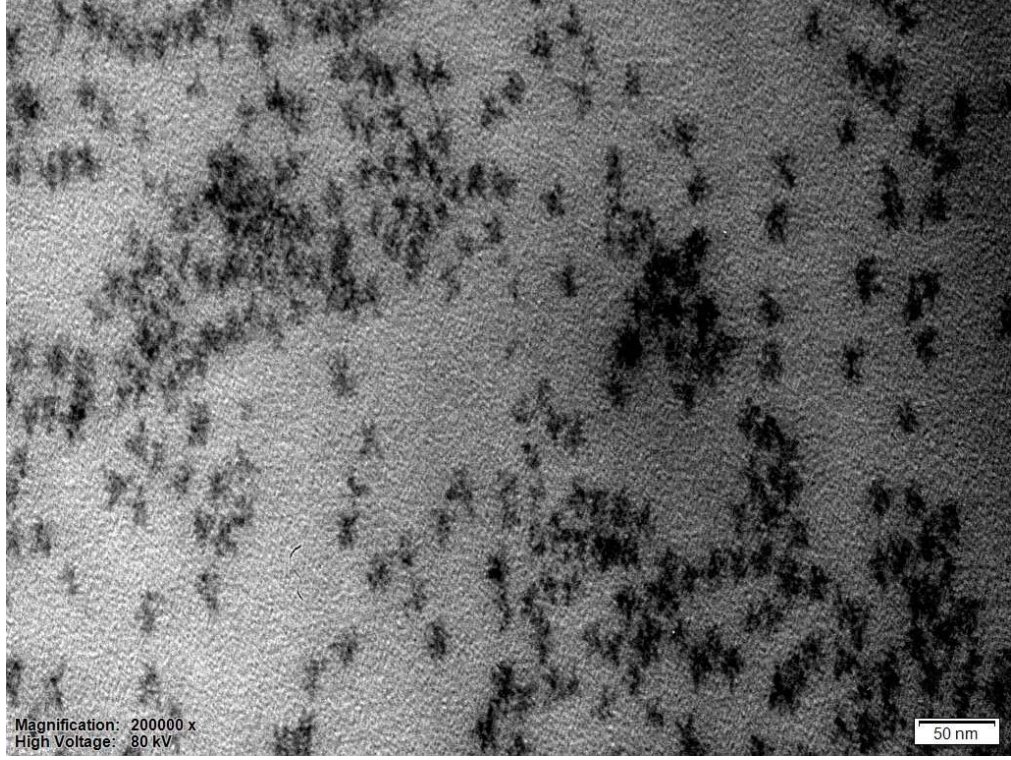
Elde edilen nanokristaller organik çözücüler içerisinde olduğundan biyolojik malzemelerle çalışmaya uygun değildir. Ayrıca nanokristallerin yıkanmaması ve etrafındaki reaksiyon bileşenlerinin uzaklaştırılmaması nanoyapıların büyümesine yani yapıların özelliklerinin kaybolmasına neden olmaktadır. Bu nedenle suda çözünürleştirme işleminin kolaylaşması açısından sentez sonrası oda sıcaklığına soğutulan nanokristaller fazlaca metanol ile 5 kez yıkanarak ODE ve diğer organik çözücülerin uzaklaşması sağlanmıştır. Ardından kararlı kalmaları için karanlık tüplerde +4⁰C 'de kloroform içerisinde saklanmıştır.

3.2.3. CdSe/ZnS nanokristallerinin karakterizasyonu

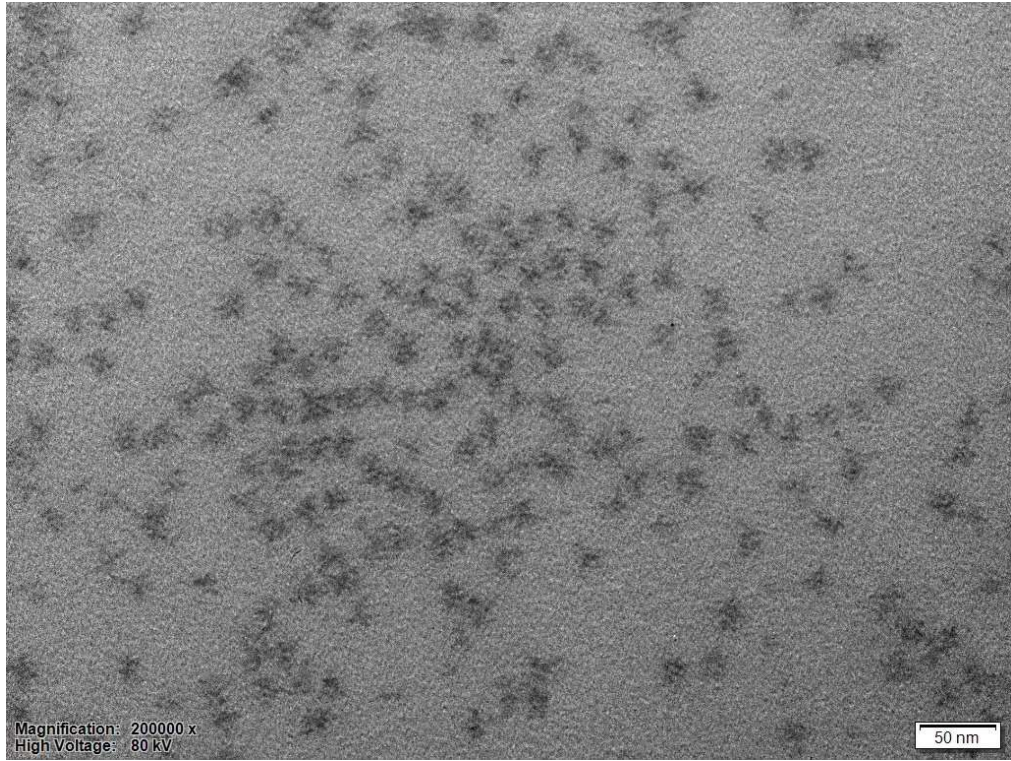
3.2.3.1. CdSe/ZnS nanokristallerinin TEM görüntüleri



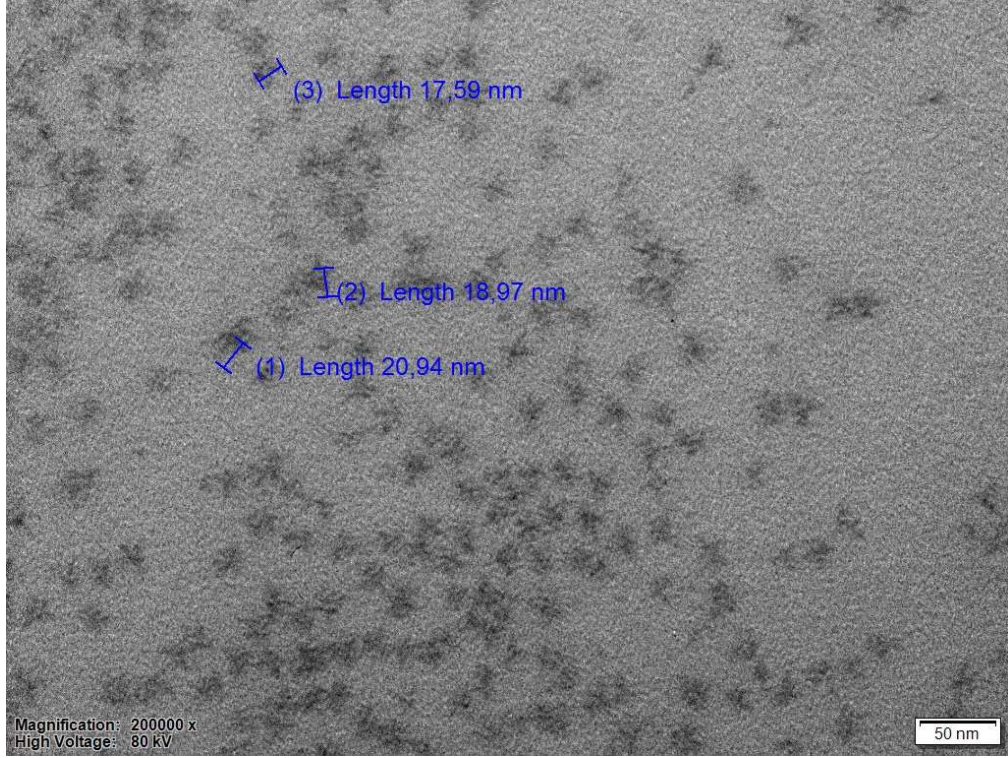
Şekil 3.3. CdSe/ZnS nanokristalinin TEM görüntüsü (60000 büyütme).



Şekil 3.4. *CdSe/ZnS nanokristalinin TEM görüntüsü (200000 büyütme).*



Şekil 3.5. *CdSe/ZnS nanokristalinin TEM görüntüsü (200000 büyütme).*



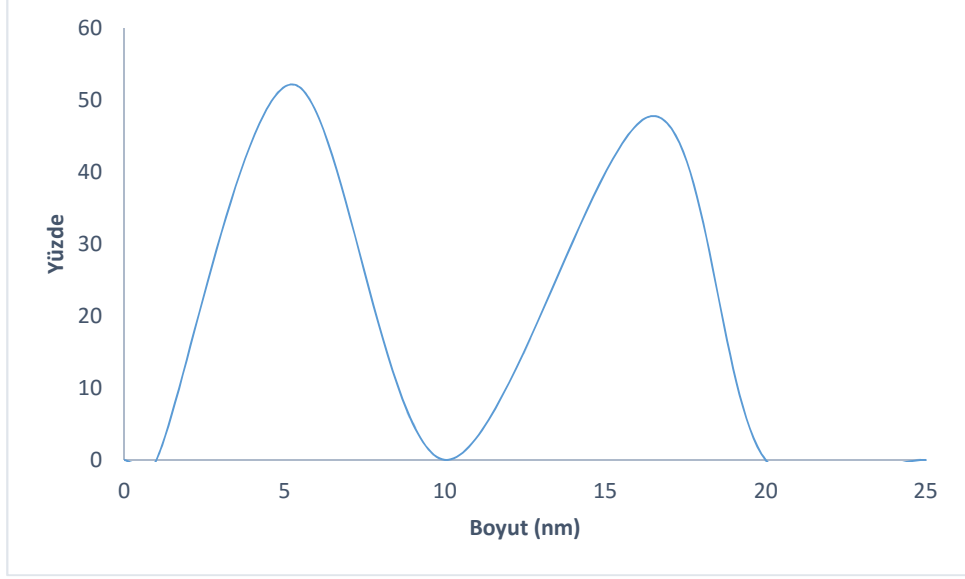
Şekil 3.6. *CdSe/ZnS* nanokristalinin TEM görüntüsü (200000 büyütme).

Geçirimli elektron mikroskobu ile yapılan görüntüleme işleminde formval kaplı bakır gridler kullanılmıştır. Elde edilen görüntülerde nanokristallerin yıldız formulu olduğu ve boyutlarının 17,5 – 21 nm arasında olduğu görülmektedir.

3.2.3.2. Zetasizer ile boyut ölçümü

Parçacık boyutunun dolaylı olarak ölçen bu cihaz, örnek üzerine kırmızı ve mavi lazer ışığı gönderir. Örnekten yansıyan ve kırılan lazer ışınları detektöre gelir. Saçılan ışığın açısı ve şiddeti örneğin parçacık boyut dağılımını belirler.

Ölçümler 3,5 mL' lik polistren küvetlerde, 25⁰C' de gerçekleştirilmiştir. 5 µL kloroformda çözülmüş nanokristal çözeltisinin 3 mL'si suda sonikatörde 30 dk dispers edilmesi ile, 5 kez yapılan ölçümün ardından parçacık boyutu %52,2 5,235 nm, %47,8 16,49 nm olarak ölçülmüştür. Elde edilen boyut dağılım grafiği Şekil 3.7' de verilmiştir.

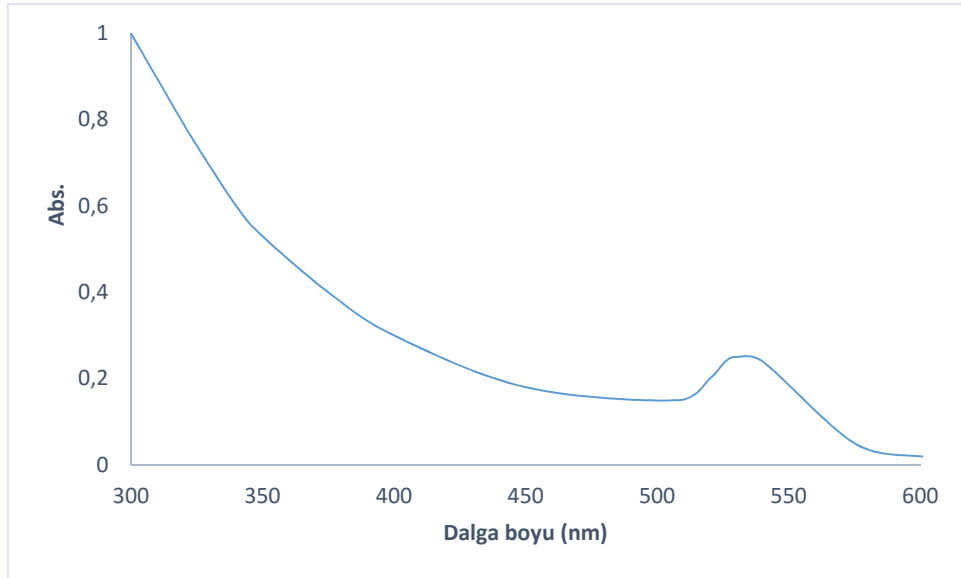


Şekil 3.7. *CdSe/ZnS nanokristalleri için boyut dağılımı*

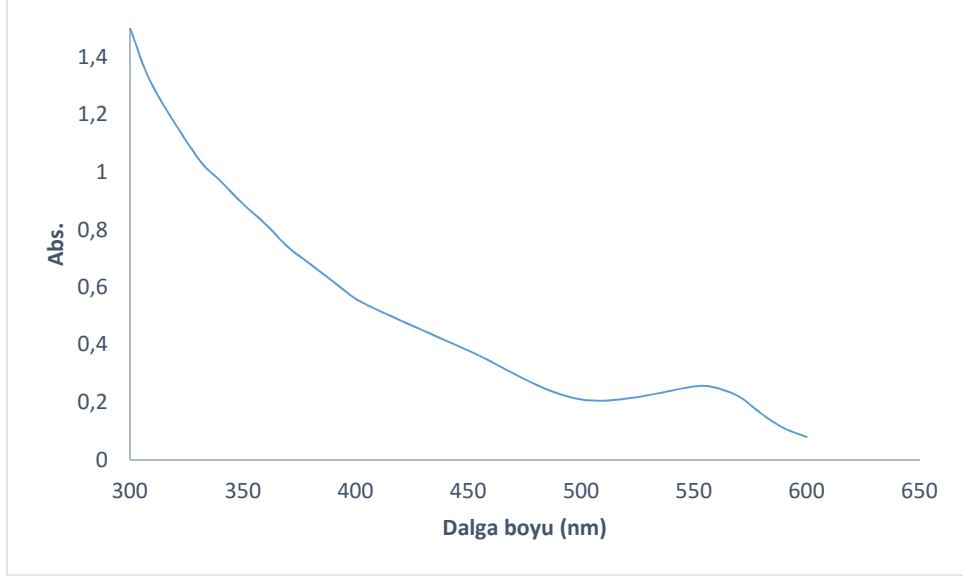
3.2.3.3. *CdSe/ZnS nanokristallerinin optik özellikleri*

Spektrumlar 3mL'lik kuartz küvetler kullanılarak elde edilmiştir. 1/30 (v/v) kloroform içerisinde seyreltilen CdSe ve CdSe/ZnS nanokristallerinin UV spektrumları ve floresans spektrumları alınmıştır.

UV spektrumu



Şekil 3.8. *CdSe nanokristali için UV spektrumu taraması*



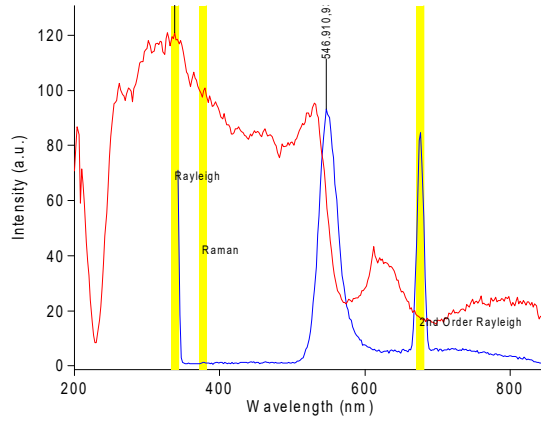
Şekil 3.9. *CdSe/ZnS nanokristali için UV spektrumu taraması*

Elde edilen UV spektrumları nanokristal sentezinde yöntem olarak belirlenen N. T. Vo ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları sentezin UV spektrumları ile karşılaştırıldığında yakın sonuçların elde edildiği görülmektedir (Vo, Ngo, Vu, Duong, & Lam, 2015). UV spektrumları karşılaştırıldığında CdSe nanokristallerinin maksimum absorbans yaptığı dalga boyu yaklaşık 520 nm iken, CdSe/ZnS nanokristallerinin maksimum absorbans yaptığı dalga boyu ise 550 nm civarlarıdır. CdSe çekirdeğinin ZnS kabuk yapısıyla kaplanması dolayısıyla nanokristal yapının boyutunun büyümesinden dolayı maksimum absorbans yaptığı dalga boyu kaymıştır.

Floresans spektrumu

Elde edilen nanokristallerin öncelikle tam taraması yapılarak uyarılma dalga boyları tespit edilmiştir.

CdSe için yapılan tam tarama sonucu Şekil 3.10' da floresans spektrumu ise Şekil 3.11' de verilmiştir.



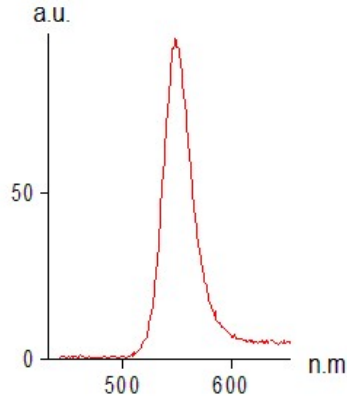
Şekil 3.10. CdSe çekirdeği için floresans tarama spektrumu

Uyarılma dalgaboyu: 338,00 nm

Emisyon dalgaboyu: 546,91 nm

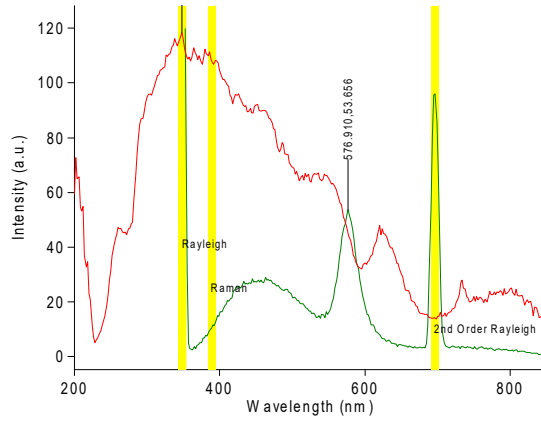
Elde edilen bu veriler CdSe nanokristalinin uyarılması için gereken dalga boyunun 338 nm, bu dalga boyundaki ışımayı absorbladığı takdirde yaptığı floresans ışımasının dalga boyunun ise 546,91 nm dalga boyuna sahip olduğunu göstermektedir.

Bu veriler ışığında 338,00 nm’ de uyarılan CdSe nanokristallerinin floresans spektrumu Şekil 3.11’ de görülmektedir.



Şekil 3.11. CdSe nanokristalinin flooresans spektrumu.

CdSe/ZnS nanokristali için yapılan tam tarama sonuçları Şekil 3.11’ de görülmektedir.

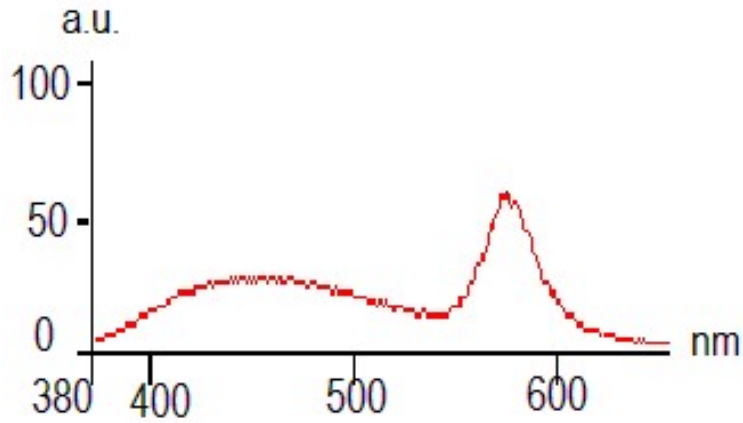


Şekil 3.12. *CdSe/ZnS nanokristali için floresans tarama spektrumu.*

Uyarılma dalgaboyu: 348,00 nm

Emisyon dalgaboyu: 576,91 nm

Buradan bu nanokristalin uyarılması için en çok 348nm dalga boyuna sahip bir ışın ile uyarılması gerektiği anlaşılmaktadır. 348 nm’ de uyarılan CdSe/ZnS’ nin emisyon dalga boyu ise 576,91 nm’dir. Bu veriler ışığında 348.00 nm’ de uyarılan CdSe/ZnS nanokristallerinin floresans spektrumu Şekil 3.13’ de görülmektedir.



Şekil 3.13. *CdSe/ZnS nanokristali için floresans spektrumu.*

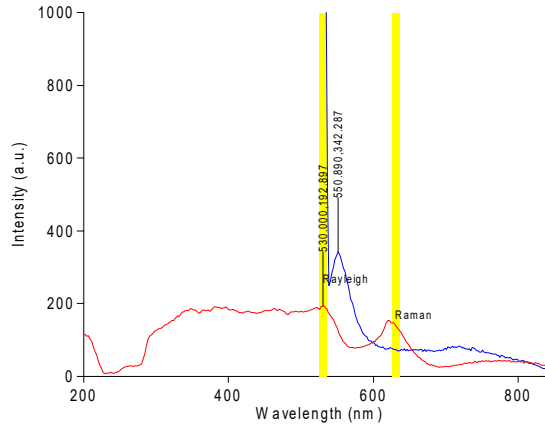
Her iki nanokristal için de kaynak kullanılan çalışmadaki değerler birbirine oldukça yakındır. CdSe/ZnS nanokristali için uyarılma ve emisyon dalga boylarının artmış olması, yani uyarılma için ihtiyaç olan enerjinin azalmış olması demek nanokristalin büyüdüğü anlamına gelmektedir. Bu sonuç CdSe nanokristalin ZnS ile kaplanıp çekirdek, ZnS kısmının ise kabuk olduğunun bir göstergesidir.

3.2.3.6. Nanokristallerin 3-MPA modifikasyonu ile ligand değişimi ve suda çözümlendirilmesi

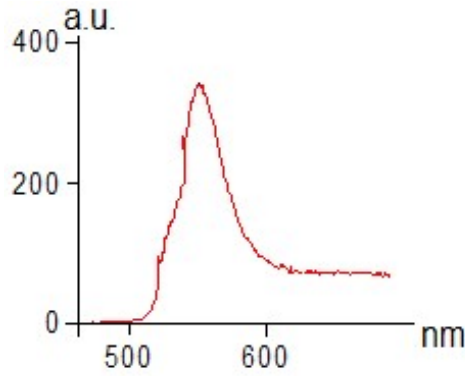
Bu işlem Ngoc Thuy Vo ve arkadaşlarının 2016 yılında yayınlanan çalışmaları göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

Sentez sonrası CdSe/ZnS nanokristalleri etrafı TOP molekülleri tarafından sarılmış haldedir. Bu gruplar 3-MPA kullanarak, 3MPA'da bulunan karboksil gruplarının fosfin grupları ile değiştirilir. Yani ligand değişimi yapılmıştır.

Bu işlem için kloroformda dispers halde bulunan nanokristaller üzerine 1ml toluen, 5 µL 3-MPA ve 1 ml pH=7.0 fosfat tamponu eklenmiştir. Hazırlanan karışım 24-48 saat süresince oda sıcaklığında sürekli karıştırılmıştır. Karışma süresi sonunda pH 9,0 olan fosfat çözeltilisinde dağıtılan nanokristaller 3500 rpm'de santrifüjlenmi ve elde edilen pellet pH 7.00 fosfat tamponuna alınmıştır. Çözümlendirme sonrası floresans spektrumları Şekil 3.14 ve 3.15' te gösterilmiştir.



Şekil 3.14. Nanokristallerin 3-MPA modifikasyonu ile ligand değişimi ve suda çözümlendirilmesi sonrası floresans tarama spektrumu

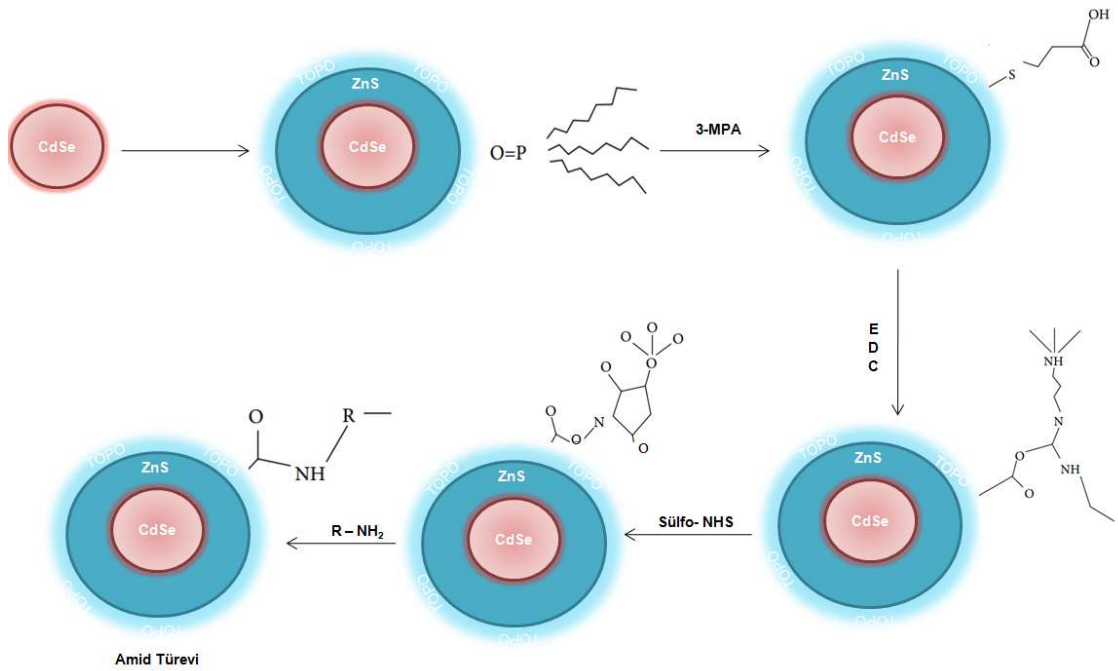


Şekil 3.15. Yüzeyleri 3-MPA ile modifiye edilen CdSe/ZnS nanokristallerin floresans spektrumu.

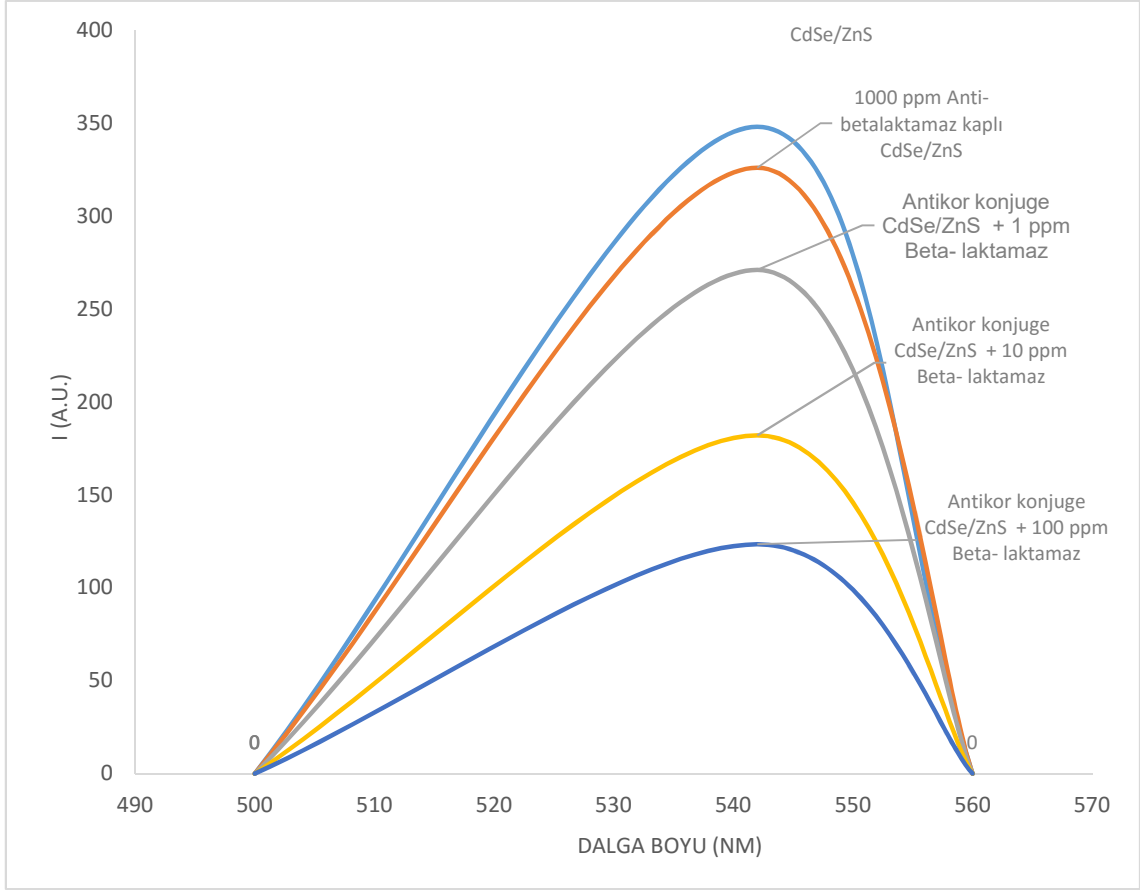
Tam tarama sonucunda 530 nm uyarılma dalga boyuna sahip olduğu anlaşılan 3-MPA kaplı suda çözünürleştirilmiş nanokristallerin uyarılma dalga boyları 348 nm' den 530 nm' ye kaymıştır. Dalga boyundaki bu artış nanopartiküllerin 3-MPA ile kaplanarak büyüdüğü kanıtıdır.

3.2.4. Nanokristallerin anti-betalaktamaz antibadi ile biyokonjugasyonu

Bu işlem nanokristallerin sentezinde temel alınan, Ngoc Thuy Vo ve arkadaşlarının 2016' da yaptıkları çalışma prosedürleri uygulanarak gerçekleştirilmiştir. 40 µl sülfon-NHS ve 40 µl 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodimid (EDC) bir önceki adımda hazırlanan 1 mL CdSe/ZnS-MPA 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Süre sonunda 4000 rpm' de santrifüjlenen karışım tampon çözeltide dispers edilerek üzerine 1000 ppm anti-beta laktamaz antibadi eklenerek 24 saat karıştırılarak inkübasyonu sağlandı. Konjugasyon tamamlandığında tekrar 4000 rpm 'de santrifüjlenerek PBS tamponuna alındı. +4 °C' de karanlık tüpler içerisinde muhafaza edildi. Bahsedilen biyokonjugasyon süreci Şekil 3.16' da gösterilmiştir.



Şekil 3.16. Nanokristallerin anti beta- laktamaz antibadi ile biyokonjugasyonu.



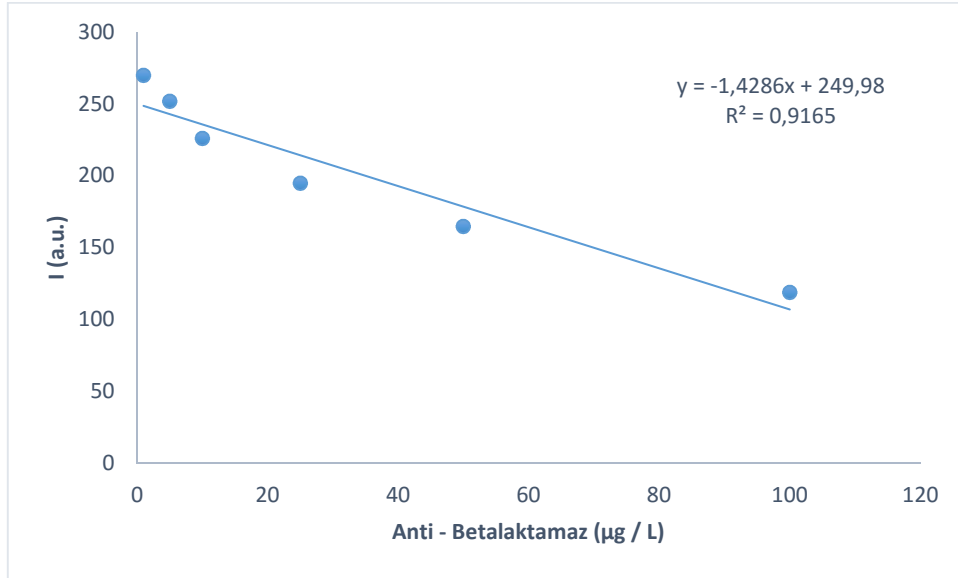
Şekil 3.17. Nanokristallere uygulanan her işlem sonrası floresans şiddeti düşüü.

Konjugasyon sonrası floresans şiddetindeki düşüş nanokristal yüzeyine beta-laktamaz konjugasyonunun başarılı olduğunun göstergesidir. NHS/ EDC ile yüzeyi aktive edilen nanokristallerin aktif uçlarından anti- betalaktamaz antibadilerin bağlanması ile nanokristalin çapı büyümüş, uyarılma dalga boyu atmış yani absorbladığı enerji azalmış buna bağlı olarak da floresans şiddeti azalmıştır. Aynı şekilde sonraki adımlarda artan derişimlerde beta- laktamaz antijenin nanokristale bağlı antikora bağlanması ile çap artan derişimle daha fazla artmış ve floresans şiddeti de düşmüştür.

3.2.5. Beta- laktamaz tayini için kalibrasyon grafiği elde edilmesi

Hazırlanan CdSe/ZnS nanokristallerinin 1000 ppm beta- laktamaz antibadi ile konjuge edilmesinin ardından 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm ve 100 ppm olmak üzere 7 farklı derişimde antijen eklenerek 1 saat karıştırlan antibadi konjuge nanokristallerin 514 nm 'de floresans şiddetleri ölçülmüştür. Elde edilen veriler artan derişime karşı grafiğe geçirildiğinde Şekil 3.18' de verilen kalibrasyon grafiği elde

edilmiştir. Bu grafiğe göre artan antijen derişimiyle beraber nanokristallerde sönümlenme olmakta ve floresans şiddeti düşmektedir.



Şekil 3.18. Anti beta-laktamaz antibadi konjuge CdSe/ZnS nanokristallerin eklenen beta-laktamaz enzimine karşı değişen floresans şiddeti değişiminin kalibrasyon grafiği

3.2.6. Anti Beta-laktamaz konjuge nanokristallerin nicel analizi için validasyon analizi

Şekil 3.18'de anti beta-laktamaz konjuge CdSe/ZnS nanokristallerin artan derişimde eklenen beta-laktamaz enzimine karşı değişen floresans şiddeti değişimine ait kalibrasyon grafiği görülmektedir. Veriler, Beta-laktamaz için 1-100 ppm derişim aralığında alınan floresans ölçümlerinin 3 kez tekrar edilmesi ile elde edilen sonuçların ortalaması ile elde edilmiştir.

Şahit örnek çalışması için beta- laktamaz içermeyen 3 farklı örneğin floresans şiddetleri ölçülmüş ve ölçülen değerlere karşılık gelen derişim değerleri ve diğer validasyon değerleri Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3. 1. Şahit numune için beta- laktamaz derişim değerleri(ppm).

Şahit Numune	Beta- laktamaz derişimi
1	0,00100
2	0,00099
3	0,00110
Ortalama	0,00103

3.2.6.1. Standart sapma

Tablo 3. 2. Standart sapma hesabı için elde edilen gerekli veriler.

Antijen derişimi (ppm)	Floresans Şiddeti, I (a.u.)	Floresans Şiddeti – Ortalama Floresans Şiddeti	(Floresans Şiddeti – Ortalama Floresans Şiddeti) ²
1	270	65,5	4290,25
5	252	47,5	2256,25
10	226	2,5	6,25
25	195	-9,5	90,25
50	165	-39,5	1560,25
100	119	-85,5	7310,25

$$\text{Standart sapma (ss)} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X - X_{ort})^2}{N-1}} \quad (3.1)$$

Yapılan 6 floresans şiddeti ölçümü değerlerinin ortalaması 204,5 ‘dur. Bu değerin her bir derişim için floresans şiddetinden çıkarılmasıyla elde edilen farklar toplamının, örnek sayısının bir eksiğine bölümünün karekökü standart sapmayı verir. Eşitlik 3.1’ i kullanılarak standart sapma değeri 55.702 bulunmuştur.

3.2.6.2. Mutlak standart sapma (RSD)

Mutlak standart sapma (RSD), standart sapmanın ölçüm değerlerinin ortalamasına bölünmesi ile bulunur.

$$\text{RSD} = \frac{ss}{X_{ort}} \quad (3.2)$$

Eşitlik3.2 kullanılarak yapılan hesaplamalarda RSD değeri 17,95275 olarak bulunmuştur.

3.2.6.3. Gözlenebilme sınırı (LOD)

Gözlenebilme sınırı (LOD), farklı derişimde standartçözeltiler ile hazırlanan kalibrasyon grafiğinin ölçebildiği en küçük derişimdir. Teorik olarak Eşitlik3.3 ile hesaplanır.

$$LOD = \frac{3 S_{\text{şahit}}}{m} \quad (3.3)$$

Burada $S_{\text{şahit}}$, şahit numune derişim verilerinin standart sapması, 3 sabit değer, m ise elde edilen kalibrasyon doğrusunun eğimidir.

Eşitlik3.3 ‘ten şahit numunenin LOD değeri $1.046.10^{-6}$ olarak bulunmuştur. Bunun anlamı bir numune eğer $1.046.10^{-6}$ ppm beta- laktamaz içeriyorsa bir sinyal görülecektir. Aksi halde sinyal olmayacaktır.

3.2.6.4. Çalışma sınırı (LOQ)

$$LOQ = \frac{10 S_{\text{şahit}}}{m} \quad (3.4)$$

Burada $S_{\text{şahit}}$, şahit numune derişim verilerinin standart sapması, 10 sabit değer, m ise elde edilen kalibrasyon doğrusunun eğimidir.

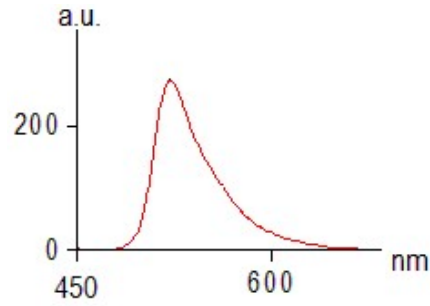
Eşitlik3.4 ‘ten şahit numunenin standart sapması 3.486^{-6} olarak bulunmuştur. Bunun anlamı bir numunenin ancak 3.486^{-6} ppm ve üzeri beta- laktamaz içeriyorsa bu ölçümün sağlıklı olacağı, aksi halde sağlıklı verilerin elde edilemeyeceği anlamına gelir.

3.2.7. Gerçek numune analizi

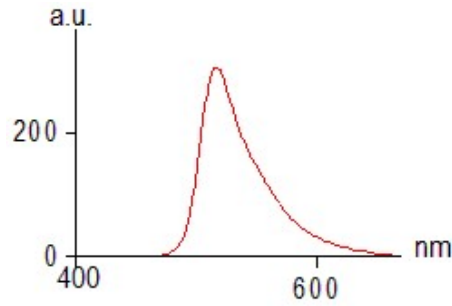
26 ve 25 yaşlarında son 10 gündür antibiyotik kullanmamış 3 kadından alınan tükürük numuneleri 500 mikrolitre pH= 7.00 fosfat tamponunda 3 saat sürekli karıştırılmıştır. Bu işlem ardından üzerine 3 ml anti beta- laktamaz CdSe/ZnS çözeltisi eklenip 1-2 dakika karıştırılıp her biri için floresans taraması yapıp örneklerin floresans şiddetleri ölçülmüştür. Elde edilen veriler Tablo 3.3’ te verilmiştir.

Tablo 3. 3. Gerçek numuneler için elde edilen veriler.

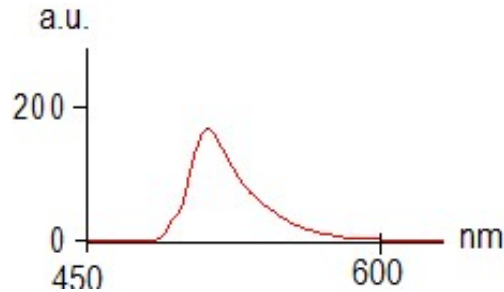
Örnek Sahibi	Uyarma dalgaboyu (nm)	Emisyon dalgaboyu (nm)	Floresans şiddeti (a.u.)
A	412	518	275,761
B	414	518	273,761
C	494	518	306,006



Şekil 3.19. A kişisine ait tükürük numunesinin floresans spektrumu



Şekil 3.20. B kişisine ait tükürük numunesinin floresans spektrumu



Şekil 3.21. C kişisine ait tükürük numunesinin floresans spektrumu

Nanokristallerin floresans özelliklerinden faydalanarak yapılan yürütülen çalışmada, birbirine konjuge durumda bulunan nanokristal- anti beta-laktamaz 'ın beta

laktamaz seçiciliği incelenmiştir. Nanokristal yüzeyinde TOP ve TOPO kaynaklı bulunan fosfin gruplarının 3-MPA ile muamelesi sonucu karboksillenen nanokristallerin anti beta-laktamaz antibadiye bağlanması sağlanmıştır. Antikor- antijen çiftleri birbirlerine spesifik moleküller olduğundan ortamda beta- laktamaz varlığında birbirine yönelen beta-laktamaz ve CdSe/ZnS konjuge anti-betalaktamaz antibadi birbirine bağlandığında CdSe/ZnS nanokristalinin floresans şiddetinde bağlanan antijen miktarına bağlı olarak sönümlenme gerçekleşmekte ve bir düşüş olmaktadır(Akbay, Seferoğlu, & Gökoğlu, Fluorescence interaction and determination of calf thymus DNA with two ethidium derivatives, 2009), (Akbay, Seferoğlu, & Gökoğlu, 2. Akbay, N., Seferoğlu, Z. veGökoğlu, E. , 2010).

Ölçümler 3000µl' lik kuartz floresans küveti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tam spektrum tarama ile CdSe/ZnS nanokristal- antikor çiftinin uyarılma dalga boyu 514 nm olarak ölçülmüştür. Alınan tüm floresans ölçümlerinin tamamı 514 nm' de uyarma ile gerçekleştirilmiştir.

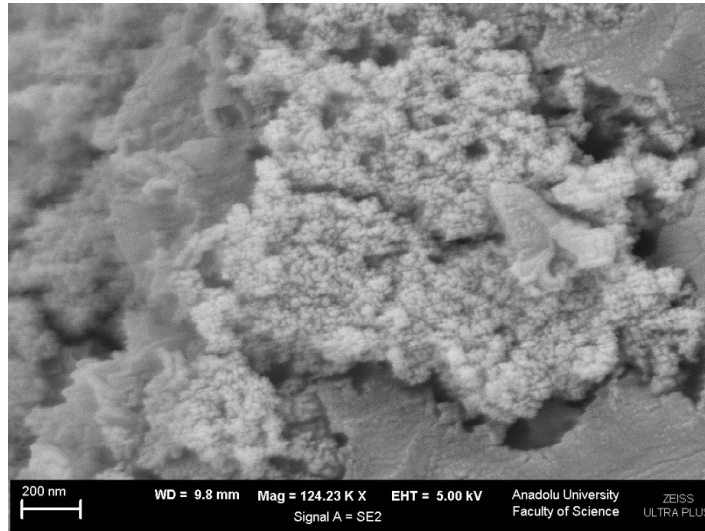
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Nanokristaller ile antibiyotik direnç tayini etmek için sentezlenecek olan nanokristallerin ilk aşamada sulu sentez yöntemleri uygulanarak hazırlanması planlanmış ancak yapılan çalışmalar başarılı olmamıştır. Sulu sentezlerin tercih edilmesinin sebebi biyomoleküller ile çalışılacağından denatürasyonu önlemek ve fonksiyonlarını kaybetmesini engellemektir. Bunun için oda koşullarındaki yöntemler yanı sıra mikrodalga sentez yöntemleri de kullanılmış ancak elde edilen koloidal yapılar çoğunlukla nano ölçekte olmamış, olsa bile floresans özelliğe sahip olmamıştır. Şekil 4.1’ de sulu sentez yöntemi ile sentezlenen ve nano boyutta olmayan ve floresans özelliklik göstermeyen CdSeS’ler görülmektedir.



Şekil 4.1. CdSeS nanokristali elde etmek için yapılan sulu sentez sonunda elde edilen katı

Floresans taraması dışında elde edilen SEM görüntüleri de sentezin başarılı olmadığını göstermektedir (Şekil 4.2).

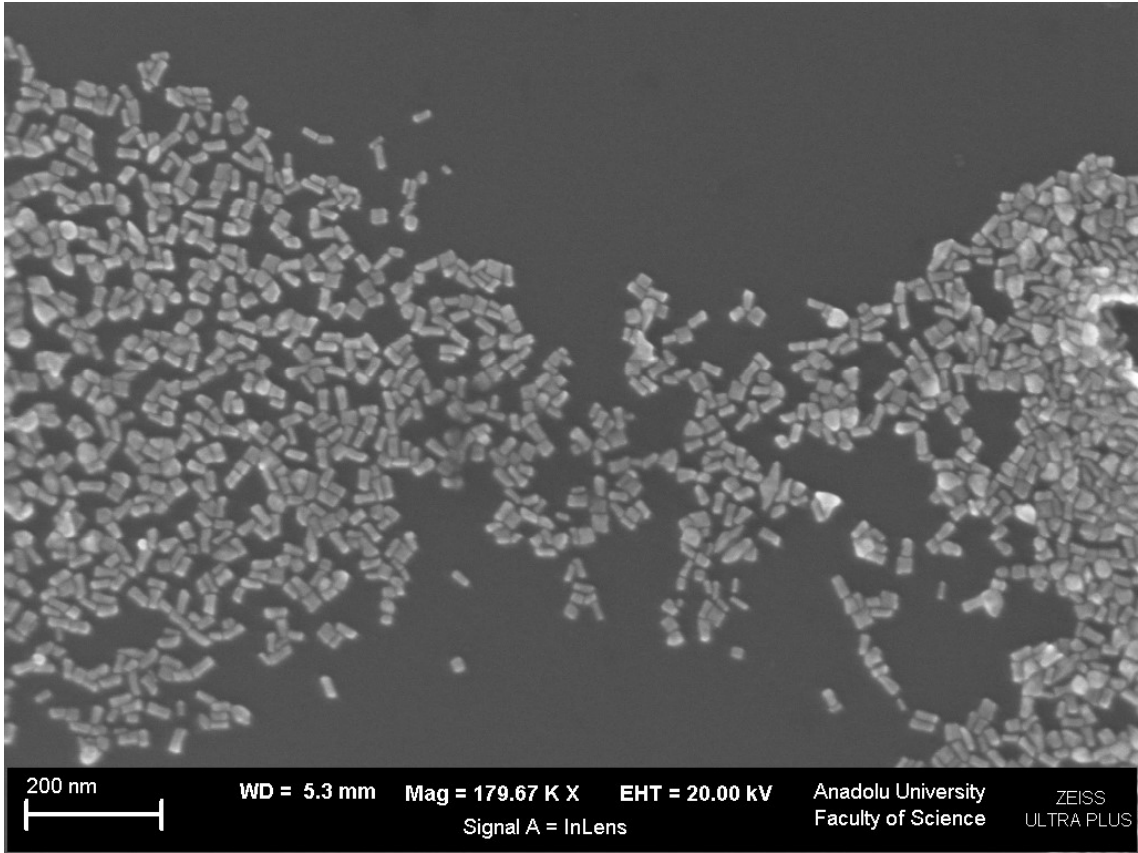


Şekil 4.2. CdSeS sulu sentezi sonucu elde edilen yapıların SEM görüntüsü

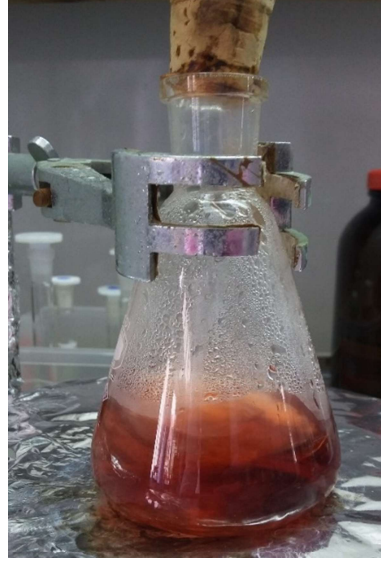
Sulu sentez işlemleri için pek çok farklı yöntem denenmiş olup başarılı olunamamıştır. Bu nedenle sulu ortamda kolayca sentezlenebilen altın nanopartiküller ile çalışma denenmiştir. Şekil 4.3 ' te sentezlenen farklı altın nanopartiküller görülmektedir.



Şekil 4.3. *Altın nanorodlar*



Şekil 4. 4. *Altın nanorodlara ait SEM görüntüsü*



Şekil 4.5. *Altın nanopartiküller*

Altın nanopartiküllerin floresans özelliğe sahip olmaması sebebiyle, bu yapılar “Lateral Flow Test” yöntemi temelli antijen tayini için kullanılmıştır. Bunun için nanofiber tabaka kullanılmıştır.

Polivinilalkol nanofiberler membran yüzey olarak kullanılmış ancak altın nanopartiküller yüzeye kuvvetlice bağlandığından hareketi sağlanamış ve yöntem çalışmamıştır. Nanofiber yüzeyinden uzaklaştırılamayan altın nanopartiküller Şekil 4.6 ‘da görülmektedir.



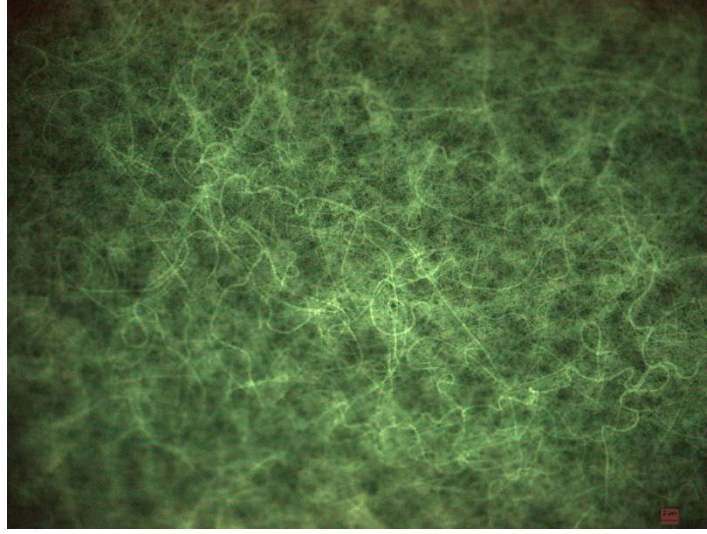
Şekil 4.6. *Nanofiber üzerinden uzaklaştırılamayan altın nanopartiküller*

İkinci olarak altın nanopartiküller nitroselüloz tabaka üzerinde lateral flow test temel alınarak antijen tayini yapılmak istenmiş, ancak yine altın nanopartiküller kontrol grubunda da yüzeyden uzaklaştırılamamıştır (Şekil 4.7).

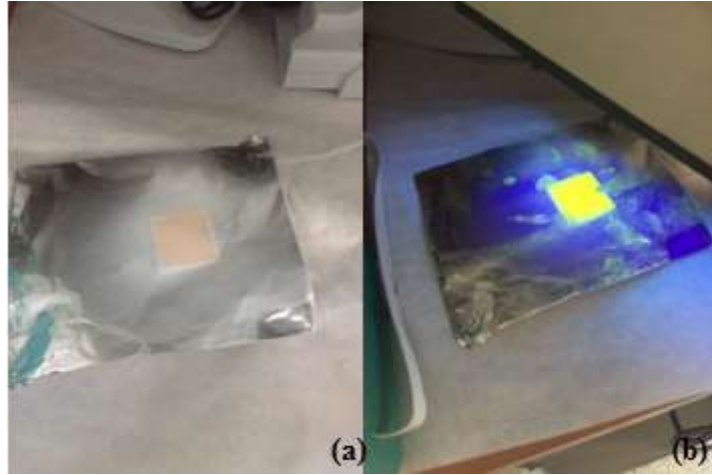


Şekil 4.7. Nitroselüloz tabakadan uzaklaştırılamayan nanopartiküller

Altın nanopartiküller ile yapılan çalışmanın üzerine CdSeS tipi nanokristallerin organik fazda sentezlenip sonradan suda çözünürleştirilmesine çalışılmıştır. Bu konu ile ilgili pek çok çalışma bulunmakla beraber yöntemler başarılı olmamıştır. Organik faz tamamen uzaklaştırılamamakta ve su fazına çok az miktarda nanokristal geçmektedir. Bu nedenle floresans mikroskop kullanarak, floresans ışımaya şiddetini elde edilen fotoğraflardan sayısal veriye aktararak kullanmak için nanofiberlere organik sentez ile elde edilen nanokristaller gömülerek plazma ile fonksiyonlaştırılan fiberlere antikolar konjuge edilmiştir. Bu yöntem sadece floresans mikroskopu ile değil fotoğraflandırılıp elde edilen fotoğraflardan ışımaya miktarı sayısal verilere çeşitli yazılımlarla dönüştürülüp bir kalibrasyon doğrusu elde etmek hedeflenmiştir. Ancak nanofiberlerin oluşturulması aşamasında cihaz içerisinde enjeksiyon ünitesi uzun süre sabit kaldığından ve karışma sağlanamadığından elde edilen fiberler aynı konsantrasyonda nanokristale sahip olmamış ve ışımaları eş olmamıştır.



Şekil 4.8. Floresans mikroskop ile elde edilen nanokristal gömülü nanofiberler



Şekil 4.9. Fotoğraflama tekniği için kullanılan nanofiberler (a) gün ışığında, (b) UV ışık altında

Çalışmanın temel amacı, günümüzün en büyük problemlerinden olan yanlış ve gereksiz antibiyotik kullanımı sonucunda ortaya çıkan antibiyotik direncini teşhis edebilecek analiz yöntemi geliştirmektir. Hekim hastada bir enfeksiyon ile karşılaştığında sebebi öngörülebilir bir enfeksiyon ise genellikle dar spektrumlu ilaçlar yazarak doğru tedavi uygulayabildiği gibi enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar tahmin edilemediğinde geniş spektrumlu ilaçlar reçete ederek vücutta bulunan faydalı mikroorganizmaların yok olmasına, yok olmayan mikroorganizmaların ise direnç kazanmasına neden olabilmektedir. Hastalıkta hangi bakteri tipi ile karşı karşıya olunduğunu önlemek adına yapılan antibiyogramların bir haftaya yakın süreç alması

hastanın bu test sürecinde hastalığının ilerlemesine ve hatta baze yaşamının sonlanmasına da yol açmaktadır. Bu yöntemle antibiyogram uygulaması yerine sadece birkaç saat içerisinde hastanın ilgili antibiyotiğe karşı direnç geliştirip geliştirmediğini anlamak mümkün olacak ve doğru antibiyotik seçimi ile direnç gelişimi önlenebilecektir.

Çalışmanın ilk adımında CdSe/Zn nanokristaller sentezlenerek gerekli karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Karakterizasyon çalışmaları tamamlandıktan sonra nanokristallerin suda çözünürleştirilmesi 3-MPA ile sağlanmıştır. Bu işlem sonrasında nanokristallerin emisyon dalga boylarının arttığı floresans emisyon şiddetlerinin ise azaldığı gözlemlenmiştir. Suda çözünebilir nanokristaller antikor ile modifiye edilerek nanokristal- anti- betalaktamaz çiftleri elde edilmiştir. Bu işlem arkasından alınan floresans taramalarında yine emisyon şiddetinin azaldığı dalga boyunun ise azaldığı görülmüştür. Artan derişimde anjenlerin nanokristaller ile etkileştirilmesi ile giderek azalan emisyon piki gözlenmiştir. Bu artan derişimle beraber sönümlemenin de arttığını göstermektedir.

Literatürde nanokristaller ile pek çok antibadi- antijen tayini için yöntem bulunmaktadır. Ancak antibiyotik direnç tayinine yönelik bir yöntem bulunmamaktadır. Artan derişimlerde antijene karşı, floresans emisyon şiddetleri değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle elde edilen kalibrasyon doğrusunun regresyon katsayısı 0,9165 olarak bulunmuştur. LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanması amacıyla antijen içermeyen 3 şahit çözelti ölçüm yapılmış ve bu değerler hesaplanmıştır. Hesaplamalar sonucunda LOD değeri $1,046 \times 10^{-6}$ LOQ değeri ise $3,48 \times 10^{-6}$ olarak bulunmuştur. Yapılan hesaplamalar geliştirilen yöntem ile çok düşük derişimlerde antijen tayini yapmak mümkün olabilmektedir.

KAYNAKÇA

- Khadori, N. (2006). Antibiotics - past, present and future. *MedClinAm* ,90, 1049-1076.
- A. Lorke, J. P. (1990). Coupling of quantum dots on GaAs. *Phys. Rev. Lett.* 64, 2559.
- Akalın, E. (1994). *Klinik Uygulamada Antibiyotikler ve Diğer Antimikrobiyal ilaçlar*. Ankara: Güneş Kitabevleri.
- Akbay, N., Seferoğlu, Z., & Gökoğlu, E. (2009). Fluorescence interaction and determination of calf thymus DNA with two ethidium derivatives. *Journal of Fluorescence*, 19, 1045-1054.
- Akbay, N., Seferoğlu, Z., & Gökoğlu, E. (2010). 2. Akbay, N., Seferoğlu, Z. veGökoğlu, E. . *Current Analytical Chemistry*, 6, 334-340.
- Andriole, V. T. (1998). *The Quinolones*. London: Academic Press.
- Arnall, A. H. (2003). *Future Technologies, Today's choices: Nanotechnology, Artificial Intelligence and Robotics; A technical political, and institutional map emerging technologies*. London: Greenpeace Environmental Trust.
- Bawendi, M. G. (1990). The Quantum-Mechanics of Larger Semiconductor Clusters (Quantum Dots). *Annual Review of Physical Chemistry*, 41, 477-496.
- Beard, M. K. (2007). Multiple Exciton Generation in Colloidal Silicon Nanocrystals. *Nano Letters*, 7, 2506-2512.
- Bennet, J., Mandel, G., & Dolin, R. (1995). Antifungal agents. B. JE içinde, *Principles and practice of infectious diseases 4th ed.* (s. 401-410). New York: Churchill Livingstone.
- Bordone, P. P. (1999). Quantum transport of electrons in open nanostructures with the Wigner-function formalism. *Phys. Rev. B* 59, 3060.
- Bradford, P. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*, 14, 933-951.
- Brovelli, S. S.-S. (2011). Nanoengineered electron-hole exchange interaction controls exciton dynamics in core-shell semiconductor nanocrystals. *Nature Communication*, 2, 280.
- Bruchez M. P., B. B. (2004). Noninvasive Imaging of Quantum Dots in Mice. *Bioconjugate Chem.*, 15, 79-86.
- Bruchez, M. M. (1998). Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* 281, 2013-2016.
- Bunt, G., & Wouters, F. S. (2004). Visualization of Molecular Activities Inside Living Cells with Fluorescent Labels. *Int. Rev. Cytol.*, 237, 205-277.
- Bush, K., & Jacoby, G. (1997). Nomenclature of TEM beta-lactamase. *J Antimicrob Chemoter*, 39, 1-3.

- Bush, K., Jacoby, G., & Medeiros, A. (1995). A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 39, 1211-1233.
- Chapman, E. R., Alexander, K., Vorherr, T., Carafoil, E., & Storm, D. R. (1992). *Biochemistry*, 31, 12819-12825.
- Cingi M. G, E. K. (1996). *Kemoterapötikler 7*. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi.
- Coşkun, S., & Altanlar, N. (2012). AmpC beta laktamazlar. *ANKEM Dergisi*, 26, 203-214.
- Cunha, B. (1995). The antibiotic treatment of community-acquired, atypical and nosocomial pneumonias. *Med Clin North Am.*, 79, 581-597.
- Çetin, E. T. (1986, Mayıs). B-Laktam Antibiyotikler. *Kükem Dergi*, s. 104-112.
- Dabbousi, B. R.-V. (1997). (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. *J. Phys. Chem. B*, 101, 9463-9475.
- Demel, T. H. (1990). Nonlocal dynamic response and level crossings in quantum-dot structures. *Phys. Rev. Lett.* 64, 788.
- Demir, N. (2006). *Gram Negatif Bakterilerde GeniŞlemiŞ Spektrumlu B-Laktamaz (GsbI) Üretimine Katkıda Bulunan ÇeÇitli Risk Faktörlerinin AraÇtırılması, Uzmanlık Tezi.*. İstanbul: Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim Ve AraÇtırma Hastanesi Sağlık Bilimleri Entitüsü.
- Dhand C., D. N. (2015). Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: a comprehensive overview. *RSC Adv.*, 5, 105003-105037.
- Dökmeci, İ. (1996). *Farmakoloji uygulamalarında temel kavramlar*, 2. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık.
- Edelstein, A. S. (2001). *Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*. Bristol: Institute of Physics Publishing.
- Efros, A. (1982). Interband absorption of light in a semiconductor sphere. *Soviet physics Semiconductors*, 16, 772-775.
- Eychmüller, A. M. (1993). A quantum dot quantum well: "CdS/HgS/CdS. *Chemical Physics Letters*, 208, 59-62.
- Fox, M. (2001). *Optical Properties of Solids*. Oxford University Press, 24-88.
- Förster, T. (1959). Transfer mechanisms of electronic excitation. *Discuss Faraday Soc.*, 27, 7-11.
- Frenkel, J. (1936). on the absorption of light and trapping electrons and positive holes in crystalline dielectrics. *Physikalische Zeitschrift der Sowjetunion* 9, 158-186.

- Gur, D., Pitt, T., LMC, Akalin, E., & Livermore, D. (1992). Diversity of Klebsiella with extended-spectrum β -lactamases at a Turkish university hospital. *J Hosp Infect*, 22, 163-178.
- Gülay, Z. (2003). Hücre Duvar Sentezini Etkileyen Antibakteriyeller. *Ankem Dergi*, 17, 192-204.
- Gürmen, S. S. (2006). Synthesis of nanosized spherical cobalt powder by ultrasonic spray pyrolysis. *Mater. Res. Bull.* -41, 1882-1890.
- Hancock, R. (2007). The Complexities Of Antibiotic Action. *Molecular Systems Biology*, 3, 142.
- Hansen, W. S. (1989). Zeeman bifurcation of quantum-dot spectra. *Phys. Rev. Lett.* 62, 2168.
- Harrison, P. (1999). *Quantum wells, wires, and dots: Theoretical and computational physics*. New York.: John Wiley & Sons, Ltd., .
- Heyduk, T. (2002). Measuring protein conformational changes by FRET/LRET. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 13, 292-296.
- Hink, M. A., Bisselin, T., & Visser, A. J. (2002). Imaging protein-protein interactions in living cells. *lant Mol. Biol.*, 50, 871-873.
- Hu, Y. L. (2007). Facile flame sytnthesis and photoluminescent properties of core/shell TiO₂/SiO₂ nanoparticles. *Journal of Alloys and Compunds*-29, 432.
- Huang X., E.-S. M. (2001). old nanoparticles: Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *Journal of Advanced Research*, 1, 13–28.
- humway, J. F. (2001). Correlation versus mean-field contributions to excitons, multiexcitons, and charging energies in semiconductor quantum dots. *Physical Review B*, 63, 155316-15529.
- Jabłoński, A. (1933). Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes, 131. *Nature*, 839-840.
- Jang, H. D. (2004). Preparation of cobalt nanoparticles by hydrogen reduction of cobalt chloride in the gas phase. *Mater. Res. Bull.*-39, 3-70.
- Jares-Erijman, E. A., & Jovin, T. M. (2003). FRET imaging. *Nat. Biotechnol.*, 1387-1395.
- Johnson, N. F. (1995). Quantum dots: few-body, low-dimensional systems. *J. Phys.: Condens Matter*. 7, 965.
- Jones, R., Baquero, F., Privitera, G., İnoue, M., & Weidemann, B. (1997). Inducible beta-lactamase mediated resistance to third generation cephalosporins. *Clin Microbiol Infect*, 3, 7-20.
- Karagöz, F. (2015). *edef kimyasala duyarlı floresan malzemelerin sentezi ve kimyasal sensörlerde kullanımı*. İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi.

- Kayaalp. (2009). *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji*. Pelikan.
- Kayanuma, Y. (1988). Quantum-size effects of interacting electrons and holes in semiconductor microcrystals with spherical shape. *Physical Review B*, 38, 9797-9805.
- Kemoterapötik İlaçlar*. (2011). Ankara: Milli Eğitim Bakanlığı.
- Khlebtsov N., B. V.-e. (2013). Analytical and Theranostic Applications of Gold Nanoparticles and Multifunctional Nanocomposites. *Theranostics*, Vol. 3, Issue 3, 167-180.
- Kiraz, N. (2006). *Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi.
- Kittel C. (2004). Introduction to Solid State Physics. *John Wiley & Sons, New York*, 1-24, 176-189, 305-333.
- Koç Türkoğlu, F. (2008). *Pediatric Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumlarının Araştırılması, Uzmanlık Tezi*. İstanbul: Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ledentsov, N. N. (1994). Optical properties of heterostructures with InGaAs-GaAs quantum clusters. *Semiconductors*, 28, 832.
- Lipparini, E. (2003). Modern many-particle physics. *World scientific*, 48-52.
- Liu, C. T. (1989). *H. I. Appl. Phys. Lett.* 55, 168.
- Liveri, V. T. (2006). *Controlled Synthesis of Nanoparticles in Microheterogeneous Systems*. New York: Springer Science+Business Media, Inc.
- Livermore, D. (1995). Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*, 8, 557-584.
- Livermore, D. (2008). Refining an extended-spectrum beta-lactamase. *Clin Microbiol Infect*, 5, 3-10.
- McManus, M. (1997). Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Am J Health Syst Pharm*, 54, 1420-1433.
- Mott, N. (1938). On the absorption of light by crystals. *Proceedings of the Royal Society A*, 167, 384-391.
- N, K. (2006). *Antibiotics - past, present and future*. MedClinAm.
- Nemutlu, E., & Kır, S. (2009). Üçüncü ve Dördüncü Kuşaktan Seçilmiş Sefalosporinlerin İnsan Kaynaklı Biyolojik Materyallerden HPLC ile Tayinleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 185-207.
- Neu, H. C. (1983). Structure activity relations of new B-lactam compounds and in vitro activity against common bacteria. *Rev Infec Dis*, 5, 319.

- Ngoc Thuy Vo, H. D. (2016). Stability Investigation of Ligand-Exchanged CdSe/ZnS-Y (Y = 3-Mercaptopropionic Acid or Mercaptosuccinic Acid) through Zeta Potential Measurements. *Journal of Nanomaterials*, 1-8.
- Nguyen V. L., N. D. (2010). Chemical synthesis and characterization of palladium nanoparticles. *Adv. Nat. Sci.*
- Nie, S. G.-v. (2004). In-vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nature Biotechnology*, 969-976.
- Norris, D. B. (1996). Measurement and assignment of the size-dependent optical spectrum in CdSe quantum dots. *Physical Review B*, 53, 16338-16346.
- Nozik, A. J. (2005). Exciton Multiplication and Relaxation Dynamics in Quantum Dots: Applications to Ultrahigh-Efficiency Solar Photon Conversion. *Inorganic Chemistry*, 44, 6893-6899.
- Öncül, O. (2002). Antibiyotikler. *Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi* (s. 23-38). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi.
- Özdoğan, E. D. (2006). Tekstil ve Konfeksiyon. *Nanoteknoloji ve Tekstil Uygulamaları*, 16(3), 159-163.
- Paterson, D., & Bonomo, R. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, 18, 657-686.
- Rendell, D. (1987). *Fluorescence and Phosphorescence*. London: Published on behalf of ACOL.
- Richmond, M. H. (1979). B-Lactam antibiotics and B-lactamases: Two sides of a continuing story. *Rev Infec Dis*, 30.
- Roco, M. (2005). International Perspective on Government Nanotechnology Funding. *J. Nanopart. Res.*, 7, 707-12.
- Saran, B., & Karahan, Z. C. (2010). Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış. *Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış*, (s. 20-16).
- Sattler, K. D. (2011). *Handbook of Nanophysics, Nanoparticles and Quantum Dots*. New York: CRC Press.
- Schaller, R. D. (2004). High Efficiency Carrier Multiplication in PbSe Nanocrystals: Implications for Solar Energy Conversion. *Physical Review Letters*, 92, 186601.
- Schaller, R. D. (2006). Seven Excitons at a Cost of One: Redefining the Limits for Conversion Efficiency of Photons into Charge Carriers. *Nano Letters* 6, 424-429.
- Schimmel, P. R., & Cantor, C. R. (1980). *Biophysical Chemistry*. San Francisco: Freeman.
- Sergeev, B. E. (2006). *Nanochemistry*. Amsterdam, Netherlands.: Elsevier B. V.,.

- Suh, H. J. (2006). Size-controlled synthesis of Fe-Ni alloy nanoparticles by hydrogen reduction of metal chlorides. *Powder Tech.* -161, 196-201.
- Swihart, M. T. (2003). Vapor-phase synthesis of nanoparticles. *Current Opinion in Colloid and -8*, 127-133.
- Takagahara, T. (1987). Excitonic optical nonlinearity and exciton dynamics in semiconductor quantum dots. *Physical Review B*, 36, 9293-9396.
- Tanır G., G. N. (1999). Antibiyotik Direnci. *Klinik Dergi*, 12, 47-54.
- Tewordt, M. L. (1990). Direct experimental determination of the tunnelling time and transmission probability of electrons through a resonant tunnelling structure. *J. Phys.: Condens Matter* 2, 8969.
- Tunalı, Y., Karaca, H., Öztürk, Y., & Korkmaz, S. (2009). Yeni B-Laktamaz İnhibitörlerinin Araştırılması. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 10, 565-575.
- Tülek, N. (2000). *Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu Kitapçığı*. Ankara.
- Ulusoy, S. (2003). *B-Laktam Antibiyotikler*. İzmir: Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı.
- Van Der Meer, B. W., Coker, G., & Chen, S. S. (1994). *Resonance Energy Transfer: Theory and Data*. New York: VCH.
- Vo, N., Ngo, H., Vu, D. L., Duong, A. P., & Lam, Q. V. (2015). Conjugation of E. coli O157:H7 Antibody to CdSe/ZnS Quantum Dots. *Journal of Nanomaterials*, 1-7.
- Walsh, C. (2003). *Antibiotics*.
- Walsh, C. (2003). *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*. Washington DC: Elsevier Science.
- Wang, Z. H. (2003 a). Microstructure and magnetic property of Fe-Co nanoparticles prepared by chemical vapor condensation process. *J. of All. and Comp.*- 351, 319-323.
- Wang, Z. H. (2003 b). Characterization of Fe-Co alloyed nanoparticles synthesized by chemical vapor condensation. *Materials Letters*- 57, 3560-3564.
- Wannier, G. H. (1937). he structure elektronik excitation levels in insulating crystals. *Physical Review*, 52, 191-197.
- Wright, D. G. (2003). Mechanisms Of Resistance To Antibiotics. *Current Opinion in Chemical Biology*, 7, 563-569.
- Y., K. (1988). Quantum-size effects of interacting electrons and holes in semiconductor microcrystals with spherical shape. *Physical Review B*, 38, 9797-9805.