

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



**BAZI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARINDA BİYOFİLM
OLUŞTURMA KAPASİTELERİ VE BAZI FAKTÖRLERİN
BİYOFİLM KAPASİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

EMRULLAH KARAMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROF. DR. ERGİN MURAT ALTUNER

HAZİRAN - 2025

KASTAMONU

TEZ ONAYI

EMRULLAH KARAMAN tarafından hazırlanan “BAZI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARINDA BİYOFİLM OLUŞTURMA KAPASİTELERİ VE BAZI FAKTÖRLERİN BİYOFİLM KAPASİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **17.06.2025** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER Kastamonu Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ilgaz AKATA Ankara Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Nezahat TURFAN Kastamonu Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü	Doç. Dr. Selçuk MEMİŞ	
----------------	-----------------------	-------

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Emrullah KARAMAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SUŞLARINDA BİYOFİLM OLUŞTURMA KAPASİTELERİ VE BAZI FAKTÖRLERİN BİYOFİLM KAPASİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

EMRULLAH KARAMAN

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF. DR. ERGİN MURAT ALTUNER

Biyofilmler, bir veya daha fazla mikroorganizma türünün canlı veya cansız yüzeylere yapışarak, kendilerini çevreleyen hücre dışı polimerik maddelerden (EPS) oluşan koruyucu bir matris içinde organize oldukları karmaşık mikrobiyal ekosistemlerdir. Klinik açıdan önemli bir patojen olan *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerde biyofilm oluşumu, hem çevresel streslere karşı dayanıklılığı artıran hem de antibiyotiklere karşı tekli veya çoklu direnç gelişimine katkıda bulunan önemli bir virülans mekanizması olarak kabul edilmektedir. Biyofilm gelişim süreci; sıcaklık, su aktivitesi (tuz konsantrasyonu), pH ve glikoz gibi besin maddelerinin varlığı gibi çeşitli çevresel faktörlerden önemli ölçüde etkilenir. Bu tez çalışması, farklı antibiyotik duyarlılık profillerine sahip 2 metisilin dirençli (MRSA) ve 2 metisilin duyarlı (MSSA) olmak üzere toplamda dört adet *S. aureus* suşunun biyofilm oluşturma potansiyelini araştırmayı ve bu potansiyelin temel çevresel faktörler olan sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu tarafından nasıl modüle edildiğini belirlemeyi amaçlamıştır. Çalışmanın ilk aşamasında, seçilen dört suş için biyofilm oluşumunu destekleyen optimal glikoz konsantrasyonu belirlenmiştir. Takip eden aşamada ise bu suşların, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu koşulları altında biyofilm oluşturma kapasiteleri kantitatif olarak incelenerek, her bir faktör için optimum seviyeler saptanmıştır. Bu araştırma, *S. aureus*'un çevresel koşullara biyofilm aracılığıyla nasıl adapte olduğunu anlamak ve bu bilgiyi potansiyel kontrol stratejileri geliştirmek için kullanmak açısından önem taşımaktadır.

ANAHTAR KELİMELE: *Staphylococcus aureus*, MRSA, MSSA, Biyofilm, Çevresel Faktörler

Haziran 2025, 211 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

BIOFILM FORMATION CAPACITIES IN SOME *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS AND THE EFFECTS OF SOME FACTORS ON THE BIOFILM CAPACITIES

EMRULLAH KARAMAN

**KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY**

SUPERVISOR: PROF. DR. ERGİN MURAT ALTUNER

Biofilms are complex microbial ecosystems formed by one or more microorganism species that adhere to living or non-living surfaces and become organized within a protective matrix composed of extracellular polymeric substances (EPS). In bacteria such as *Staphylococcus aureus*, a clinically significant pathogen, biofilm formation is considered an important virulence mechanism that enhances tolerance to environmental stresses and contributes to the development of single or multiple resistance to antibiotics. The biofilm development process is significantly influenced by various environmental factors such as temperature, water activity (related to salt concentration), pH, and the presence of nutrients like glucose. This thesis aimed to investigate the biofilm formation potential of a total of four *S. aureus* strains, comprising two methicillin-resistant (MRSA) and two methicillin-susceptible (MSSA) strains, exhibiting different antibiotic susceptibility profiles, and to determine how this potential is modulated by the key environmental factors: temperature, pH, and NaCl concentration. In the initial phase of the study, the optimal glucose concentration supporting biofilm formation was determined for the four selected strains. In the subsequent phase, the biofilm formation capacities of these strains were quantitatively assessed under varying conditions of temperature, pH, and NaCl concentration to determine the optimum levels for each factor. This research is important for understanding how *S. aureus* adapts to environmental conditions through biofilm formation and for utilizing this knowledge to develop potential control strategies.

KEYWORDS: *Staphylococcus aureus*, MRSA, MSSA, Biofilm, Environmental Factors

June 2025, 211 Pages

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başlamamdan bugüne kadar her aşamasında katkısı ve emeği büyük olan, bilgi birikimleri ve tecrübesiyle tezimin hazırlanmasında desteğini hep hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER'e,

Yüksek lisans sürecimin en başından en sonuna kadar nazımı çeken, bu yolda bana hep destek veren eşim Şerife Aran KARAMAN'a,

Yüksek lisans eğitimimin başlamasında katkısı olduğu gibi sürecin devamında ve sonunda desteğini esirgemeyen, gerek pandemi yıllarında gerekse pandemi öncesi omuz omuza çalıştığım meslektaşım Hatice Çetin SANDALCI'ya,

Laboratuvar safhası, öncesi ve sonrasında destekleri için Umay Merve ŞENTURAN ve Kübra TEKŞEN'e,

Son olarak hep yanımda olan maddi, manevi desteğini her zaman hissettiğim beni yetiştirip bugünlere getiren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Emrullah KARAMAN

Kastamonu, 2025

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Tarihçesi	1
1.2 <i>Staphylococcus aureus</i> 'un Genel Özellikleri	2
1.3 Biyofilm Nedir?.....	2
1.3.1 Biyofilmin Yapısı	3
1.3.2 Biyofilmin Oluşum Mekanizmaları	3
1.3.3 Biyofilm ve <i>S. aureus</i> İlişkisi	5
1.3.4 Biyofilm Oluşumunu Etkileyen Çevresel Faktörler	5
1.3.4.1 Sıcaklık ve pH	6
1.3.4.2 Hidrodinamik Koşullar.....	6
1.3.4.3 Yüzey Özellikleri	7
1.3.4.4 Besin Maddeleri	7
1.3.4.5 Diğer Mikroorganizmalar.....	8
1.3.5 Biyofilm Oluşumunun Avantaj ve Dezavantajları	8
1.3.6 Tezin Amacı.....	9
2. LİTERATÜR TARAMASI	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1 Materyaller	17
3.1.1 Mikroorganizmalar	17
3.1.2 Nutrient Broth (NB).....	17
3.1.3 Agar	17
3.1.4 LB Broth	17
3.1.5 Glikoz	18
3.1.6 Plastik Petri Kapları	18
3.1.7 Otomatik Mikropipetler ve Uçları	18
3.1.8 Steril Eküvyon ve Özeler	18
3.1.9 Distile Su	18
3.1.10 Etil Alkol	19
3.1.11 Parafilm.....	19
3.1.12 Alüminyum Folyo.....	19
3.1.13 Deney Tüpleri	19
3.1.14 Falkon Tüpleri	19
3.1.15 Mikroplakalar	20
3.1.16 Kristal Viyole.....	20
3.1.17 Serum Fizyolojik	20

3.1.18 Aseton	20
3.1.19 Cam Şişeler	20
3.2 Çalışma Esnasında Kullanılan Cihazlar	21
3.2.1 Hassas Terazî	21
3.2.2 Biyogüvenlik Kabini	21
3.2.3 Distile Su Cihazı	21
3.2.4 Etüv (İnkübatör)	21
3.2.5 Otoklav	22
3.2.6 McFarland Densitometresi	22
3.2.7 İspirto Ocağı	22
3.2.8 Mikroplaka Okuyucu	22
3.2.9 Buzdolabı ve Derin Dondurucular	23
3.2.10 pH Metre	23
3.2.11 Vorteks Cihazı	23
3.3 Yöntem	24
3.3.1 Besiyerlerinin Hazırlanması	24
3.3.1.1 Nutrient broth (NB)	24
3.3.1.2 Nutrient agar	24
3.3.1.3 LB-broth	24
3.3.2 Diğer Çözeltilerin Hazırlanması	25
3.3.2.1 Sitrik asit	25
3.3.2.2 Disodyum hidrojen fosfat	25
3.3.2.3 McIlvaine tamponunun (pH = 5) hazırlanması	25
3.3.2.4 McIlvaine tamponunun (pH = 7) hazırlanması	26
3.3.2.5 Tris - HCl tamponunun (pH = 9) hazırlanması	26
3.3.3 En İdeal Glikoz Konsantrasyonunun Bulunması	26
3.3.4 Biyofilm Oluşumuna Etki Eden Parametrelerin Denenmesi	29
3.3.5 İstatistiksel Analiz	36
4. BULGULAR	39
4.1 En İdeal Glikoz Konsantrasyonuna Ait Çalışmanın Sonuçları	39
4.2 Farklı Sıcaklık, pH ve NaCl Konsantrasyon Değerlerinin <i>S. aureus</i> Biyofilm Üretimine Etkisi	47
4.3 Direnç Bazında Karşılaştırmalar	54
4.3.1 Sefoksitin Bazında Karşılaştırma	54
4.3.2 Oksasilin Bazında Karşılaştırma	59
4.3.3 Levofloksasin Bazında Karşılaştırma	59
4.3.4 Tetrasiklin Bazında Karşılaştırma	64
4.4 Sıcaklık, pH ve NaCl Kombinasyonları (FD) Bazında Karşılaştırmalar	66
4.4.1 FD-13 (Sıcaklık = 20°C, pH =7,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma	66
4.4.2 FD-11 (Sıcaklık = 30°C, pH =5,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma	68
4.4.3 FD-14 (Sıcaklık = 30°C, pH =7,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma	69
4.4.4 FD-5 (Sıcaklık = 30°C, pH =5,0 ve NaCl = %2) Bazında Karşılaştırma	70
4.4.5 FD-23 (Sıcaklık = 30°C, pH =7,0 ve NaCl = %10) Bazında Karşılaştırma	72

4.4.6 FD-17 (Sıcaklık = 30°C, pH =9,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma	73
4.4.7 FD-15 (Sıcaklık = 40°C, pH =7,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma	74
4.5 Korelasyon Analizi	75
4.5.1 <i>S. aureus</i> Suşları Bazında Korelasyon Analiz	76
4.5.2 Sefoksitin Direnci Bazında Korelasyon Analizi	78
4.5.3 Oksasilin Direnci Bazında Korelasyon Analizi	80
4.5.4 Levofloksasin Direnci Bazında Korelasyon Analizi	81
4.5.5 Tetrasiklin Direnci Bazında Korelasyon Analizi	82
5. TARTIŞMA	83
5.1 Farklı Sıcaklık, pH ve NaCl Konsantrasyon Değerlerinin <i>S. aureus</i> Biyofilm Üretimine Etkisi	86
5.1.1 Faktörlerin <i>S. aureus</i> Biyofilm Üretimine Etkisini En İyi Açıklayan Regresyon Modelinin Tespiti	86
5.1.1.1 Doğrusal (linear) regresyon modeli	86
5.1.1.2 Logaritmik regresyon modeli	87
5.1.1.3 Ters (inverse) regresyon modeli	88
5.1.1.4 Kuadratik regresyon modeli	88
5.1.1.5 Kuadratik logaritmik regresyon modeli	90
5.1.1.6 Kübik regresyon modeli	91
5.1.1.7 Üstel regresyon modeli	91
5.1.1.8 Doğrusal olmayan GAM regresyon modeli	92
5.1.2 Bakteri Tipine Göre GAM Modeli ile Elde Edilen Sonuçlar	94
5.1.2.1 S1 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar	94
5.1.2.2 S2 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar	107
5.1.2.3 S3 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar	120
5.1.2.4 S4 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar	133
5.2 Direnç Bazında Karşılaştırmalar	146
5.2.1 Sefoksitine Göre Regresyon Modeli	146
5.2.1.1 Doğrusal (linear) regresyon modeli	146
5.2.1.1.2 Logaritmik regresyon modeli	147
5.2.1.1.3 Ters (inverse) regresyon modeli	147
5.2.1.1.4 Kuadratik regresyon modeli	148
5.2.1.1.5 Kuadratik logaritmik regresyon modeli	149
5.2.1.1.6 Kübik regresyon modeli	150
5.2.1.1.7 Üstel regresyon modeli	150
5.2.1.1.8 Doğrusal olmayan GAM regresyon modeli	151
5.2.1.1.9 Sefoksitin (-) için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar	152
5.2.1.1.10 Sefoksitin (+) için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar	165
5.2.1.2 Oksasiline göre regresyon modeli	178
5.2.1.3 Levoflaksasine göre regresyon modeli	178
5.2.1.3.1 Doğrusal (linear) regresyon modeli	178
5.2.1.3.2 Logaritmik regresyon modeli	178
5.2.1.3.3 Ters (inverse) regresyon modeli	179
5.2.1.3.4 Kuadratik regresyon modeli	179
5.2.1.3.5 Kuadratik logaritmik regresyon modeli	180
5.2.1.3.6 Kübik regresyon modeli	181
5.2.1.3.7 Üstel regresyon modeli	181

5.2.1.3.8 Doğrusal olmayan GAM regresyon modeli	181
5.2.1.3.9 Levoflaksasin (R) için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar	182
5.2.1.4 Tetrasikline göre regresyon modeli	195
6. SONUÇ	196
7. ÖNERİLER	198
KAYNAKLAR	199
EKLER	207
EK A	208
Tablo A.1 “S1” Olarak İzole Edilen <i>Staphylococcus aureus</i> ’un Direnç Profili	208
Tablo A.2 “S2” Olarak İzole Edilen <i>Staphylococcus aureus</i> ’un Direnç Profili	209
Tablo A.3 “S3” Olarak İzole Edilen <i>Staphylococcus aureus</i> ’un Direnç Profili	210
Tablo A.4 “S4” Olarak İzole Edilen <i>Staphylococcus aureus</i> ’un Direnç Profili	211
ÖZGEÇMİŞ	212

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1	Biyofilm oluşum döngüsü.....	4
Şekil 4.1	Bütün negatif kontroller için çizdirilmiş kutu grafiği	39
Şekil 4.2	Bütün üremelerin pozitif kontrolleri için çizdirilmiş kutu grafiği	40
Şekil 4.3	Bütün üremelerin negatif kontrol ile karşılaştırılması	41
Şekil 4.4	S1 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi	42
Şekil 4.5	S2 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi	43
Şekil 4.6	S3 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi	44
Şekil 4.7	S4 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi	45
Şekil 4.8	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S1 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi.....	47
Şekil 4.9	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S1 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali....	48
Şekil 4.10	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S2 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi.....	48
Şekil 4.11	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S2 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali....	49
Şekil 4.12	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S3 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi.....	50
Şekil 4.13	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S3 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali....	51
Şekil 4.14	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S4 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi.....	52
Şekil 4.15	Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S4 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali ...	53
Şekil 4.16	Sefoksitin (+) suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri	54
Şekil 4.17	Sefoksitin (-) suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri	56
Şekil 4.18	Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Sefoksitin (+) ve Sefoksitin (-) suşlarda biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi.....	58
Şekil 4.19	Levofloksasin R suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri	60
Şekil 4.20	Levofloksasin S suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri	61
Şekil 4.21	Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Levofloksasin R ve Levofloksasin S suşlarda biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi	63
Şekil 4.22	Tetrasiklin R suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri	64
Şekil 4.23	Tetrasiklin S suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri	65

Şekil 4.24	<i>S. aureus</i> suşları bazında FD-13 değerlerinin karşılaştırması.....	66
Şekil 4.25	<i>S. aureus</i> suşları bazında FD-11 değerlerinin karşılaştırması.....	68
Şekil 4.26	<i>S. aureus</i> suşları bazında FD-14 değerlerinin karşılaştırması.....	69
Şekil 4.27	<i>S. aureus</i> suşları bazında FD-5 değerlerinin karşılaştırması.....	70
Şekil 4.28	<i>S. aureus</i> suşları bazında FD-23 değerlerinin karşılaştırması.....	72
Şekil 4.29	<i>S. aureus</i> suşları bazında FD-17 değerlerinin karşılaştırması.....	73
Şekil 4.30	<i>S. aureus</i> suşları bazında FD-15 değerlerinin karşılaştırması.....	74
Şekil 4.31	S1 suşu için elde edilen korelasyon grafiği.....	76
Şekil 4.32	S2 suşu için elde edilen korelasyon grafiği.....	76
Şekil 4.33	S3 suşu için elde edilen korelasyon grafiği.....	77
Şekil 4.34	S4 suşu için elde edilen korelasyon grafiği.....	77
Şekil 4.35	Sefoksitin (-) olan suşlar için elde edilen korelasyon grafiği	78
Şekil 4.36	Sefoksitin (+) olan suşlar için elde edilen korelasyon grafiği	79
Şekil 4.37	Levofloksasin I olan suşlar için korelasyon grafiği	80
Şekil 4.38	Levofloksasin R olan suşlar için korelasyon grafiği	81
Şekil 5.1	Artıklar ve tahmin edilen değerler	93
Şekil 5.2	Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği	94
Şekil 5.3	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun kontur grafiği	95
Şekil 5.4	NaCl ve pH'ın kontur grafiği	95
Şekil 5.5	Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	96
Şekil 5.6	Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	96
Şekil 5.7	pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	97
Şekil 5.8	pH=5'te sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	97
Şekil 5.9	pH=7'de sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	98
Şekil 5.10	pH=9'da sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	98
Şekil 5.11	NaCl=%2 iken sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği.....	99
Şekil 5.12	NaCl=%6 iken sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği.....	99
Şekil 5.13	NaCl=%10 iken sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği.....	99
Şekil 5.14	20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	100
Şekil 5.15	30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	100
Şekil 5.16	40°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	101
Şekil 5.17	Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	102
Şekil 5.18	Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği	102
Şekil 5.19	NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	103
Şekil 5.20	pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	104
Şekil 5.21	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi '	104
Şekil 5.22	Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi '	105
Şekil 5.23	S1 GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği).....	106
Şekil 5.24	Artıklar ve tahmin edilen değerler	106
Şekil 5.25	Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği	107
Şekil 5.26	Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği.....	108
Şekil 5.27	NaCl ve pH'ın kontur grafiği	108
Şekil 5.28	Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	109

Şekil 5.29	Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	109
Şekil 5.30	pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	110
Şekil 5.31	pH=5'te Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	110
Şekil 5.32	pH=7'de Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	111
Şekil 5.33	pH=9'da Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	111
Şekil 5.34	NaCl=2'de Sıcaklık ve pH'in 3 boyutlu yüzey grafiği.....	112
Şekil 5.35	NaCl=6'da Sıcaklık ve pH'in 3 boyutlu yüzey grafiği.....	112
Şekil 5.36	NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'in 3 boyutlu yüzey grafiği.....	113
Şekil 5.37	20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	113
Şekil 5.38	30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	114
Şekil 5.39	40°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	114
Şekil 5.40	Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği.....	115
Şekil 5.41	Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği.....	115
Şekil 5.42	NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'in absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği.....	116
Şekil 5.43	pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi.....	117
Şekil 5.44	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'in tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi.....	117
Şekil 5.45	Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi.....	118
Şekil 5.46	S2 GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği).....	119
Şekil 5.47	Artıklar ve tahmin edilen değerler.....	120
Şekil 5.48	Sıcaklık ve pH'in kontur grafiği.....	121
Şekil 5.49	Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği.....	122
Şekil 5.50	NaCl ve pH'in kontur grafiği.....	122
Şekil 5.51	Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	123
Şekil 5.52	Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	123
Şekil 5.53	pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	124
Şekil 5.54	pH=5 için Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	124
Şekil 5.55	pH=7 için Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	125
Şekil 5.56	pH=9 için Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	125
Şekil 5.57	NaCl=2 için Sıcaklık ve pH'in 3 boyutlu yüzey grafiği.....	126
Şekil 5.58	NaCl=6 için Sıcaklık ve pH'in 3 boyutlu yüzey grafiği.....	126
Şekil 5.59	NaCl=10 için Sıcaklık ve pH'in 3 Boyutlu yüzey grafiği.....	126
Şekil 5.60	20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	127
Şekil 5.61	30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	127
Şekil 5.62	40°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	128
Şekil 5.63	Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği.....	128
Şekil 5.64	Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği.....	129
Şekil 5.65	NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'in absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği.....	129
Şekil 5.66	pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi.....	130

Şekil 5.67	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi	131
Şekil 5.68	Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi.....	131
Şekil 5.69	S3 GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği).....	132
Şekil 5.70	Artıklar ve tahmin edilen değerler	133
Şekil 5.71	Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği	134
Şekil 5.72	Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği.....	135
Şekil 5.73	pH ve NaCl'nin kontur grafiği.....	135
Şekil 5.74	Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	136
Şekil 5.75	Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	136
Şekil 5.76	pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	137
Şekil 5.77	pH=5'te Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	137
Şekil 5.78	pH=7'de Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	138
Şekil 5.79	pH=9'da Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	138
Şekil 5.80	NaCl=2'de Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği.....	139
Şekil 5.81	NaCl=6'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği	139
Şekil 5.82	NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği	139
Şekil 5.83	20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	140
Şekil 5.84	30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	140
Şekil 5.85	40°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	141
Şekil 5.86	Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbensa etkisini gösteren ısı grafiği	141
Şekil 5.87	Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği	142
Şekil 5.88	NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbensa etkisini gösteren ısı grafiği	142
Şekil 5.89	pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi	143
Şekil 5.90	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi	144
Şekil 5.91	Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi.....	144
Şekil 5.92	GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği).....	145
Şekil 5.93	Artıklar ve tahmin edilen değerler	151
Şekil 5.94	Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği	152
Şekil 5.95	Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği.....	153
Şekil 5.96	pH ve NaCl'nin kontur grafiği	153
Şekil 5.97	Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	154
Şekil 5.98	Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	154
Şekil 5.99	pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	155
Şekil 5.100	pH=5'te Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	155
Şekil 5.101	pH=7'de Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	156
Şekil 5.102	pH=9'da Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	156
Şekil 5.103	NaCl=2'de Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği	157
Şekil 5.104	NaCl=6'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği	157
Şekil 5.105	NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği	158
Şekil 5.106	20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	158
Şekil 5.107	30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	159

Şekil 5.108	40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği	159
Şekil 5.109	Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	160
Şekil 5.110	Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği	160
Şekil 5.111	NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH’ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	161
Şekil 5.112	pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	161
Şekil 5.113	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH’ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	162
Şekil 5.114	Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl’nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	163
Şekil 5.115	Sefoksitin (-) <i>S. aureus</i> suşlarına uygulanan GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)	163
Şekil 5.116	Artıklar ve tahmin edilen değerler	164
Şekil 5.117	Sıcaklık ve pH’ın kontur grafiği	165
Şekil 5.118	Sıcaklık ve NaCl’nin kontur grafiği	165
Şekil 5.119	pH ve NaCl’nin kontur grafiği	166
Şekil 5.120	Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	166
Şekil 5.121	Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	167
Şekil 5.122	pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	167
Şekil 5.123	pH=5’te Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği	168
Şekil 5.124	pH=7’de Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği	168
Şekil 5.125	pH=9’da Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği	169
Şekil 5.126	NaCl=2’de Sıcaklık ve pH’ın 3 yüzey grafiği	169
Şekil 5.127	NaCl=6’da Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği	170
Şekil 5.128	NaCl=10’da Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği	170
Şekil 5.129	20°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği	171
Şekil 5.130	30°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği	171
Şekil 5.131	40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği	172
Şekil 5.132	Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	173
Şekil 5.133	Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği	173
Şekil 5.134	NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH’ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	174
Şekil 5.135	pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	174
Şekil 5.136	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH’ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	175
Şekil 5.137	Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl’nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	176
Şekil 5.138	Sefoksitin (+) <i>S. aureus</i> suşlarına uygulanan GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)	176
Şekil 5.139	Artıklar ve tahmin edilen değerler	181
Şekil 5.140	Sıcaklık ve pH’ın kontur grafiği	182
Şekil 5.141	Sıcaklık ve NaCl’nin kontur grafiği	183
Şekil 5.142	pH ve NaCl’nin kontur grafiği	183

Şekil 5.143	Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	184
Şekil 5.144	Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	184
Şekil 5.145	pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği	185
Şekil 5.146	pH=5'te sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	185
Şekil 5.147	pH=7'de sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	186
Şekil 5.148	pH=9'da sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği.....	186
Şekil 5.149	NaCl=2'de sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği.....	187
Şekil 5.150	NaCl=6'da sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği.....	187
Şekil 5.151	NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği	188
Şekil 5.152	20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	188
Şekil 5.153	30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	189
Şekil 5.154	40°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği	189
Şekil 5.155	Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	190
Şekil 5.156	Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği	190
Şekil 5.157	NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği	191
Şekil 5.158	pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi	192
Şekil 5.159	Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi.....	192
Şekil 5.160	Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi.....	193
Şekil 5.161	Levoflaksasin (R) <i>S. aureus</i> suşlarına uygulanan GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)	193

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1	En iyi glikoz konsantrasyonunu belirlemek için yapılan mikrolaka tasarımı - 1.....	27
Tablo 3.2	En iyi glikoz konsantrasyonunu belirlemek için yapılan mikrolaka tasarımı - 2.....	28
Tablo 3.3	20°C’de inkübe edilen mikrolaka tasarımı	30
Tablo 3.4	30°C’de inkübe edilen mikrolaka tasarımı - S1 ve S2 için.....	32
Tablo 3.5	30°C’de inkübe edilen mikrolaka tasarımı - S3 ve S4 için.....	33
Tablo 3.6	40°C’de inkübe edilen mikrolaka tasarımı	35
Tablo 3.7	Yapılan gözlemler için kullanılan kodlama	36
Tablo 4.1	Bütün üremelerin negatif kontrol ile karşılaştırılmasına ait Dunn testi sonuçları	41
Tablo 4.2	Farklı glikoz konsantrasyonunun S2 suşunun biyofilm üretimine etkilerinin karşılaştırılmasına ait Dunn testi sonuçları.....	43
Tablo 4.3	Farklı glikoz konsantrasyonunun S3 suşunun biyofilm üretimine etkilerinin karşılaştırılmasına ait Tukey testi sonuçları.....	44
Tablo 4.4	Farklı glikoz konsantrasyonunun S4 suşunun biyofilm üretimine etkilerinin karşılaştırılmasına ait Dunn testi sonuçları.....	45
Tablo 4.5	S1 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları.....	47
Tablo 4.6	S2 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları.....	49
Tablo 4.7	S3 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları.....	50
Tablo 4.8	S4 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları.....	52
Tablo 4.9	Sefoksitin (+) suşların oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları	54
Tablo 4.10	Sefoksitin (-) suşların oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları	55
Tablo 4.11	Sefoksitin (+) ve (-) suşların oluşturduğu biyofilm üzerine sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları	57
Tablo 4.12	Levofloksasin R suşların oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları	59
Tablo 4.13	Levofloksasin R ve S suşların oluşturduğu biyofilm üzerine sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları	62
Tablo 4.14	<i>S. aureus</i> suşları için FD-13 bazında karşılaştırma.....	66
Tablo 4.15	<i>S. aureus</i> suşları için FD-11 bazında karşılaştırma.....	67
Tablo 4.16	<i>S. aureus</i> suşları için FD-14 bazında karşılaştırma.....	69
Tablo 4.17	<i>S. aureus</i> suşları için FD-5 bazında karşılaştırma.....	70
Tablo 4.18	<i>S. aureus</i> suşları için FD-23 bazında karşılaştırma.....	71
Tablo 4.19	<i>S. aureus</i> suşları için FD-17 bazında karşılaştırma.....	72

Tablo 4.20	<i>S. aureus</i> suşları için FD-15 bazında karşılaştırma.....	74
Tablo 4.21	Her bir <i>S. aureus</i> suşu için Pearson korelasyon katsayıları	75
Tablo 4.22	Sefoksitin direnci bazında Pearson korelasyon katsayıları.....	78
Tablo 4.23	Levofloksasin direnci bazında Pearson korelasyon katsayıları	80
Tablo 4.24	Tetrasiklin direnci bazında Pearson korelasyon katsayıları.....	81



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	: Yüzde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
°C	: Santigrat Derece
µL	: Mikrolitre
C ₂ H ₅ OH	: Etil Alkol
Cl ⁻	: Klorür İyonu
Da	: Dalton
g	: Gram
H ⁺	: Hidrojen İyonu
HCl	: Hidroklorik Asit
L	: Litre
M	: Molar
mL	: Mililitre
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
Nm	: Nanometre
p	: Probability (Olasılık)
w/v	: Ağırlık/Hacim
µm	: Mikrometre

Kısaltmalar

ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EPS	: Hücre Dışı Polimerik Maddeler
FD	: Faktöriyel Dizayn/Tasarım
GAM	: Genelleştirilmiş Aditif Model
HTS	: Yüksek Verimli Tarama
LB	: Luria-Bertani Broth
log	: Logaritma
log(Abs)	: Biyofilm Üretiminin Logaritması
LPS	: Lipaz
LR	: Levofloksasin Dirençli (Levofloksasin R)
LS	: Levofloksasin Duyarlı (Levofloksasin S)
MRSA	: Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: Metisilin duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
NB	: Nutrient Broth
NK	: Negatif Kontrol
OD	: Optik Yoğunluğu
P.	: <i>Pseudomonas</i>
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojen Gücü)
PK	: Pozitif Kontrol
QS	: Quorum Sensing (Quorum Algılama)
S.	: <i>Staphylococcus</i>
SFP	: Staphylococcal food poisoning
SN	: Sefoksitin (-)

SP	: Sefoksitin (+)
spp.	: Species (Tür)
TSB	: Tryptic Soy Broth



1. GİRİŞ

Gram pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* Bacilli sınıfı, Bacillales takımı Staphylococcaceae familyasında yer alan fırsatçı bir patojendir. Bulaşıcılığını insan ve hayvanlar üzerine kurmuş bu bakteri; insanların burun, boğaz ve derilerinde bulunur (Bergdoll ve Lee Wong, 2006). Birçok enfeksiyona sebep olan stafilokoklar zaman içerisinde antibiyotik direnci geliştirdikleri için tedavileri konusunda zorluklar yaşanmaktadır (Almasaudi vd., 2017).

1.1 *Staphylococcus aureus*'un Tarihçesi

S. aureus'un görüntülenmesi ilk olarak 1878 yılında Robert Koch tarafından ışık mikroskobu altında yapılmıştır. 1880 yılına gelindiğinde Louis Pasteur sıvı besiyeri kullanarak *Staphylococcus* üretmeyi başarmıştır. 1880 yılında İskoçyalı bir cerrah olan Alexander Ogston bir hastanın dizinde meydana gelen apseden stafilokokları izole edebilmiştir (Argaw ve Addis, 2015). Mikroskop altında görüntülenen bu bakteri, üzüm salkımına benzeyen görünümü dolayısıyla yunanca “üzüm salkımı” anlamına gelen *staphyle*, “taneli meyve” anlamına gelen *kokkos* kelimelerinin birleşimi olan *Staphylococcus* ismiyle kullanmıştır. 1884 yılına gelindiğinde Friedrich J. Rosenbach, *Staphylococcus*'ların 2 farklı türü olan *S. aureus* ve şimdiki ismi *Staphylococcus epidermidis* olan *Staphylococcus albus* bakterilerini izole etmeyi başarmıştır. Latince “aurum” altın, “albus” ise beyaz anlamına gelmektedir (Licitra, 2013).

S. aureus'un izole edildiği ilk yıllarda, enfekte olan hastaların %82'si hayatını kaybetmekteydi (Cihanoğlu, 2018; Oliveira vd., 2018). Alexander Fleming'in 1928'de penisilini keşfetmesinin ardından, bu antibiyotik yaygın olarak kullanılmaya başlanmış ve etkili bir tedavi yöntemi haline gelmiştir. Ancak, Kirby'nin 1944'te yaptığı çalışmalar, stafilokokların penisilinaz üreterek direnç geliştirdiğini ortaya koymuştur. 1940'lı yıllarda, penisiline dirençli hale gelen suşlar tanımlanmış ve bunların %25'inin hastane kaynaklı olduğu belirlenmiştir (Cihanoğlu, 2018; Oliveira vd., 2018).

1.2 *Staphylococcus aureus*'un Genel Özellikleri

Stafilokoklar, katalaz pozitif, sporsuz, hareketsiz ve 0,5-1,5 µm boyutlarında “Gram pozitif” koklardır. *Staphylococcus saccharolyticus* hariç, aerob veya fakültatif anaeroptur. 35-37°C’de, yaklaşık 18-24 saat inkübasyon sonrasında sarı, krem ve beyaz renkte S tipi koloniler oluştururlar. Kanlı agarda beta hemoliz yaparak altın sarısı renkte koloni meydana getirirler (Tünger, 2012).

1960’lı yıllardan günümüze, *S. aureus* izolasyonunda en yaygın kullanılan besiyeri Baird Parker agar olmuştur. Bu besiyeri, içerdiği lityum klorür ve suplement içindeki tellürit ile besiyerindeki diğer bakterileri baskımlarken, mikroorganizmaların gelişimini desteklemek için piruvat ve glisin içerir (Adams ve Moss, 2008).

S. aureus’u diğer türlerden ayıran temel özellikler ise termonükleaz üretimi, aerob ve anaerob koşullarda mannitol fermentasyonu ve koagülaz üretimidir (Gnanamani vd., 2017).

1.3 Biyofilm Nedir?

Biyofilm, canlı ve cansız yüzeylerde kolonize olan bir veya birden fazla mikroorganizma türünün oluşturduğu, hücre dışı polimerik maddeler (EPS) ile yüzeylere ve birbirlerine bağlanan karmaşık mikrobiyal ekosistemlerdir (Ferriol-González ve Domingo-Calap, 2020; Galié vd., 2018).

Yapılan araştırmalar, biyofilmlerin sadece yüzeye yapışmış mikroorganizma topluluklarından ibaret olmadığını göstermiştir. Aksine, biyofilmler, yapılarında bulunan hücre dışı polimerik madde (EPS) sayesinde birbirleriyle etkileşim kuran, büyümeyi destekleyen ve koordinasyon yeteneği sergileyen gelişmiş biyolojik sistemlerdir. Biyofilmler ayrıca gen transkripsiyonu düzeyinde ve dolayısıyla fenotipik olarak farklılıklar gösterirler (Donlan ve Costerton, 2002). Biyofilm tabakasının özellikleri, içerdiği mikroorganizma türlerine göre değişiklik gösterebilir. Örneğin, koloni içerisinde “Gram pozitif” bakterilerin baskın olduğu durumlarda katyonik matriksler, “Gram negatif” bakterilerin baskın olduğu durumlarda ise polianyonik veya nötral matriksler oluşabilir (Çiftçi vd., 2005).

1.3.1 Biyofilmin Yapısı

Biyofilm, mikroorganizmaların etrafında düzensiz bir şekilde dağılmış polisakkarit matriksten oluşan bir yapıdır. Bu polisakkarit matriks, hücre yüzeyine tutunarak ince şeritler ve hücre ağları şeklinde gözlemlenebilir (Leriche vd., 2000; Sutherland, 2001). Polisakkaritler uzun ve ince bir yapıya sahip olup; genellikle $0,5-2,0 \times 10^6$ Da (Dalton) moleküler ağırlığındadır. Biyofilmlerin büyük kısmı (%73-98) sudan oluşmaktadır (Donlan ve Costerton, 2002). Biyofilm tabakasının mikroskopik incelemelerinde heterojen bir yapı sergilediği ve bu yapının içinde oksijen ve besin taşınmasını sağlayan su kanallarının bulunduğu tespit edilmiştir (Flemming ve Wingender, 2010).

1.3.2 Biyofilmin Oluşum Mekanizmaları

Mikroorganizmalar, biyofilm oluşturacakları yüzeye çeşitli yollarla ulaşabilir ve bu süreç bir dizi zincirleme olaydan oluşur. Dış fırçalama, tıraş olma gibi günlük aktiviteler bakteriyemiye sebep olma potansiyeli taşısa da, sağlıklı bireylerin savunma mekanizmaları bu duruma karşı koyarak bakteriyemiye genellikle önler. Bununla birlikte, klinik ortamlarda veya hastanelerde vücuda yerleştirilen implantlar, kontakt lensler, kataterler gibi cihazlar, bakterilerin kolayca tutunabileceği yüzeyler sağlayarak enfeksiyon riskini artırabilir (Willke, 2016).

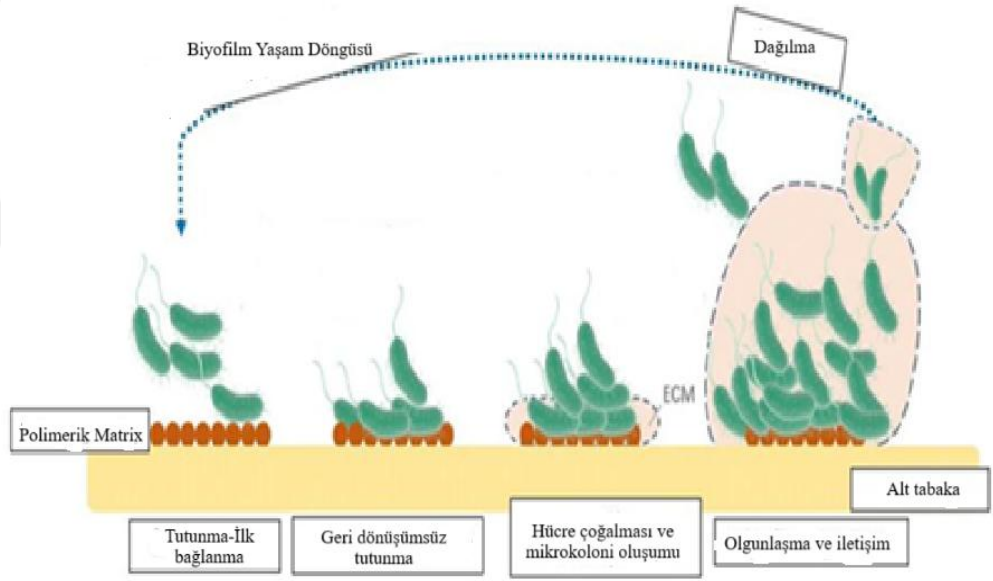
Biyofilm oluşumu, bakteriyel patojenler vasıtasıyla bir yüzey üzerinde beş farklı aşamada gerçekleşir (Kostakioti vd., 2013; Yin vd., 2019).

- 1) Tutunma (Adhezyon): Bakteriyel hücreler, *flagella* ve *fimbria* gibi uzantıları ve yüzeydeki van der Waals kuvvetleri gibi etkileşimler aracılığıyla biyotik veya abiyotik yüzeylere geri dönüşümlü olarak bağlanır (Guilbaud vd., 2017). Bu, biyofilm oluşumunun ilk evresidir.
- 2) Geri Dönüşümsüz Tutunma: İlk evrede yüzeye geri dönüşümlü olarak bağlanan hücreler LPS, ekzopolisakkarit, *flagella*, kollajen bağlayıcı yapışkan proteinler ve *pili* gibi yapıların yardımıyla kalıcı olarak tutunmaya başlar (Laverty vd., 2014).
- 3) Mikrokoloni Oluşumu: Geri dönüşümsüz olarak bağlanan bakteriler bu aşamada gelişmeye başlar. Salgılanan hücre dışı polimerik maddeler ve çoğalan çok katmanlı

hücreler sayesinde mikrokoloni daha organize bir yapıya kavuşur (Guilbaud vd., 2017; Laverty vd., 2014).

- 4) Olgunlaşma ve İletişim: Büyüyen ve olgunlaşan mikrokoloniler, ihtiyaç duydukları besinlere ulaşmak ve bu besinlerin koloni içinde iletimini sağlamak için iletişim kanalları oluşturur (Dufour vd., 2012).
- 5) Dağılma: Biyofilmin son aşamasında, çeşitli faktörler nedeniyle koloni birbirinden ayrılmaya ve ayrılan hücreler başka yüzeylerde kolonileşmek üzere dağılır (Laverty vd., 2014).

Bu süreç Şekil 1.1’de gösterilmiştir (Lu vd., 2019).



Şekil 1.1 Biyofilm oluşum döngüsü

1.3.3 Biyofilm ve *S. aureus* ilişkisi

1978’de Costerton’un çalışmalarıyla "biyofilm" terimi bilimsel literatüre kazandırılmıştır (Costerton ve Lewandowski, 1997). *S. aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakterilerle yapılan klinik çalışmalar, bu mikroorganizmaların tekli veya çoklu direnç geliştirme mekanizmalarından biri olarak biyofilm oluşturduğunu göstermiştir. Biyofilm içerisindeki bakteriler, planktonik (serbest yüzen) hücrelere kıyasla 10 ila 1.000 kat daha direnç sergileyebilirler. Biyofilm oluşumu, bakterilerin quorum sensing (QS) adı verilen bir mekanizma aracılığıyla çevresel sinyalleri (besin maddeleri gibi) algılayıp gen ekspresyonunu düzenlemesiyle gerçekleşir. Bu süreç, koloninin antibiyotikler ve diğer biyositler gibi antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazanmasına katkıda bulunur. Özellikle ESKAPE patojenleri (*Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* ve *Enterobacter* spp.) olarak adlandırılan ve yüksek mortaliteye neden olan bu bakterilerin oluşturduğu biyofilmlerin yapısının ve mekanizmalarının anlaşılması, araştırmaların odak noktası haline gelmiştir (Rabin vd., 2015; Yüksekdağ ve Baltacı, 2013).

Biyofilmlerin uzaklaştırılmasında yaygın olarak kullanılan dezenfektanlar ve antibiyotikler genellikle yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle, biyofilm eradikasyonunda bakteriyofaj (faj) bazlı tedaviler umut vadeden bir alternatif olarak değerlendirilmektedir (Ferriol-González ve Domingo-Calap, 2020). Bakteriyofajlar tarafından kodlanan endolizinler, biyofilm matriksi içerisine gömülü haldeki canlı veya canlı olmayan bakterileri lizise uğratarak biyofilm yapısını bozabilirler (Cha vd., 2019). Deneysel çalışmalar, fajların litik etkileri sayesinde biyofilm oluşumunu önleme ve mevcut biyofilmleri ortadan kaldırma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Giaouris ve Simões, 2018).

1.3.4 Biyofilm Oluşumunu Etkileyen Çevresel Faktörler

Biyofilm oluşumunu etkileyen pek çok neden vardır. Sıcaklık, su aktivitesi, pH, glikoz ve çeşitli çevresel koşullar biyofilm oluşumunu etkileyebilmektedir (Bezek vd., 2019; Moraes vd., 2018). Biyofilmin yapısı incelendiğinde aynı türden mikroorganizmaların farklı soyları arasında bile biyofilm oluşturma kapasiteleri açısından pek çok farklılık olduğu gözlemlenmiştir (López vd., 2010).

1.3.4.1 Sıcaklık ve pH

Bakteriyel biyofilm oluşumunun ilk evresi yüzeye tutunmadır. Bakterinin yüzey ile olan etkileşiminde hücre zarı yapısının da etkili olduğu düşünüldüğünde hücre zarının yapısını etkileyen faktörler aynı zamanda biyofilm oluşumunu da etkilemektedir (Satpathy vd., 2016). Yüksek sıcaklıklarda yaşamaya uyum sağlayan termofilik bakteriler mezofilik bakterilere oranla hücre zarlarında daha çok değişkenlik göstermektedir. Dolayısıyla bu durum bakterinin yüzeye tutunma ve biyofilm oluşturma kapasitesini etkilemektedir (Villanueva vd., 2011). Biyofilm gelişimi sırasında bakteri sıcaklık ve pH değişimlerinden etkilenir. Bu sebeple biyofilm oluşumunun başlayabilmesi için sıcaklık ve pH en önemli faktörlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır (Çam, 2021). Optimum sıcaklık mikroorganizma ve normal enzim aktivitelerini arttırdığı için daha fazla biyofilm oluşturma beklenebilir (Stepanović vd., 2003). Fakat farklı mikroorganizmalar üzerinde yapılan farklı çalışmalar sonucunda düşük sıcaklıklarda biyofilm üretiminin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (White-Ziegler vd., 2008; Townsley vd., 2015; Kim vd., 2020). Farklı pH seviyelerine (3, 5, 7, 9 ve 12) maruz bırakılan *Staphylococcus aureus* suşlarının biyofilm oluşturma seviyeleri test edilmiştir. Bazı suşlar düşük pH'ta, bazı suşlar alkalik ortamlarda daha iyi biyofilm oluşturmışlardır. Yüksek asidik (pH:3) ve alkali (pH:12) seviyelerde en düşük biyofilm oluşturma kapasitesi ölçülmüştür (Zmantar vd., 2010).

1.3.4.2 Hidrodinamik Koşullar

Biyofilm oluşumu üzerine çeşitli etkilere sahip hidrodinamik koşullar sıvı akış hızı, kesinti, akış düzeni gibi faktörleri içerir. Sıvı akış hızları bakterilerin biyofilm oluşumu üzerine olumlu ya da olumsuz etkiye sahip olabilir. Örneğin düşük akış hızı bakterinin yüzeye rahat bir şekilde bağlanmasına olanak sağlarken, yüksek akış hızı ise tutunmayı zorlaştırıp biyofilm oluşumunu azaltabilir. Bunun yanında akışın ani değişimleri de biyofilm üzerine olumlu ve olumsuz etki yapabilir. Mikroakışlar bakterinin tutunmasına olumlu etki ettiği için biyofilm oluşumunu hızlandırabilir (Gomes vd., 2021; Hançer Aydemir, 2018).

1.3.4.3 Yüzey Özellikleri

Biyofilmler titanyum, alüminyum, nitril kauçuk, ahşap, cam, teflon gibi malzemelerin yüzeyinde gelişebilir. Bu malzemelere yapışmada birçok etken rol oynar. Hidrofobik özellikler, zeminin dokusu, oluşan yüzey yükü gibi fizikokimyasal etkenler örnek gösterilebilir (Donlan ve Costerton, 2002). Fizikokimyasal bu etkenler çevresel faktörlere (sıcaklık, pH, besin maddeleri) göre değişebilir veya bu durumlardan etkilenebilir. Korozyona karşı direnci ve mekanik mukavemetinin iyi olmasından ötürü gıda işletmelerinde en yaygın kullanılan ekipman paslanmaz çeliktir. Fakat işletmelerde bu gibi ürünlerin dezenfekte edilmesinde yanlış uygulamalar yapılmaktadır. Mekanik temizlik sırasında yüzeyde kalan organik kalıntılar, küçük deformasyon ve kalıntılar bakterinin yüzeye kolay bir şekilde tutunmasına olanak sağlar (Wirtanen vd., 1996). Yine işletmelerde sıkça kullanılan ahşap malzeme emici özelliği ve gözenekli yapısı ile bakterilerin tutunmasına ve çoğalmasına olanak sağlar (Srey vd., 2013).

1.3.4.4 Besin Maddeleri

Besin maddeleri biyofilm oluşumu ve gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Örnek olarak NaCl ve glukoz konsantrasyonlarının belirli bir düzeye kadar artırılması biyofilm oluşumunu arttırmaktadır (Salgar-Chaparro vd., 2020). Elhariry (2008)'nin *Bacillus* türleriyle yaptığı çalışmada glikoz miktarının biyofilm oluşumundaki etkisi incelenmiştir. %1 ve %5 arasındaki glikoz konsantrasyonlarında biyofilm oluşumunun arttığı, %7 üzerindeki glikoz konsantrasyonlarının ise inhibe edici etki gösterdiği gözlemlenmiştir. İnhibe edici bu etki azalan su aktivitesine bağlanmıştır (Waldrop vd., 2014). Fakat sonraki aşamada EPS yapısı polisakkarit ağırlıkta olduğu için artan bu glikoz miktarı biyofilm oluşumunu destekler niteliktedir (Lim vd., 2004). Çalışmanın devamında %3'e kadar ortamdaki NaCl konsantrasyonu biyofilm oluşumunu artırırken, %3 ve üzerindeki artışlarda inhibe edici etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Elhariry, 2008). NaCl'nin yapısındaki Cl⁻ anyonu ile yüzeyde yer alan katyonların etkileşime geçmesinden dolayı başlangıç aşamasında olumlu etki görüldüğü öne sürülmektedir (Xu vd., 2010; Pan vd., 2010; Iliadis vd., 2018).

1.3.4.5 Diğer Mikroorganizmalar

Biyofilm oluşumu ve gelişimi için yüzeyde yer alan mikroorganizmaların rollerini iyi bilmek gerekir. Mikroorganizmalar biyofilmin karışık yapısı ve çeşitliliği üzerinde etkili olabilir. Öncesinde ortamda üreme ve gelişmeye başlamış bakterilerin hücre dışı DNA'sı, proteinleri ve enzimleri ortama yerleşmesi muhtemel diğer türleri engelleyebilir (Kartal vd., 2021; Song vd., 2015).

1.3.5 Biyofilm Oluşumunun Avantaj ve Dezavantajları

Canlı ve cansız yüzeylerde oluşturdıkları biyofilm dolayısıyla bakteriler birçok konuda avantajlı hale gelmektedirler. Biyofilm içerisindeki bakteriler planktonik bakterilere oranla ısı, pH, nem ve UV ışınlarında meydana gelen değişikliklerden daha az etkilenir. Biyofilm çok katmanlı yapısıyla besinleri konsantre ederek kolaylıkla atılmasını sağlar. Ayrıca biyofilm hücreler arası etkileşimi kolaylaştırıp bakterilerin kümeleşmesini sağlar. Bakteriyi konağın savunma mekanizmasına karşı koruyan biyofilmin yapısıdır.

Bu yapı EPS ile çevrelenmiş kümelerden oluşur. Bu büyüklükteki yapı fagositoz olamayacağından dolayı konağın bağışıklık sistemi tarafından yakalanamaz (Ceri vd., 1999; Wand vd., 2012). Biyofilm içerisindeki bakteriler zamanla fenotipik değişiklikler gösterip kendisini korumaya alır ve antibiyotiklere karşı direnç kazanırlar. Antibiyotikler hızlı bölünen bakteri kolonilerini hedef aldıkları için biyofilm matriksinin derinlerinde yavaş hareket edip bölünme hızlarını düşüren bakterilere karşı etkili olamamaktadır. Bu sebeple antibiyotikler yüzeydeki bakterilere ölümcül etki ederken, derinlerdeki bakteriler hayatta kalmaya devam ederler (Çiftçi vd., 2005).

Gıda kaynaklı enfeksiyonlar insan sağlığını tehdit etmektedir. Bu tehditlerin başında da biyofilm gelmektedir. Biyofilmler gıda endüstrisinde yüzeydeki kimyasal sürtünme oranını, sıvının sürtünme direncinin artmasına ve yüzeydeki ısının akışının gecikmesine sebebiyet vermesiyle ciddi sağlık sorunlarının ortaya çıkmasına neden olur (Costerton vd., 1999).

Birçok mikroorganizma uygun koşullar oluştuğunda gıda ve gıda ile temas yüzeylerde biyofilm oluşturur. Biyofilm, ısıнын yüzeydeki akışını geciktirerek ısı transfer verimliliğini azaltır. Su arıtma tesislerinde oluşan biyofilmi önlemek amacıyla yüksek klor konsantrasyonları kullanılmaktadır. Fakat bu önlem yetersiz kalabildiği gibi işletmelerde enerji tüketimini, ürün maliyetini arttırmaktadır (Shi, 2009). Bu tesislerde ekonomik yönden maliyetlerin azaltılması için tatlı su yerine deniz suyu kullanılmaktadır. Kullanılan deniz suyundan dolayı biyofilm tesislere kolaylıkla yerleşebilmektedir (Srey vd., 2013).

Su arıtma tesislerindeki kontaminasyon riski et işleme tesislerinde de mevcuttur. Kullanılan ekipmanların yüzeylerine tutunup kolonize olan bakteriler kolaylıkla ürünleri kontamine edebilirler (Srey vd., 2013).

Biyofilm yapısı sayesinde bakterileri dışardan gelebilecek tehditlere karşı korumaktadır. Bu koruma mekanizması zamanla bakteriyi dezenfektanlara karşı dirençli hale getirir. Bu durum sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Charlebois, 2017).

1.3.6 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında, klinik önemi giderek artan *Staphylococcus aureus*'un patojenitesindeki iki temel unsur olan antibiyotik direnci ve biyofilm oluşturma kapasitesi arasındaki ilişkiyi ve bu ilişkinin çevresel koşullar tarafından nasıl değiştiğini aydınlatmayı amaçlamaktadır. Çalışmada, önceden belirlenmiş ve birbirinden net olarak ayrılan antibiyotik direnç profillerine sahip *S. aureus* suşları seçilmiştir. Bu yaklaşımla, sadece dirençli ve duyarlı suşlar arasında değil, aynı zamanda farklı direnç mekanizmalarına sahip suşlar arasındaki biyofilm oluşturma potansiyelindeki nicel farklılıkların ortaya konulması hedeflenmiştir. Bakterilerin doğal enfeksiyon ortamında karşılaştığı fizyolojik koşulları taklit etmek amacıyla, biyofilm oluşumu üzerindeki çevresel baskıların etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmanın bir diğer boyutu ise, spesifik antibiyotik direncinin biyofilm kapasitesi üzerindeki potansiyel düzenleyici etkisini analiz etmektir. Bu doğrultuda, suşların Sefoksitin, Tetrasiklin ve Oksasilin (MRSA'nın fenotipik belirteçleri) ile geniş

spektrumlu bir florokinolon olan Levofloksasin'e karşı olan duyarlılık/direnç durumları, kantitatif biyofilm ölçüm sonuçlarıyla istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Bu sayede, belirli bir antibiyotiğe direnç gelişiminin, biyofilm oluşumunu artıran veya azaltan bir yan etkiye sahip olup olmadığına dair kanıtlar aranmıştır.



2. LİTERATÜR TARAMASI

Staphylococcus aureus dünya genelinde gıda kaynaklı birçok hastalığın ana nedeni olarak görülen ve en sık izole edilen fırsatçı bir patojendir. İnsanlar ve hayvanlar tarafından tüketilen gıdalardan kaynaklı enfeksiyonların ana kaynağıdır (Tabla vd., 2012). Sebep olduğu hastalıklardan olan pnömoni, menenjit, sepsis, mastit ve gıda zehirlenmeleri ile hem ekonomik kayıplara yol açarken, hemde yüksek ölüm oranlarına sebebiyet vermektedir (Matsuzaki vd., 2005). Et, süt, balık gibi birçok farklı gıda da hızlıca üreme yeteneğine sahip *S. aureus* yine bu ortamlardaki farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonlarına karşı sürekli direnç göstermesi onu tehlikeli bir patojen haline getirmiştir (Baptista vd., 2016). Tüm dünyada ekonomik ve sağlık yönünden birçok insanı etkileyen gıda zehirlenmeleri büyük sorun haline gelmiştir. Gıda tüketildikten sonra ortaya çıkan hastalık durumunu ifade etmek için gıda zehirlenmesi terimi kullanılmaktadır (Bhatia ve Zahoor, 2007). 250 farklı gıda zehirlenmesinin yaklaşık üçte ikilik etkeni bakterilerdir. Gıda zehirlenmelerinin en önemli faktörlerinden birisi enterotoksijenik *S. aureus* toksinleridir (Argaw ve Addis, 2015). Stafilocok enterotoksinlerini barındıran gıdaların tüketilmesinden dolayı ortaya çıkan duruma Stafilocokal gıda zehirlenmesi (Staphylococcal food poisoning, SFP) denir. Bu maddeleri barındıran gıdaların tüketilmesinden iki ila sekiz saat sonrasında diyare, kusma gibi birçok klinik semptom görülebilmektedir (Argudín vd., 2010).

Metisilin ve penisilin türevi antibiyotikler *S. aureus*'un tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanılan bu antibiyotikler bir süre sonra penisilin, metisilin, betalaktam grubu gibi birçok antibiyotiğe direnç kazanmıştır (Grema vd., 2015). 2015 yılında yayınlanan Avrupa verilerinde MRSA, 148.000'den fazla enfeksiyonun kaynağı olarak görülmüştür. Bu vakalardan 7.000'i ölümle sonuçlandığı ortaya konmuştur (Kakoullis vd., 2021).

S. aureus'un neden olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin bilinçsiz ve sık şekilde kullanılması insan ve hayvan sağlığı için risk oluşturmaktadır. MRSA üzerine yapılan birçok araştırmada gelişen antibiyotik direncine vurgu yapılmış, tıp ve veterinerlik alanlarında kullanılmak üzere yeni antibiyotiklere ihtiyaç

duyulduğu ortaya çıkmıştır. Son olarak MRSA'un varlığı ve MRSA'un gıdalar üzerindeki etkisinin araştırılmasına yönelik çalışmaların yeteriz kaldığı ortaya çıkmıştır (da Silva vd., 2020).

Abdallah vd. (2015) tarafından yapılan çalışmaya göre, sıcaklık *S. aureus* biyofilmleri üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Çalışma, 20°C, 30°C ve 37°C gibi test edilen sıcaklıklarda, 24 veya 48 saatlik inkübasyon sonrası *S. aureus* biyofilmlerinin nihai biyokütlesini (toplam biyofilm miktarını) büyüme sıcaklığının önemli ölçüde etkilediğine dair net bir kanıt bulunamamıştır; bakteri yoğunluğu farklı sıcaklıklarda benzer kalmıştır. Ancak, ekstraselüler matris (EPS) üretimi açısından farklılıklar gözlenmiştir: 24 saatlik biyofilmlerde, matristeki protein ve karbonhidrat bileşenlerinin miktarları büyüme sıcaklığından önemli ölçüde etkilenmemiştir. Buna karşılık, 48 saatlik biyofilmlerde, büyüme sıcaklığının 20°C'den 37°C'ye yükseltilmesi, toplam matris bileşenlerinin (proteinler ve karbonhidratlar) üretimini önemli ölçüde artırmıştır.

Ay vd. (2010) yaptığı çalışmada *S. aureus* biyofilmi ile ilişkili faktörler incelenmiştir. Çalışmada temel olarak, hidrofobik etkileşimler mikroorganizmaların yüzeylere tutunmasında ve biyofilm oluşturmada önemli rol oynadığı için, biyofilm üreten ve üretmeyen *S. aureus* klinik izolatlarının hidrofobiklik özellikleri karşılaştırılmıştır. Ayrıca, çalışma özellikle ortamın pH ve sıcaklığındaki değişikliklerin, yapılan biyofilm hidrofobiklik ölçümlerinin sonuçlarını nasıl etkilediğini de incelemiştir. Bu kapsamda, tüm ölçüm prosedürleri 4°C sıcaklıkta ve pH 6 ile 9 arasındaki farklı pH değerlerinde tekrarlanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, incelenen sıcaklık (4°C) ve pH aralığında (6-9) hidrofobiklik ölçüm sonuçlarının değişmediği gözlenmiş, ancak çok yüksek veya çok düşük ısılarda farklı sonuçlar alınabileceği öngörülmüştür. Bu çalışmaya göre biyofilm üreten *S. aureus* izolatlarının, üretmeyenlere göre daha hidrofobik olduğu gösterilmiştir.

Arar (2015), farklı *S. aureus* MSSA suşlarında bakteriyel biyofilm oluşumu için gerekli koşulları belirlemek amacıyla çeşitli parametreleri ve bunların spesifik düzeylerini incelemiştir. Bu çalışmada biyofilm oluşumu üzerine TSB besiyerinin farklı seyreltmelerinde test edilen pH değerleri (6,0; 7,0; 8,0; 9,0 ve 10,0); sıcaklık (37

°C ve 42 °C); tek karbon kaynağı olarak eklenen farklı karbon kaynakları (sükroz, mannitol, glikoz ve fruktoz); ve farklı tuz konsantrasyonları (0, 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0; 4,0 ve 8,0 mg/L) parametrelerinin etkileri gözlenmiştir. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre farklı MSSA suşları için optimal biyofilm oluşumunun genellikle alkali pH (pH 8) ve 37°C’de gerçekleştiğini, ancak karbon kaynağı ve tuz konsantrasyonu etkilerinin suşlar arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. MSSA suşlarından biri olan MSSA10 için mannitol ve tuz pozitif etki yaparken, MSSA20’de optimal koşullar tuzsuz ortamda, mannitol ile 42°C’de sağlanmıştır.

Nostro vd. (2012) tarafından yapılan çalışmaya göre, alkali pH, *S. aureus*’un biyofilm oluşumu üzerinde belirgin bir engelleyici etkiye sahiptir. Bu etki, özellikle biyofilm biyokütlesinde önemli bir azalma (örneğin, pH 7,2’ye kıyasla pH 8,5’te %84,8’e varan azalma) ve ilk tutunma aşamasında (yaklaşık %60 azalma) belirgin bir düşüşle gözlemlenmiştir. Alkali ortamda (pH 8,5) büyüyen hücrelerin yüzeylere yapışmak yerine besiyeri içinde hücre kümeleri oluşturduğu, dolayısıyla alkali pH’nın bakteriyel tutunmayı bozarak normal biyofilm gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Mikroskopi analizleri, alkali koşullarda oluşan biyofilmlerin yapısal olarak zayıf, daha az organize ve normal pH’da oluşanlara göre yaklaşık 2,5-3 kat daha ince olduğunu ortaya koymuştur; biyofilm gelişimi mikrokoloni aşamasında duraklamaktadır. Bu durumun potansiyel nedenleri arasında, alkali pH’nın hücre duvarındaki teikoik asitlerin D-alanilasyonunu azaltarak hücre yüzeyindeki negatif yükü artırması ve bu sayede yüzeyle bakteri arasında elektrostatik itmeye neden olarak ilk tutunmayı engellemesi gösterilmiştir. Ayrıca, alkali koşulların hücre yüzeyi hidrofobikliğini azalttığı ve bunun da yüzeylere tutunmayı zayıflattığı düşünülmüştür. Sonuç olarak, başlangıçtaki alkali pH, *S. aureus*’un yüzeylere yapışmasını engelleyip biyofilm olgunlaşmasını bozarak zayıf yapılı ve ince bir biyofilm oluşumuna yol açmaktadır; bu da alkali bazlı formülasyonların bakteri kolonizasyonunu kontrol etmede potansiyel bir yol olabileceğini ileri sürülmüştür.

Tango vd. (2018) tarafından yapılan çalışmaya göre, hem pH hem de NaCl konsantrasyonu *S. aureus* ATCC 13150 suşunun biyofilm oluşumunu önemli ölçüde etkilemektedir. Biyofilm oluşumu, *S. aureus* için optimal büyüme koşullarına yakın pH ve NaCl konsantrasyonu (su aktivitesi) değerlerinde belirgin şekilde daha

güçlüdür. pH açısından, optimal biyofilm oluşumu nötre yakın (6,76-6,81) değerlerde gözlenmiş, pH 4,0'ın altında ve 9,0'ın üzerindeki değerlerde ise çok zayıf biyofilm oluşumu tespit edilmiştir. Ayrıca biyofilm oluşumunun alt sınırı $pH \approx 3,8$ olarak belirtilmiştir. Yapılan çalışma su aktivitesi (a_w) açısından, optimal biyofilm oluşumu 0,98-0,97 aralığında bulunmuştur. Çalışma, %0,5'ten %20,0'a kadar değişen NaCl konsantrasyonlarını kullanarak yaptığı incelemede, yüksek NaCl yüzdelerinin hem bakteri üremesini, hem de biyofilm oluşumunu engellediğini göstermiştir. Bu bulgu, bazı önceki raporların NaCl eklenmesinin biyofilmi uyardığını belirtmesine rağmen, aşırı yüksek konsantrasyonların inhibitör olduğunu vurgulamaktadır. Genel olarak, *S. aureus* popülasyon büyümesi ile biyofilm oluşumu arasında net bir korelasyon bulunmuştur; düşük gecikme süresi, yüksek büyüme hızı ve yüksek maksimum popülasyon yoğunluğu gibi iyi büyüme koşulları, test edilen çevresel koşullardan bağımsız olarak, güçlü biyofilm oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Bu da optimal pH ve NaCl konsantrasyonunda (su aktivitesi) gözlenen daha güçlü biyofilmin, bu koşullardaki daha iyi bakteri büyümesiyle yakından ilişkili olduğunu göstermektedir.

Zmantar vd. (2010) tarafından yapılan çalışmaya göre, pH, *S. aureus*'un biyofilm oluşumunu önemli ölçüde etkilemektedir. Çalışmada, mikrotiter plak yöntemi kullanılarak pH 3, 5, 7, 9 ve 12 gibi çeşitli pH seviyelerinde biyofilm oluşturma kapasitesi değerlendirilmiştir. Kantitatif biyofilm üretimi ortamın pH değerine bağlılık göstermiştir. Nötr pH 7'de çoğu suş orta düzeyde yapışma gösterirken, bazıları yüksek, bazıları düşük düzeyde biyofilm oluşturmuş, bazıları ise negatif kalmıştır. Yüksek asidik koşul olan pH 3'te biyofilm oluşumu önemli ölçüde engellenmiş, tüm suşlar negatif sonuç vermiş ve bu durum pH 7'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0,05$). Hafif asidik pH 5'te, çoğu düşük dereceli biyofilm suşunda pH 7'ye göre bir azalma görülürken, bazı suşlarda ise biyofilm oluşumunda bir artış (indüksiyon) gözlenmiştir. Hafif alkali pH 9'da da benzer şekilde, birçok suşta azalma görülürken, birkaç suşta biyofilm oluşumunda artış saptanmıştır ve pH 7 ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Yüksek alkali koşul olan pH 12'de ise biyofilm oluşumu genellikle daha düşüktür ve çoğu suş negatiftir, ancak iki spesifik suşta önemli bir artış kaydedilmiştir; genel olarak pH 7'ye göre anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$). Bu sonuçlar, pH'nın bazı *S. aureus* suşlarını biyofilm üretmeye teşvik eden bir stres faktörü olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle pH 5 ve pH 12 gibi uç

değerlerde bazı suşlarda gözlenen biyofilm artışı, muhtemelen hücreler ile yüzey arasındaki elektrostatik itmenin zayıflamasıyla ilişkilidir ve pH'nın bakteriyel yüzey özelliklerini ve yapışmayı değiştiren önemli bir çevresel faktör olduğunu göstermektedir.

Voronkova vd. (2010) tarafından yapılan çalışmaya göre, ortamın pH'ı *S. aureus*'un biyofilm oluşumunu önemli ölçüde etkilemektedir. Çalışma, pH 4,0 ile 8,0 arasındaki değerlerin etkisini incelemiş ve biyofilm oluşum sürecinin pH faktörünün yoğunluğuna ve etki süresine bağlı olduğunu bulmuştur. Nötr pH olan 7,0, *S. aureus* biyofilmlerindeki hücre sayısında maksimum artışın gözlemlendiği ve biyofilm oluşumu için optimal koşul olarak belirlenmiştir; 72 saat sonunda bu pH'da maksimum hücre sayısı ($9,52 \pm 8,56 \log \text{CFU/mL}$) kaydedilmiştir. Hafif asidik (pH 6,0) ve hafif alkali (pH 8,0) koşullarda da biyofilm oluşumu gözlenmekle birlikte, büyüme hızları pH 7,0'a göre daha düşüktür (72 saatte pH 6,0'da 135 kat, pH 8,0'da 15 kat daha az hücre) ancak yine de pH 4,0 ve 5,0'a kıyasla daha yoğundur; bu nedenle pH 6,0 ve 8,0, optimal biyofilm oluşum bölgesi için sınır değerler olarak kabul edilmiştir. Buna karşılık, yüksek asidik koşullar olan pH 4,0 ve 5,0'da kültür büyüme yoğunluğu minimal düzeyde kalmış, 72 saat sonunda sadece ayrı biyofilm fragmanları tespit edilmiş ve hücre sayıları (yaklaşık $5 \log \text{CFU/mL}$) pH 7,0'daki seviyeden 13.000 kattan fazla daha düşük bulunmuştur. *S. aureus* suşlarının, özellikle nötr ortama göre pH 6,0 ve 8,0'da, ortam asitliğindeki değişikliklere *S. epidermidis*'e kıyasla belirgin şekilde daha fazla direnç gösterdiği belirtilmiştir. Stafilokokların asidik ve alkali dahil farklı pH değerlerinde biyofilm oluşturma yeteneği, aşırı gibi görünen asitlik değerlerinde bile biyofilm oluşumuna katkıda bulunan önemli bir fizyolojik metabolizma özelliği olarak değerlendirilmektedir. Bu direnç, güçlü hücre duvarlarına ve muhtemelen pH'nın etkisini azaltabilen ekstraselüler matris katmanına bağlanmaktadır.

Vaezi vd. (2020) tarafından yapılan çalışmaya göre, hem pH hem de NaCl konsantrasyonu *S. aureus* biyofilm oluşumu üzerinde önemli etkilere sahip olduğu ve bu faktörlerle biyofilm arasındaki ilişki doğrusal olmadığı gözlenmiştir. pH açısından, *S. aureus*'un biyofilm oluşturma yeteneği güçlü bir şekilde etkilenmiştir. En güçlü biyofilm oluşumu, bakteri büyümesi için de optimal olan nötre yakın pH aralığında,

yani 24 saatte pH 6,5, 48 saatte pH 6,5-7,5’de gerçekleşirken, çok asidik (pH 3) ve çok alkali (pH 12) seviyeler dşşk biyofilm oluşumuyla sonuçlanmıştır. Çalışmada ayrıca alkali pH’nın daha zayıf ve ince bir biyofilm yapısına yol açabileceği de belirtilmiştir. Benzer şekilde, NaCl konsantrasyonunun da biyofilmi etkilediği gözlenmiştir. Dşşk konsantrasyonlar biyofilm oluşumunu uyarırken, en yşksek biyofilm seviyeleri %5,5 (24 saat) ve %6 (48 saat) NaCl konsantrasyonlarında gözlenmiştir. Ancak, bu tepe konsantrasyonlarının şzerindeki, özellikle %6’yı aşan yşksek NaCl seviyeleri, biyofilm oluşumu şzerinde engelleyici bir etki göstermiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyaller

3.1.1 Mikroorganizmalar

Çalışmada direnç profilleri farklı olan 4 adet *Staphylococcus aureus* suşu kullanılmıştır ve bu suşlar S1, S2, S3 ve S4 olarak kodlanmıştır. Bu suşlardan S3 ve S4 olarak kodlanan iki bakteri metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), S1 ve S2 olarak kodlanan diğer iki bakteri ise metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA)'tur. Tüm bu suşların direnç profilleri Ekler bölümünde verilmiştir.

3.1.2 Nutrient Broth (NB)

Nutrient Broth (NB), çeşitli mikroorganizmaların üremesi ve gelişimi için uygun bir sıvı besiyeridir. Bu çalışmada, *S. aureus* suşlarının kültüre edilmesi amacıyla NB (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

3.1.3 Agar

Agar, özellikle gıda endüstrisinde ve mikrobiyoloji laboratuvarlarında yaygın olarak kullanılan, jelatinimsi bir polisakkarittir. Yüksek sıcaklıklarda eriyip soğudukça jelleşme özelliği sayesinde kıvam arttırıcı ve katılaştırıcı olarak kullanılır. Bu çalışmada, Nutrient Broth ile birlikte kullanılarak katı besiyeri elde edilmiştir.

3.1.4 LB Broth

LB Broth, zengin içeriği sayesinde bakterilerin hızlı ve yoğun bir şekilde üremesini destekleyen bir besiyeridir. Bu çalışmada, *S. aureus* suşları için optimum parametreleri belirlemek amacıyla LB Broth kullanılmıştır.

3.1.5 Glikoz

Bu çalışmada, *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimini desteklemek için glikoz (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

3.1.6 Plastik Petri Kapları

Steril plastik petri kapları, mikroorganizma kültürlerinin hazırlanması ve incelenmesi için kullanılan temel laboratuvar malzemeleridir. Bu çalışmada, *S. aureus* suşlarının farklı inkübasyon sürelerindeki kültürü için steril plastik petri kapları kullanılmıştır.

3.1.7 Otomatik Mikropipetler ve Uçları

Otomatik mikropipetler, belirli hacimlerdeki sıvıların hassas ve doğru bir şekilde aktarılmasını sağlayan laboratuvar cihazlarıdır. Bu çalışmada, 10 µL-100 µL (Microlit, Hindistan) ve 100 µL-1.000 µL (Microlit, Hindistan) aralığındaki farklı hacimlere sahip otomatik mikropipetler ve bunlara uygun steril pipet uçları kullanılmıştır.

3.1.8 Steril Eküvyon ve Özeler

Steril eküvyon (swab) ve özeler, mikroorganizma örneklerinin alınması, taşınması, yayılması ve inokülasyonu için kullanılan tek kullanımlık steril malzemelerdir. Bu çalışmada, bakteri suşlarının katı besiyerine ekimi, pasajlanması ve kültür hazırlanması işlemlerinde steril özeler (Microloop, Birleşik Krallık) ve steril eküvyon çubukları (LB Italiana) kullanılmıştır.

3.1.9 Distile Su

Distile su, iyonlarından ve diğer safsızlıklardan arındırılmış saf sudur. Laboratuvar uygulamalarında, reaktiflerin hazırlanması ve cam malzemelerin temizlenmesi gibi işlemlerinde kullanılır. Bu çalışmada, distile su (Human Corporation, Kore) laboratuvar ekipmanlarının temizlenmesi ve besiyeri hazırlanmasında kullanılmıştır.

3.1.10 Etil Alkol

Etil alkol (etanol, C_2H_5OH) (EtOH), antiseptik, dezenfektan, çözücü ve yakıt olarak yaygın olarak kullanılan, renksiz, uçucu ve yanıcı bir sıvıdır. Bu çalışmada, etil alkol (Merck, Almanya) dezenfektan ve kristal viyole ile boyanmış biyofilmden kristal viyolenin geri çözülerek optik yoğunluğunun ölçülmesi amacıyla aseton ile birlikte kullanılmıştır.

3.1.11 Parafilm

Parafilm, laboratuvar ortamında kullanılan, esnek, yarı saydam ve termoplastik bir filmidir. Petri kapları, şişeler ve diğer laboratuvar malzemelerinin ağzını kapatarak kontaminasyonu önler ve buharlaşmayı azaltır. Bu sayede, deneylerin güvenilirliği artırılır.

3.1.12 Alüminyum Folyo

Alüminyum folyo, laboratuvar malzemelerinin otoklavda sterilizasyonu sırasında paketlenmesinde kullanılan, ısıya dayanıklı bir malzemedir. Bu çalışmada, besiyeri ve pipet uçları gibi malzemelerin sterilizasyonunda alüminyum folyo kullanılmıştır.

3.1.13 Deney Tüpleri

Deney tüpleri, sıvıların karıştırılması, ısıtılması, inkübasyonu ve küçük hacimlerdeki reaksiyonların gerçekleştirilmesi için kullanılan silindirik cam veya plastik kaplardır. Bu çalışmada, deney tüpleri sıvı besiyerinde mikroorganizma üretimi için kullanılmıştır.

3.1.14 Falkon Tüpleri

Falkon tüpleri, santrifüjleme, saklama ve diğer laboratuvar uygulamaları için kullanılan konik tabanlı, kapaklı plastik tüplerdir. Bu çalışmada, steril falkon tüpleri (Corning, ABD) hazırlanan stok kültürlerin muhafazasında ve inokulum hazırlanmasında kullanılmıştır.

3.1.15 Mikroplakalar

Mikroplakalar, yüksek verimli tarama (HTS), ELISA ve hücre kültürü gibi birçok biyolojik ve kimyasal analizde kullanılan, çok sayıda küçük kuyucuk içeren plastik plakalardır. Bu çalışmada, *S. aureus* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitelerini değerlendirmek amacıyla U-tabanlı (Citotest, Çin) ve düz tabanlı (TPP, İsviçre) olmak üzere iki farklı tipte 96 kuyucuklu mikrolaka kullanılmıştır.

3.1.16 Kristal Viyole

Kristal viyole, mikrobiyolojide Gram boyama yöntemiyle bakterilerin sınıflandırılmasında kullanılan bir triarilmetan boyasıdır. Ayrıca, biyofilm analizlerinde biyofilmin kantitatif olarak belirlenmesinde de kullanılır. Bu çalışmada, mikrolaka kuyucuklarında oluşan biyofilmin tespitinde kristal viyole (Chembio, Türkiye) kullanılmıştır.

3.1.17 Serum Fizyolojik

Serum fizyolojik (%0,9 NaCl çözeltisi), insan vücuduyla izotonik olan steril bir tuzlu su çözeltisidir. Biyolojik araştırmalarda hücrelerin yıkanması, süspanse edilmesi ve dilüsyonu gibi çeşitli amaçlarla kullanılır. Bu çalışmada, serum fizyolojik (Polifarma, Türkiye) inokulum hazırlanmasında kullanılmıştır.

3.1.18 Aseton

Aseton (dimetil keton), polar aprotik bir çözücüdür. Bu çalışmada, kristal viyole ile boyanmış biyofilmden kristal viyolenin geri çözülerek optik yoğunluğunun ölçülmesi amacıyla EtOH ile birlikte kullanılmıştır.

3.1.19 Cam Şişeler

Cam şişeler, mikrobiyoloji laboratuvarlarında besiyeri hazırlama, sterilizasyon ve saklama gibi işlemlerde kullanılan, ısıya ve kimyasallara dayanıklı kaplardır. Bu çalışmada, farklı boyutlardaki cam şişeler (Labware, ABD) otoklavda sterilizasyon işlemlerinde kullanılmıştır.

3.2 Çalışma Esnasında Kullanılan Cihazlar

3.2.1 Hassas Terazi

Hassas teraziler, laboratuvar çalışmalarında kullanılan kimyasal maddelerin doğru ve hassas bir şekilde tartılmasını sağlayan cihazlardır. Bu çalışmada, Precisa (İsviçre) marka hassas terazi, besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.

3.2.2 Biyogüvenlik Kabini

Biyogüvenlik kabinleri, mikrobiyoloji laboratuvarlarında çalışan personeli, çevreyi ve deney örneklerini potansiyel olarak tehlikeli aerosoller ve damlacıklar yoluyla yayılan enfeksiyon riskine karşı koruyan, kontrollü hava akışı sağlayan cihazlardır. Bu çalışmada, Sınıf II tipi biyogüvenlik kabini (Heal Force, Çin) kullanılmıştır.

3.2.3 Distile Su Cihazı

Distile su cihazları, laboratuvar uygulamaları için saf suyu elde etmek amacıyla kullanılan cihazlardır. Bu cihaz yardımıyla sudaki mineraller, organik maddeler ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılarak yüksek kalitede su elde edilir. Bu çalışmada, Human Corporation (Kore) marka distile su cihazı kullanılmıştır.

3.2.4 Etüv (İnkübatör)

Etüvler (inkübatörler), belirli sıcaklık ve nem koşullarında mikroorganizma kültürlerinin veya diğer biyolojik örneklerin kontrollü bir şekilde inkübe edilmesini sağlayan cihazlardır. Bu çalışmada, *S. aureus* kültürlerinin farklı sıcaklıklarda inkübe edilmesi amacıyla etüv kullanılmıştır.

3.2.5 Otoklav

Otoklavlar, yüksek basınçlı doymuş buhar kullanarak laboratuvar malzemelerini ve atıklarını sterilize etmek için kullanılan cihazlardır. Yüksek sıcaklık ve basınç kombinasyonu, bakteriler, virüsler, mantarlar ve sporlar gibi patojen ajanların etkili bir şekilde öldürülmesini sağlar. Bu çalışmada, pipet ucu, besiyeri gibi birçok malzemenin sterilizasyonu için Daihan (Kore) marka otoklav cihazı kullanılmıştır.

3.2.6 McFarland Densitometresi

McFarland densitometreleri, sıvı süspansiyonlardaki bakteri hücrelerinin yoğunluğunu ölçmek için kullanılan cihazlardır. Antibiyogram çalışmaları ve diğer mikrobiyolojik testlerde standart inokulum hazırlamak için kullanılır. Bu cihazlar, ışığın süspansiyondan geçişini ölçerek hücre yoğunluğu hakkında bilgi verir. Genellikle 565 ± 15 nm dalga boyunda ölçüm yaparlar ve sonuçlar McFarland birimi olarak ifade edilir. Bu çalışmada, hazırlanan inokulumların 0,5 McFarland yoğunluğunda ayarlanması için Biosan Den 1-B (Litvanya) marka McFarland densitometresi kullanılmıştır.

3.2.7 İspirto Ocağı

İspirto ocakları, mikrobiyoloji laboratuvarlarında steril çalışma ortamı sağlamak ve kontaminasyonu önlemek amacıyla kullanılan küçük, taşınabilir ısı kaynaklarıdır. İspirto ocağı, bu tez çalışmasında besiyeri ekimi ve pasajlama işlemleri sırasında öze ucunun alevde tutularak sterilize edilmesini sağlamak amacıyla kullanılmıştır.

3.2.8 Mikroplaka Okuyucu

Mikroplaka okuyucular, mikroplakalardaki kuyucuklarda bulunan örneklerin optik yoğunluğunu (OD), floresansını veya lüminesansını ölçerek kantitatif analizler yapılmasına olanak tanıyan cihazlardır. Enzim immünoassay (ELISA), hücre canlılığı testleri, protein tayini ve mikrobiyal büyüme gibi çeşitli uygulamalarda kullanılırlar. Bu çalışmada, *S. aureus* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitelerinin değerlendirilmesi amacıyla farklı sıcaklık, pH ve glikoz konsantrasyonlarına maruz bırakılan kuyucuklardaki optik yoğunluk değerlerini ölçmek için EPOCH 2 BIO TEK marka mikroplaka okuyucu kullanılmıştır.

3.2.9 Buzdolabı ve Derin Dondurucular

Buzdolapları ve derin dondurucular, laboratuvar malzemelerinin, reaktiflerin ve biyolojik örneklerin uygun sıcaklıkta saklanması sağlayan cihazlardır. Düşük sıcaklıklar, mikroorganizmaların büyümesini yavaşlatır ve enzim aktivitesini inhibe ederek örneklerin stabilitesini korur. Bu çalışmada, buzdolabı ve derin dondurucular (Vestel, Türkiye) plakalara ekimi yapılmış bakterilerin büyüme hızını yavaşlatmak ve sıvı besiyerlerinde canlandırılan bakterilerin gliserol ile birlikte uzun süreli muhafazası için kullanılmıştır.

3.2.10 pH Metre

pH metreler, bir çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini ölçmek için kullanılan elektronik cihazlardır. Elektrot adı verilen bir sensör aracılığıyla çözeltideki hidrojen iyonu (H^+) konsantrasyonunu belirleyerek pH değerini sayısal olarak gösterirler. Bu cihazlar, kimyasal reaksiyonların optimizasyonu, enzim aktivitesi çalışmaları ve mikrobiyolojik deneyler gibi birçok laboratuvar uygulamasında kullanılırlar. Bu çalışmada, bakteri kültürleri için hazırlanan farklı pH değerlerine sahip tamponların pH'larının ayarlanması için Thermo Orion Series (Singapur) marka pH metre kullanılmıştır.

3.2.11 Vorteks Cihazı

Vorteks cihazları, laboratuvarlarda kullanılan sıvı örneklerin hızlı ve homojen bir şekilde karıştırılmasını sağlayan cihazlardır. Santrifüj tüpleri, deney tüpleri veya mikroplakalar gibi küçük hacimlerdeki sıvıların karıştırılması için idealdirler. Bu cihazlar, hücre süspansiyonlarının hazırlanması, reaktiflerin karıştırılması ve çözeltilerin homojenleştirilmesi gibi çeşitli uygulamalarda kullanılırlar. Bu çalışmada, Xh-c Vorteks (USA) marka vorteks cihazı, sıvı örneklerin homojen bir şekilde karıştırılması için kullanılmıştır.

3.3 Yöntem

3.3.1 Besiyerlerinin Hazırlanması

Aşağıda, bu çalışmada kullanılan besiyerlerinin hazırlanma yöntemleri ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Besiyerlerinin hazırlanmasında distile su kullanılmıştır.

3.3.1.1 Nutrient broth (NB)

Nutrient Broth (NB) sıvı besiyeri, üretici firmanın (Merck, Almanya) talimatları doğrultusunda hazırlanmıştır. Bir litre distile suya 8 gram NB olacak şekilde toz besiyeri eklenmiş ve homojen olana kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan besiyeri, 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir.

3.3.1.2 Nutrient agar

Nutrient Agar katı besiyeri, bir litre distile suya 8 gram NB olacak şekilde toz besiyeri eklenmiş ve %1,5 (w/v) agar eklenerek hazırlanmıştır. Karışım homojen olana kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan besiyeri, 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra, steril plastik petri kaplarına aseptik koşullarda dökülmüş ve biyogüvenlik kabininde soğuyup katılaşması için bekletilmiştir.

3.3.1.3 LB-broth

LB Broth sıvı besiyeri, üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlanmıştır. Bir litre hacim için 25 gram LB Broth olacak şekilde toz besiyeri eklenmiş ve homojen olana kadar karıştırılmıştır. LB Broth besiyeri üç ayrı pH’a sahip olacak şekilde, aşağıda açıklanan tampon çözeltiler kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri, 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir.

3.3.2 Diğer Çözeltilerin Hazırlanması

Aşağıda, bu çalışmada kullanılan diğer çözeltilerin hazırlanma yöntemleri ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Tüm kimyasallar analitik saflıkta olup, çözeltilerin hazırlanmasında distile su kullanılmıştır. Bu aşamada elde edilen üç farklı pH'a sahip tampon besiyerlerinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

3.3.2.1 Sitrik asit

0,1 M sitrik asit çözeltisi hazırlamak için 21,01 g sitrik asit monohidrat tartılır, bir miktar distile su içinde çözdükten sonra hacim distile su ile 1 L'ye tamamlanır. Bu çalışmada 400 mL çözelti gerektiğinden 8,44 g sitrik asit monohidrat tartılmış ve distile su içerisinde manyetik karıştırıcıda homojen olana kadar karıştırılmıştır.

3.3.2.2 Disodyum hidrojen fosfat

0,2 M disodyum hidrojen fosfat çözeltisi hazırlamak için 28,4 g disodyum hidrojen fosfat (anhydrous) tartılır, bir miktar distile su içinde çözdükten sonra hacim distile su ile 1 L'ye tamamlanır. Bu çalışmada 400 mL çözelti gerektiğinden 11,36 g disodyum hidrojen fosfat (anhydrous) tartılmış ve distile su içerisinde manyetik karıştırıcıda homojen olana kadar karıştırılmıştır.

3.3.2.3 McIlvaine tamponunun (pH = 5) hazırlanması

McIlvaine tampon çözeltisi (pH = 5) hazırlamak için, yukarıda hazırlanan sitrik asit ve disodyum hidrojen fosfat çözeltileri kullanılmıştır. 97 mL sitrik asit çözeltisi ve 103 mL disodyum hidrojen fosfat çözeltisi bir kapta karıştırılmıştır. Daha sonra, pH metre kullanılarak tampon çözeltinin pH'ı ölçülmüştür. Eğer pH değeri istenilen aralığın üzerinde ise çözeltiye HCl eklenerek pH düşürülmüş, eğer pH değeri istenilen aralığın altında ise NaOH eklenerek pH yükseltilmiştir.

3.3.2.4 McIlvaine tamponunun (pH = 7) hazırlanması

McIlvaine tampon çözeltisi (pH = 7) hazırlamak için, yukarıda hazırlanan sitrik asit ve disodyum hidrojen fosfat çözeltileri kullanılmıştır. 35,3 mL sitrik asit çözeltisi ve 164,7 mL disodyum hidrojen fosfat çözeltisi bir kapta karıştırılmıştır. Daha sonra, pH metre kullanılarak tampon çözeltinin pH'ı ölçülmüştür. Eğer pH değeri istenilen aralığın üzerinde ise çözeltiye HCl eklenerek pH düşürülmüş, eğer pH değeri istenilen aralığın altında ise NaOH eklenerek pH yükseltilmiştir.

3.3.2.5 Tris - HCl tamponunun (pH = 9) hazırlanması

Tris - HCl tampon çözeltisi (pH = 7) hazırlamak için, 200 mL distile su içerisine 2,423 g Tris-base (Tris(hidroksimetil)aminometan) ve 193 µL hidroklorik asit (HCl) eklenmiştir. Daha sonra, pH metre kullanılarak tampon çözeltinin pH'ı ölçülmüştür. Eğer pH değeri istenilen aralığın üzerinde ise çözeltiye HCl eklenerek pH düşürülmüş, eğer pH değeri istenilen aralığın altında ise NaOH eklenerek pH yükseltilmiştir.

3.3.3 En İdeal Glikoz Konsantrasyonunun Bulunması

Bu çalışmada, seçilen bakteri suşlarının en iyi biyofilm oluşturduğu glikoz konsantrasyonunu belirlemek amacıyla farklı glikoz konsantrasyonları (%0; %0,5; %1; %1,5; %2 ve %2,5) içeren deneyler gerçekleştirilmiştir. Deneylerde kullanılan mikrolaka tasarımları Tablo 3.1 ve Tablo 3.2'de sunulmuştur.

Her bir bakteri suşu için, belirtilen glikoz konsantrasyonlarının her biri toplamda altı tekrar olacak şekilde uygulanmıştır. Mikrolaka tasarımlarında kullanılan S1, S2, S3 ve S4 kodları farklı *S. aureus* suşlarını temsil etmekte, yanında yazılan rakam ise kuyucuğun içerdiği glikoz konsantrasyonunu göstermektedir. Yanında herhangi bir rakam bulunmayan suş kodları bu kuyucuklarda ekstra glikoz bulunmadığını, sadece rakam içeren kuyucuklar ise bu kuyucuklara bakteri konulmadığını göstermektedir.

Tablo 3.1 En iyi glikoz konsantrasyonunu belirlemek için yapılan mikrolaka tasarımı - 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1-0	S1-0	S1-0	S2-0	S2-0	S2-0	S3-0	S3-0	S3-0	S4-0	S4-0	S4-0
B	S1-0,5	S1-0,5	S1-0,5	S2-0,5	S2-0,5	S2-0,5	S3-0,5	S3-0,5	S3-0,5	S4-0,5	S4-0,5	S4-0,5
C	S1-1	S1-1	S1-1	S2-1	S2-1	S2-1	S3-1	S3-1	S3-1	S4-1	S4-1	S4-1
D	S1-1,5	S1-1,5	S1-1,5	S2-1,5	S2-1,5	S2-1,5	S3-1,5	S3-1,5	S3-1,5	S4-1,5	S4-1,5	S4-1,5
E	S1-2	S1-2	S1-2	S2-2	S2-2	S2-2	S3-2	S3-2	S3-2	S4-2	S4-2	S4-2
F	S1-2,5	S1-2,5	S1-2,5	S2-2,5	S2-2,5	S2-2,5	S3-2,5	S3-2,5	S3-2,5	S4-2,5	S4-2,5	S4-2,5
G	S1	S1	S1	S2	S2	S2	S3	S3	S3	S4	S4	S4
H	S1	S1	S1	S2	S2	S2	S3	S3	S3	S4	S4	S4

Tablo 3.2 En iyi glikoz konsantrasyonunu belirlemek için yapılan mikropilaka tasarımı - 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1-0	S1-0	S1-0	S2-0	S2-0	S2-0	S3-0	S3-0	S3-0	S4-0	S4-0	S4-0
B	S1-0,5	S1-0,5	S1-0,5	S2-0,5	S2-0,5	S2-0,5	S3-0,5	S3-0,5	S3-0,5	S4-0,5	S4-0,5	S4-0,5
C	S1-1	S1-1	S1-1	S2-1	S2-1	S2-1	S3-1	S3-1	S3-1	S4-1	S4-1	S4-1
D	S1-1,5	S1-1,5	S1-1,5	S2-1,5	S2-1,5	S2-1,5	S3-1,5	S3-1,5	S3-1,5	S4-1,5	S4-1,5	S4-1,5
E	S1-2	S1-2	S1-2	S2-2	S2-2	S2-2	S3-2	S3-2	S3-2	S4-2	S4-2	S4-2
F	S1-2,5	S1-2,5	S1-2,5	S2-2,5	S2-2,5	S2-2,5	S3-2,5	S3-2,5	S3-2,5	S4-2,5	S4-2,5	S4-2,5
G	0	0,5	1	1,5	2	2,5	0	0,5	1	1,5	2	2,5
H	0	0,5	1	1,5	2	2,5	0	0,5	1	1,5	2	2,5

Tablo 3.1’de sunulan mikrolaka tasarımı, A-F satırları farklı *S. aureus* suşlarının farklı glikoz konsantrasyonlarında oluşturduğu biyofilm miktarını gözlemlemek için, G ve H satırları ise kontrol grupları olarak kullanılmıştır. Kontrol kuyucuklarına glikoz eklenmemiş, sadece bakteri ve besiyeri içeren ortamlar yerleştirilmiştir. Bu sayede, bakterilerin glikozsuz ortamda ürettiği biyofilm miktarının belirlenmesi ve diğer konsantrasyonlardaki biyofilm oluşumu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Tablo 3.2’deki mikrolaka tasarımı ise, A-F satırları Tablo 3.1’deki mikrolakada elde edilen gözlemlerin replikalarını içermektedir. Bu mikrolakanın G ve H satırları ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Bu kuyucuklara sadece farklı glikoz konsantrasyonlarını içeren besiyerleri konulmuştur ve kuyucuklara bakteri eklenmemiştir. Bu sayede, farklı glikoz konsantrasyonlarının doğrudan optik yoğunluk ölçümlerini etkileyip etkilemediği kontrol edilerek, biyofilm oluşumuna bağlı olmayan herhangi bir gözlem etkisinin ortadan kaldırılması hedeflenmiştir. Böylelikle, glikozun doğrudan optik yoğunluk değerlerine etkisi varsa, bu etki deney sonuçlarından çıkarılarak daha doğru sonuçlar elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu çift kontrol mekanizması sayesinde, elde edilen sonuçların güvenilirliği artırılmıştır.

3.3.4 Biyofilm Oluşumuna Etki Eden Parametrelerin Denenmesi

Bu çalışmada, *S. aureus* suşlarının biyofilm oluşumu üzerine sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonunun etkileri incelenmiştir. Her bir faktör için üç farklı seviye belirlenmiştir. Bu seviyeler literatürde *S. aureus* için verilmiş olan limitler göz önüne alınarak pH için 5,0; 7,0 ve 9,0; NaCl konsantrasyonu için %2, %6 ve %10 ve sıcaklık için 20°C, 30°C ve 40°C şeklinde seçilmiştir.

Deneyler sırasında, bir faktörün biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi değerlendirilirken diğer iki parametre orta seviyede (sıcaklık 30°C; pH 7,0 ve NaCl %6) sabit tutulmuştur. Bu yaklaşım, incelenen faktörün etkisinin diğer değişkenlerden bağımsız olarak değerlendirilmesini sağlamıştır.

Tablo 3.3 20°C’de inkübe edilen mikroplaka tasarımı

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1 FD-13	S2 FD-13	S3 FD-13	S4 FD-13								
B	S1 FD-13	S2 FD-13	S3 FD-13	S4 FD-13								
C	S1 FD-13	S2 FD-13	S3 FD-13	S4 FD-13								
D	S1 FD-13	S2 FD-13	S3 FD-13	S4 FD-13								
E	S1 FD-13	S2 FD-13	S3 FD-13	S4 FD-13								
F	S1 FD-13	S2 FD-13	S3 FD-13	S4 FD-13								
G												
H												

* Bütün kuyucuklarda pH = 7,0 ve NaCl konsantrasyonu %6’dır.

Tablo 3.3’de 20°C’de inkübe edilen mikropilaka tasarımı verilmiştir. Bu mikropilakada, sıcaklık faktörünün en düşük seviyesinin biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu durumda, pH değeri 7,0’da ve NaCl konsantrasyonu %6’da sabit tutulmuştur. Bu koşullar altında, sadece düşük sıcaklığın etkisi değerlendirilmiştir.

Çalışmalar, her bir suş için altı tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Mikropilakalarda, S1, S2, S3 ve S4 olarak adlandırılan farklı *S. aureus* inokulumları sırasıyla 1, 2, 3 ve 4 numaralı sütunlara aktarılmıştır.

Bu çalışmada, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkileri ayrı ayrı incelenirken, bir faktörün etkisi değerlendirilirken diğer faktörler sabit tutulmuştur. Tablo 3.4’te sunulan mikropilaka tasarımı, sıcaklık faktörünün orta seviyesi olan 30°C’de gerçekleştirilen deneyler için kullanılmıştır. Bu mikropilakada, sıcaklık sabit tutulduğu için diğer faktörlerin (pH ve NaCl konsantrasyonu) *S. aureus* suşlarının biyofilm oluşumu üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Mikropilaka, farklı pH ve NaCl kombinasyonlarını içeren beş farklı sütuna ayrılmıştır:

- 1. Sütun: pH 5,0 ve %6 NaCl
- 2. Sütun: pH 7,0 ve %6 NaCl
- 3. Sütun: pH 7,0 ve %2 NaCl
- 4. Sütun: pH 7,0 ve %10 NaCl
- 5. Sütun: pH 9,0 ve %6 NaCl

1, 2, 3, 4 ve 5 numaralı sütunların tamamına S1 suşuna ait inokulum transfer edilmiştir. Bu sütunlar, farklı pH ve NaCl kombinasyonlarının S1 suşunun biyofilm oluşturma yeteneği üzerindeki etkisini belirlemek için tasarlanmıştır.

Tablo 3.4 30°C’de inkübe edilen mikroplaka tasarımı - S1 ve S2 için

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1 FD-11	S1 FD-14	S1 FD-5	S1 FD-23	S1 FD-17		S2 FD-11	S2 FD-14	S2 FD-5	S2 FD-23	S2 FD-17	
B	S1 FD-11	S1 FD-14	S1 FD-5	S1 FD-23	S1 FD-17		S2 FD-11	S2 FD-14	S2 FD-5	S2 FD-23	S2 FD-17	
C	S1 FD-11	S1 FD-14	S1 FD-5	S1 FD-23	S1 FD-17		S2 FD-11	S2 FD-14	S2 FD-5	S2 FD-23	S2 FD-17	
D	S1 FD-11	S1 FD-14	S1 FD-5	S1 FD-23	S1 FD-17		S2 FD-11	S2 FD-14	S2 FD-5	S2 FD-23	S2 FD-17	
E	S1 FD-11	S1 FD-14	S1 FD-5	S1 FD-23	S1 FD-17		S2 FD-11	S2 FD-14	S2 FD-5	S2 FD-23	S2 FD-17	
F	S1 FD-11	S1 FD-14	S1 FD-5	S1 FD-23	S1 FD-17		S2 FD-11	S2 FD-14	S2 FD-5	S2 FD-23	S2 FD-17	
G												
H												
	pH 5,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %2	pH 7,0 NaCl %10	pH 9,0 NaCl %6		pH 5,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %2	pH 7,0 NaCl %10	pH 9,0 NaCl %6	

Tablo 3.5 30°C’de inkübe edilen mikroplaka tasarımı - S3 ve S4 için

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S3 FD-11	S3 FD-14	S3 FD-5	S3 FD-23	S3 FD-17		S4 FD-11	S4 FD-14	S4 FD-5	S4 FD-23	S4 FD-17	
B	S3 FD-11	S3 FD-14	S3 FD-5	S3 FD-23	S3 FD-17		S4 FD-11	S4 FD-14	S4 FD-5	S4 FD-23	S4 FD-17	
C	S3 FD-11	S3 FD-14	S3 FD-5	S3 FD-23	S3 FD-17		S4 FD-11	S4 FD-14	S4 FD-5	S4 FD-23	S4 FD-17	
D	S3 FD-11	S3 FD-14	S3 FD-5	S3 FD-23	S3 FD-17		S4 FD-11	S4 FD-14	S4 FD-5	S4 FD-23	S4 FD-17	
E	S3 FD-11	S3 FD-14	S3 FD-5	S3 FD-23	S3 FD-17		S4 FD-11	S4 FD-14	S4 FD-5	S4 FD-23	S4 FD-17	
F	S3 FD-11	S3 FD-14	S3 FD-5	S3 FD-23	S3 FD-17		S4 FD-11	S4 FD-14	S4 FD-5	S4 FD-23	S4 FD-17	
G												
H												
	pH 5,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %2	pH 7,0 NaCl %10	pH 9,0 NaCl %6		pH 5,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %6	pH 7,0 NaCl %2	pH 7,0 NaCl %10	pH 9,0 NaCl %6	

Aynı şekilde, 7, 8, 9, 10 ve 11 numaralı sütunlar da yukarıdaki gibi farklı pH ve NaCl kombinasyonlarını içerecek şekilde hazırlanmış ve bu kuyucuklara S2 suşuna ait inokulum transfer edilmiştir.

Bu mikrolaka tasarımının aynısı bir set daha hazırlanmış, bu ikinci sette 1-5 numaralı sütunlara S3 suşuna ait inokulum ve 7-11 numaralı sütunlara ise S4 suşuna ait inokulum transfer edilmiştir (Tablo 3.5).

Tablo 3.6’da 40°C’de inkübe edilen mikrolaka tasarımı verilmiştir. Bu mikrolakada, sıcaklık faktörünün en düşük seviyesinin biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu durumda, pH değeri 7,0’da ve NaCl konsantrasyonu %6’da sabit tutulmuştur. Bu koşullar altında, sadece düşük sıcaklığın etkisi değerlendirilmiştir.

Çalışmalar, her bir suş için altı tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Mikrolakalarda, S1, S2, S3 ve S4 olarak adlandırılan farklı *S. aureus* inokulumları sırasıyla 1, 2, 3 ve 4 numaralı sütunlara aktarılmıştır.

Tablo 3.6 40°C’de inkübe edilen mikroplaka tasarımı

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S1 FD-15	S2 FD-15	S3 FD-15	S4 FD-15								
B	S1 FD-15	S2 FD-15	S3 FD-15	S4 FD-15								
C	S1 FD-15	S2 FD-15	S3 FD-15	S4 FD-15								
D	S1 FD-15	S2 FD-15	S3 FD-15	S4 FD-15								
E	S1 FD-15	S2 FD-15	S3 FD-15	S4 FD-15								
F	S1 FD-15	S2 FD-15	S3 FD-15	S4 FD-15								
G												
H												

* Bütün kuyucuklarda pH = 7,0 ve NaCl konsantrasyonu %6’dır.

Yapılan gözlemler için kullanılan kodlama Tablo 3.7’de verilmiştir.

Tablo 3.7 Yapılan gözlemler için kullanılan kodlama

Kod	Sıcaklık (°C)	pH	NaCl (%)
FD-5	30	5,0	2
FD-11	30	5,0	6
FD-13	20	7,0	6
FD-14	30	7,0	6
FD-15	40	7,0	6
FD-17	30	9,0	6
FD-23	30	7,0	10

3.3.5 İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri R Studio 2024.12.1 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir. Uygulanan istatistiksel testler ve amaçları aşağıda verilmiştir.

Aykırı Değer Analizi (Outlier Analysis): Veri setindeki diğer gözlemlerden önemli ölçüde farklılık gösteren aşırı veya aykırı değerleri belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu değerlerin analiz sonuçları üzerindeki potansiyel etkileri değerlendirilmiş ve gerekli durumlarda uygun yöntemlerle ele alınmıştır.

Shapiro-Wilk Normalite Testi: Gruplardaki verilerin veya parametrik testler için model kalıntılarının normal dağılıma uygunluğunu test etmek amacıyla kullanılmıştır. Normal dağılım varsayımı, ANOVA gibi parametrik testlerin geçerliliği için önemli bir ön koşuldur.

Bartlett Varyans Homojenite Testi: ANOVA gibi parametrik testlerin bir diğer önemli varsayımı olan grup varyanslarının eşit (homojen) olup olmadığını kontrol etmek amacıyla uygulanmıştır. Bu test, gruplar arası karşılaştırmaların güvenilirliği için varyansların benzer olmasını gerektiren durumlarda kullanılmıştır.

Varyans Analizi (ANOVA): Normal dağılım ve varyans homojenliği varsayımlarının sağlandığı durumlarda, bağımsız gözlemlerin ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Kruskal-Wallis Testi: Normal dağılım veya varyans homojenliği varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda, ANOVA'nın non-parametrik alternatifi olarak kullanılmıştır. Bağımsız gözlemlerin medyanları veya genel dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını test etmek amacıyla uygulanmıştır.

Dunn Testi: Kruskal-Wallis testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğunda, bu farkın hangi spesifik gruplar arasında olduğunu belirlemek için kullanılan bir çoklu karşılaştırma (post-hoc) testidir. Grupların ikili karşılaştırmalarını yaparak farklılığın kaynağını ortaya koymaktadır.

Tukey Testi (Tukey HSD): ANOVA testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandığında, hangi grup ortalamalarının birbirinden istatistiksel olarak farklı olduğunu belirlemek amacıyla kullanılan bir çoklu karşılaştırma (post-hoc) testidir. Tüm olası grup çiftlerini karşılaştırır.

Korelasyon Analizi: İki sürekli değişken arasındaki doğrusal ilişkinin yönünü (pozitif veya negatif) ve gücünü (kuvvetli, orta, zayıf) belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bunun için Pearson korelasyon katsayısı yöntemi tercih edilmiştir.

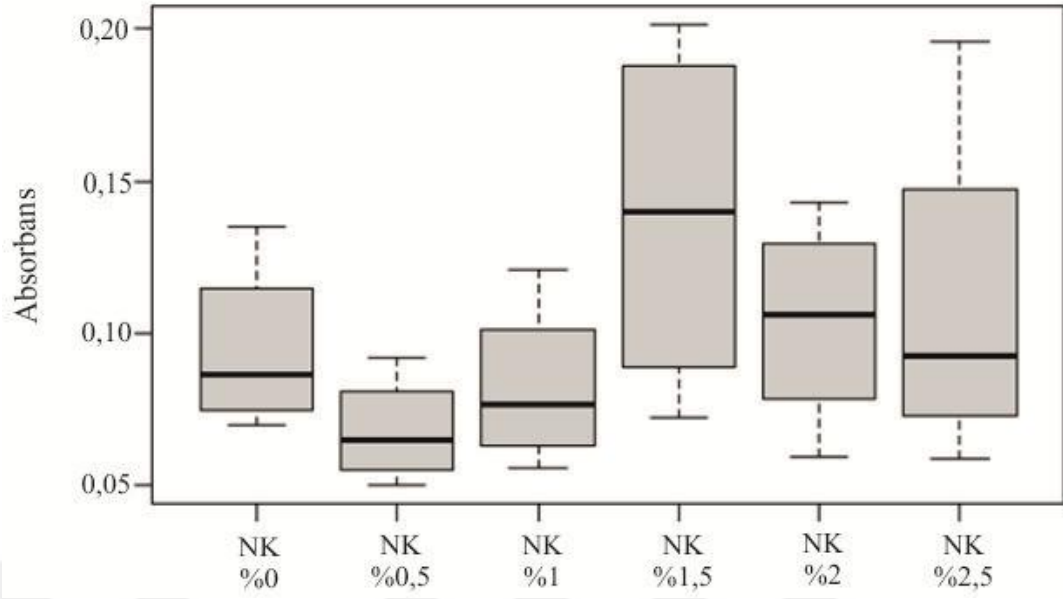
Regresyon Modelleri: Çalışmada, bağımsız değişkenlerin, bağımlı değişken üzerindeki etkisini nicel olarak modellemek ve bu ilişkinin istatistiksel anlamlılığını değerlendirmek amacıyla regresyon analizleri kullanılmıştır. Sıcaklık, pH veya NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin (bağımsız değişkenler), oluşan biyofilm miktarı üzerindeki etkisinin derecesini ve yönünü belirlemek için regresyon modellerinden yararlanılmıştır. Bu modeller aracılığıyla, bağımsız değişkenlerdeki bir birimlik değişimin bağımlı değişken üzerinde ne kadarlık bir değişikliğe yol açtığını gösteren katsayılar tahmin edilmiş ve modelin genel uyum iyiliği değerlendirilerek bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkendeki varyansı ne ölçüde açıklayabildiği incelenmiştir.

4. BULGULAR

4.1 En İdeal Glikoz Konsantrasyonuna Ait Çalışmanın Sonuçları

S. aureus suşlarının biyofilm oluşumunu en iyi şekilde destekleyen glikoz konsantrasyonunu belirlemek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada, ilk olarak negatif kontrol grupları arasındaki olası farklılıklar incelenmiştir. Bu amaçla aşağıdaki adımlar izlenmiştir:

- Verilerin Görselleştirilmesi: Negatif kontrol gruplarına ait verilerin dağılımını ve potansiyel aykırı değerleri görsel olarak incelemek amacıyla kutu grafiği (box plot) oluşturulmuştur (Şekil 4.1).
- Normallik Testi: Verilerin normal dağılıma uygunluğunu değerlendirmek için Shapiro-Wilk normalite testi uygulanmıştır. Test sonucunda, negatif kontrol verilerinin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$).
- Varyans Homojenliği Testi: Negatif kontrol gruplarının varyanslarının homojen olup olmadığını değerlendirmek için Bartlett varyans homojenliği testi uygulanmıştır. Test sonucunda, verilerin varyanslarının homojen olduğu gözlenmiştir ($p=0,3599$). Normallik ve varyans homojenliği testleri sonuçlarına göre karşılaştırma için parametrik testlerin kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.
- Varyans Analizi (ANOVA): Negatif kontrol grupları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) uygulanmıştır. ANOVA testi sonucunda, negatif kontrol grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p=0,2830$).



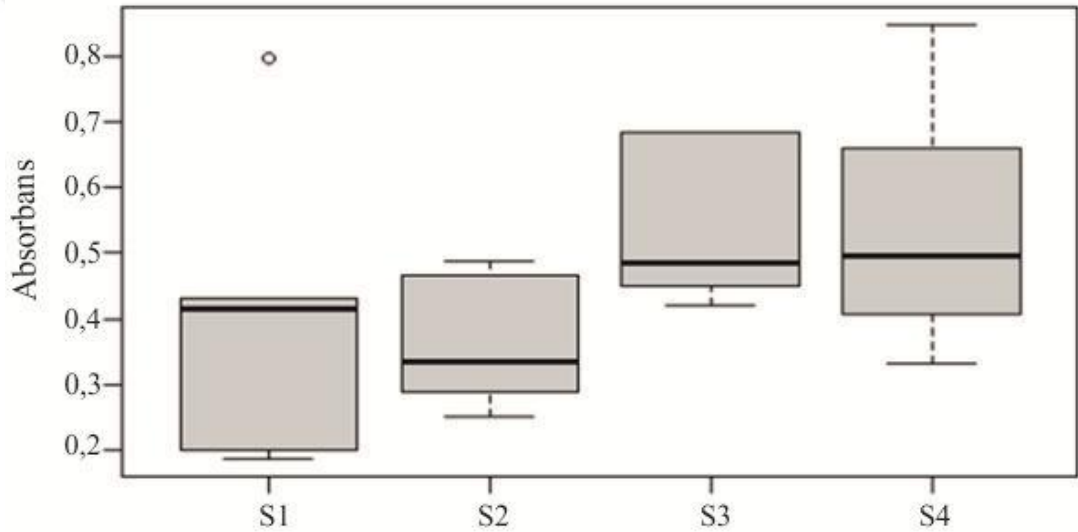
Şekil 4.1 Bütün negatif kontroller için çizdirilmiş kutu grafiği

Bu sonuçlar, negatif kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını ve dolayısıyla glikoz konsantrasyonlarının etkisiyle ilgili yapılacak sonraki analizlerin bu durumdan etkilenmeyeceğini göstermektedir. Bu nedenle, sonraki analizlerde elde edilecek sonuçların, glikoz konsantrasyonlarının *S. aureus* suşlarının biyofilm oluşumu üzerindeki gerçek etkilerini yansıttığı kabul edilmiştir.

Glikoz konsantrasyonunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini incelemekten önce, *S. aureus* suşlarının glikoz eklenmemiş ortamda ürettikleri biyofilm miktarının suşlar arasında istatistiksel olarak farklı olup olmadığını belirlemek amacıyla aşağıdaki adımlar izlenmiştir:

- Verilerin Görselleştirilmesi: Dört farklı *S. aureus* suşunun glikozsuz ortamda ürettikleri biyofilm miktarlarını karşılaştırmak ve potansiyel farklılıkları görsel olarak incelemek amacıyla kutu grafiği oluşturulmuştur (Şekil 4.2).
- Normallik Testi: Verilerin normal dağılıma uygunluğunu değerlendirmek için Shapiro-Wilk normalite testi uygulanmıştır. Test sonucunda, verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$).

- Varyans Homojenliği Testi: Farklı *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilmlerin varyanslarının homojen olup olmadığını değerlendirmek için Bartlett varyans homojenliği testi uygulanmıştır. Test sonucunda, verilerin varyans homojenliği gösterdiği gözlenmiştir ($p=0,2713$).
- Varyans Analizi (ANOVA): *S. aureus* suşlarının glikoz eklenmeyen besiyerlerinde ürettiği biyofilm miktarlarının istatistiksel olarak farklı olup olmadığını belirlemek için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) uygulanmıştır. ANOVA testi sonucunda, suşların ürettiği biyofilm miktarlarının istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı sonucuna varılmıştır ($p=0,1750$).



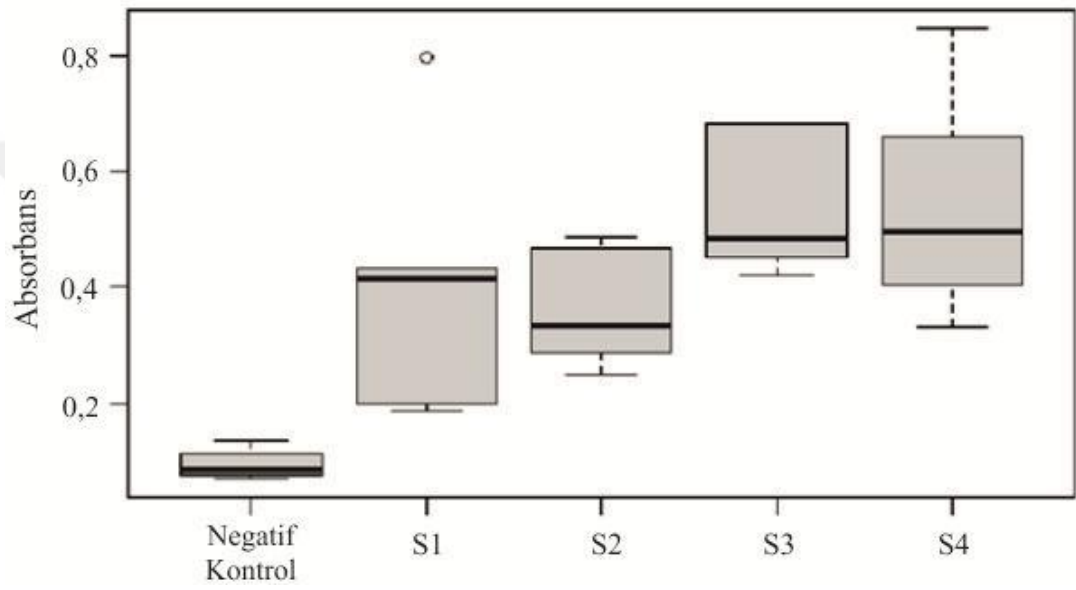
Şekil 4.2 Bütün üremelerin pozitif kontrolleri için çizdirilmiş kutu grafiği

Bu bulgular, farklı *S. aureus* suşlarının glikozsuz ortamda benzer miktarda biyofilm ürettiğini göstermektedir. Bu nedenle, glikoz konsantrasyonunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini değerlendirirken, suşlar arasındaki temel farklılıkların ihmal edilebilir olduğu kabul edilmiştir. Böylece, glikoz konsantrasyonlarının etkilerinin tüm suşlar için geçerli genellemeler yapılarak değerlendirilmesi mümkün hale gelmiştir.

S. aureus suşlarının biyofilm oluşturma yeteneklerinin negatif kontrolle (NK) karşılaştırılması Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterdiği Shapiro-Wilk testi ile doğrulanmıştır ($p>0,05$). Ancak, varyansların homojen olmadığı

tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu durum, parametrik testlerin kullanılmasının uygun olmadığını göstermiştir. Bu nedenle, non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.

Kruskal-Wallis testi sonucunda, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p = 5,87 \times 10^{-3}$). Bu, en az bir grupta gözlenen biyofilm miktarının birbirinden farklı olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 4.3 Bütün üremelerin negatif kontrol ile karşılaştırılması

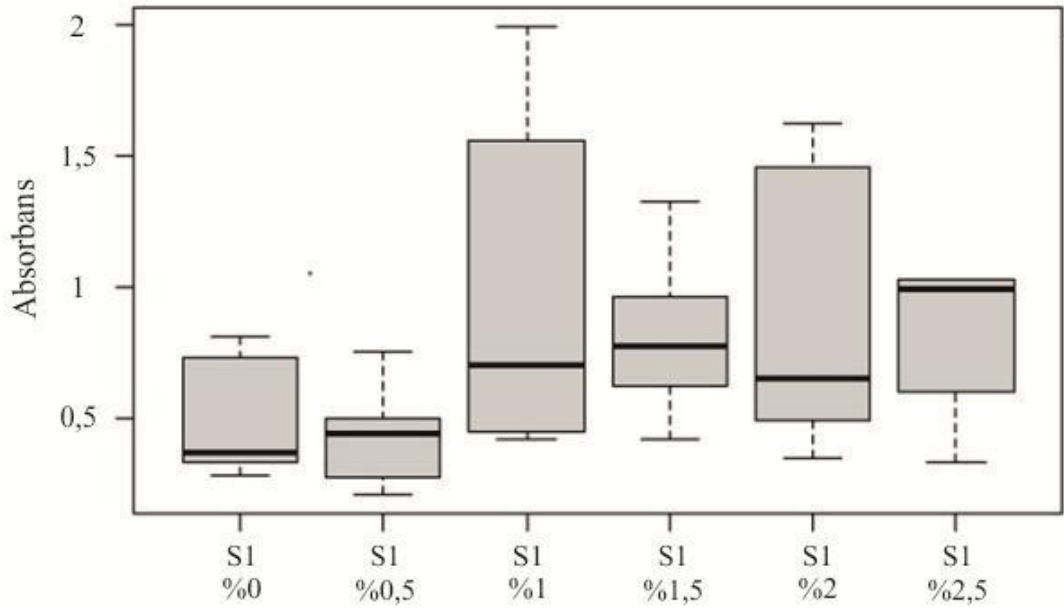
Kruskal-Wallis testi, gruplar arasında genel bir farklılık olduğunu gösterse de, hangi grupların birbirinden farklı olduğunu belirtmez. Bu nedenle, hangi gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğunu belirlemek için post-hoc testi olarak Dunn testi uygulanmıştır. Dunn testinin p-değerleri Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1 Bütün üremelerin negatif kontrol ile karşılaştırılmasına ait Dunn testi sonuçları

	NK	S1	S2	S3
S1	0,0192			
S2	0,0298	0,4166		
S3	0,0002	0,0571	0,0367	
S4	0,0009	0,1234	0,0856	0,3368

Dunn testi sonuçlarına göre, tüm *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm miktarları negatif kontrolden anlamlı düzeyde farklıdır. Bu, *S. aureus* suşlarının tümünün, glikozsuz ortamda bile, negatif kontrole kıyasla anlamlı düzeyde daha fazla biyofilm ürettiği anlamına gelmektedir.

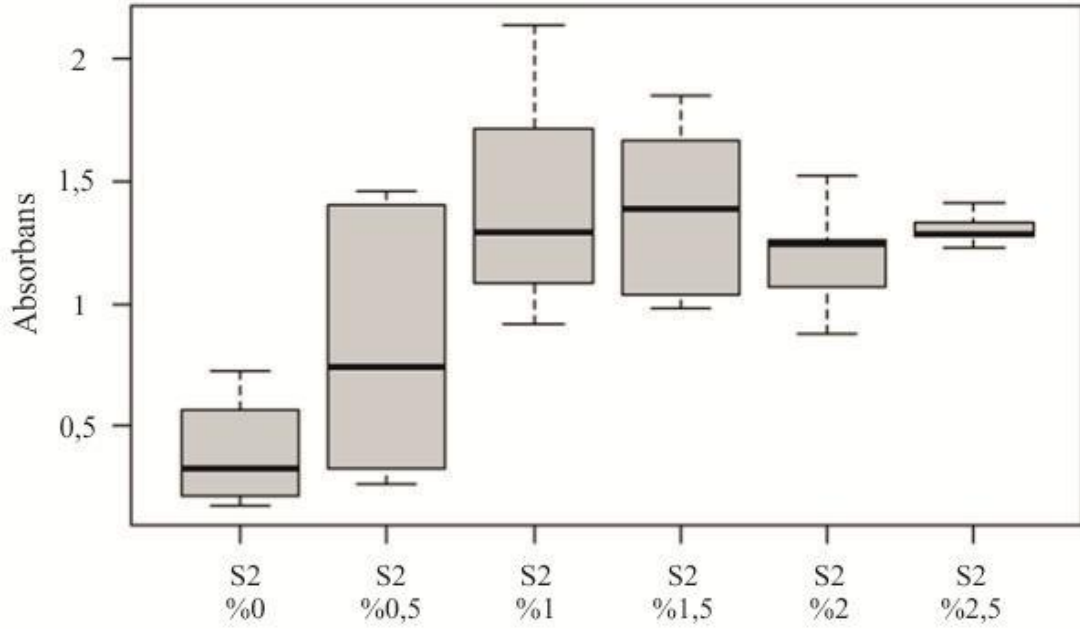
Şekil 4.4’de S1 suşu için glikoz konsantrasyonunun biyofilm oluşumu üzerinde etkisi gösterilmiştir. Veriler varyans homojenliği göstermesine rağmen ($p>0,05$) normal dağılım göstermeyen gruplar olduğu için ($p<0,05$) karşılaştırmada non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucuna göre glikoz konsantrasyonu S1 suşunun biyofilm üretmesinde etkili olmadığı görülmüştür ($p=0,1225$).



Şekil 4.4 S1 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi

Çalışmada ikinci olarak S2 suşunun biyofilm üretimi üzerinde glikoz konsantrasyonunun etkisi analiz edilmiştir. Şekil 4.5’te, farklı glikoz konsantrasyonlarında elde edilen biyofilm üretim miktarlarını gösteren kutu grafiği sunulmuştur. İstatistiksel analiz sonucunda verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiş ($p>0,05$), ancak varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, non-parametrik bir test olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda, farklı glikoz konsantrasyonlarında S2 suşunun ürettiği biyofilm miktarının en az bir grupta diğerlerinden farklı olduğu sonucuna varılmıştır

($p=0,0110$). Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Dunn testi kullanılarak post-hoc analizi yapılmış ve sonuçlar Tablo 4.2’de sunulmuştur.



Şekil 4.5 S2 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi

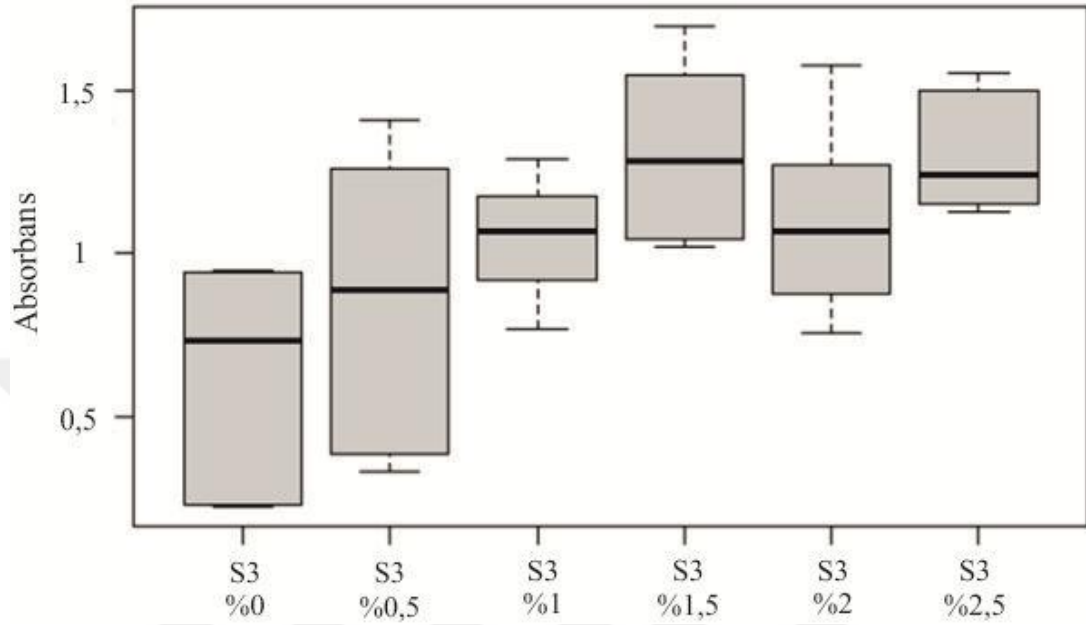
Tablo 4.2’de verilen Dunn testi sonuçlarına göre, %0,5 glikoz konsantrasyonu haricinde, diğer tüm glikoz konsantrasyonlarının hiç glikoz eklenmeyen duruma göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu bulunmuştur.

Tablo 4.2 Farklı glikoz konsantrasyonunun S2 suşunun biyofilm üretimine etkilerinin karşılaştırılmasına ait Dunn testi sonuçları

	S2_0	S2_0,5	S2_1	S2_1,5	S2_2
S2_0,5	0,0606				
S2_1	0,0013	0,0715			
S2_1,5	0,0012	0,0677	0,4888		
S2_2	0,0077	0,1912	0,2771	0,2677	
S2_2,5	0,0013	0,0635	0,4487	0,4594	0,2442

Şekil 4.6’da S3 suşunun biyofilm üretimi üzerinde glikoz konsantrasyonunun etkisini gösteren kutu grafiği sunulmuştur. Verilere uygulanan istatistiksel analizler sonucunda, verilerin normal dağılım gösterdiği ($p>0,05$) ve varyans homojenliğinin sağlandığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Bu nedenle, karşılaştırmalar için parametrik bir test olan ANOVA kullanılmıştır. ANOVA testi, farklı glikoz konsantrasyonlarının S3

suşunun biyofilm üretimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermiştir ($p=0,0034$), yani en az bir durumda üretilen biyofilm miktarının diğerlerinden farklı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.6 S3 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi

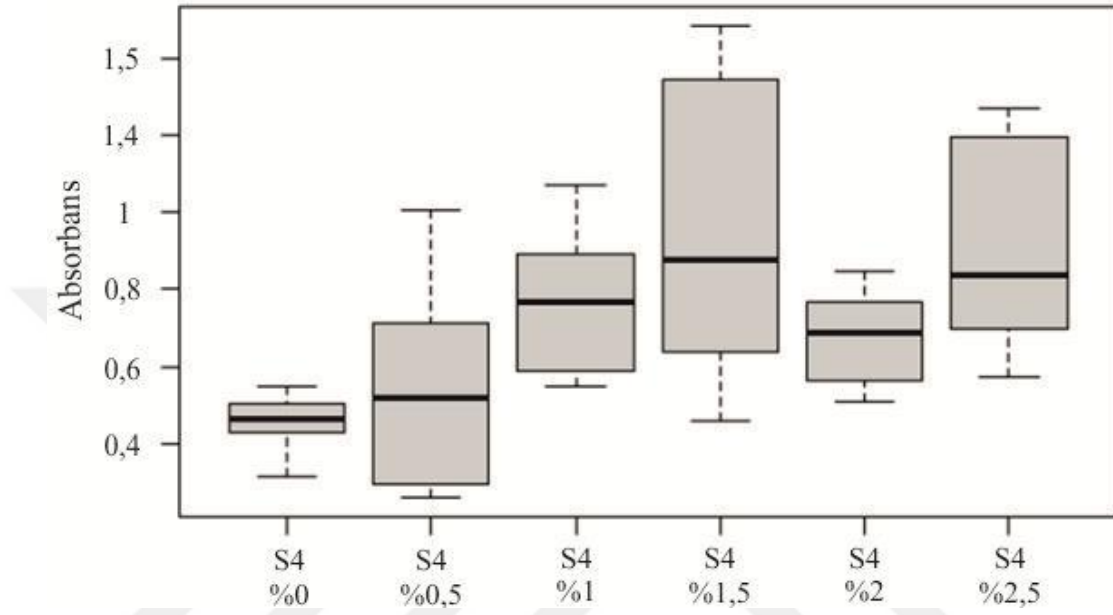
Bu farklılığın hangi durumlar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Tukey testi kullanılarak post-hoc analiz yapılmıştır. Tukey testinin sonuçları Tablo 4.3'te sunulmuştur. Analiz sonucunda, sadece %1,5 ve %2,5 glikoz konsantrasyonlarının, glikoz eklenmeyen duruma kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı biyofilm üretimine yol açtığı bulunmuştur.

Tablo 4.3 Farklı glikoz konsantrasyonunun S3 suşunun biyofilm üretimine etkilerinin karşılaştırılmasına ait Tukey testi sonuçları

	S3_0	S3_0,5	S3_1	S3_1,5	S3_2
S3_0,5	0,7816				
S3_1	0,1982	0,8892			
S3_1,5	0,0063	0,1329	0,6591		
S3_2	0,1072	0,7341	0,9995	0,8354	
S3_2,5	0,0071	0,1449	0,6860	1,0000	0,8555

Son olarak, S4 suşunun biyofilm üretimi üzerinde glikoz konsantrasyonunun etkisi değerlendirilmiştir. Şekil 4.7'de, farklı glikoz konsantrasyonlarında gözlemlenen

biyofilm üretim miktarlarını gösteren kutu grafiği yer almaktadır. İstatistiksel analizler, verilerin normal dağıldığını ($p>0,05$) ancak varyansların homojen olmadığını ($p<0,05$) ortaya koymuştur. Bu nedenle, Kruskal-Wallis testi olarak bilinen non-parametrik bir yöntem kullanılmıştır.



Şekil 4.7 S4 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki glikoz konsantrasyonunun etkisi

Kruskal-Wallis testi sonucunda, farklı glikoz konsantrasyonlarının S4 suşunun biyofilm üretimi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu belirlenmiştir ($p=0,0237$), yani en az bir glikoz konsantrasyonunda üretilen biyofilm miktarının diğerlerinden farklı olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Dunn testi ile post-hoc analiz yapılmış ve sonuçlar Tablo 4.4'te sunulmuştur.

Dunn testi sonuçlarına göre, %0,5 glikoz konsantrasyonu hariç, diğer tüm glikoz konsantrasyonlarının glikoz içermeyen duruma kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı biyofilm üretimine yol açtığı saptanmıştır. Ek olarak, %0,5 glikoz içeren durumun, %1,5 ve %2,5 glikoz içeren durumlardan da farklı olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.4 Farklı glikoz konsantrasyonunun S4 suşunun biyofilm üretimine etkilerinin karşılaştırılmasına ait Dunn testi sonuçları

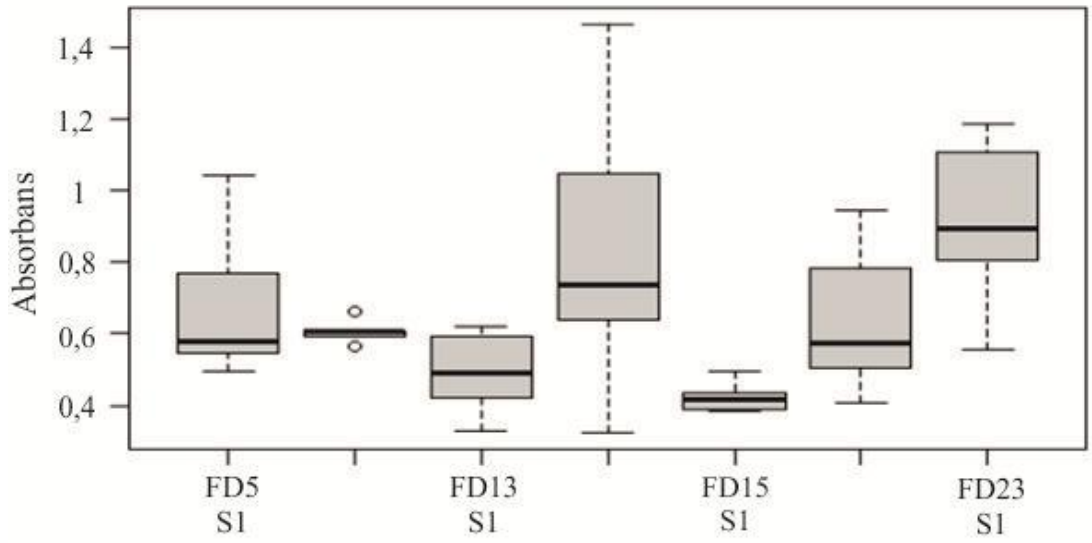
S4-0	S4-0,5	S4-1	S4-1,5	S4-2
------	--------	------	--------	------

S4-0,5	0,1777				
S4-1	0,0101	0,0715			
S4-1,5	0,0035	0,0315	0,3466		
S4-2	0,0351	0,1763	0,2962	0,1763	
S4-2,5	0,0015	0,0161	0,2495	0,3891	0,1129

Elde edilen tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, S2, S3 ve S4 suşları için %1,5 glikoz konsantrasyonunun yüksek biyofilm üretimi için uygun olduğu gözlemlenmiştir. S1 suşu için ise glikoz konsantrasyonunun biyofilm üretimi üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamıştır. Bu sebeple, çalışmada tutarlılığı sağlamak ve tüm suşlar için ortak bir yaklaşım benimsemek amacıyla, %1,5 glikoz konsantrasyonu tüm *S. aureus* suşları için ideal glikoz konsantrasyonu olarak belirlenmiştir.

4.2 Farklı Sıcaklık, pH ve NaCl Konsantrasyon Değerlerinin *S. aureus* Biyofilm Üretimine Etkisi

Çalışmada, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon değerlerinin S1 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.8’de sunulmuştur. Verilerin normal dağılım gösterdiği Shapiro-Wilk testi ile doğrulanmış ($p>0,05$), ancak varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda, incelenen gruplardan en az birinin diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p=3,69 \times 10^{-3}$).



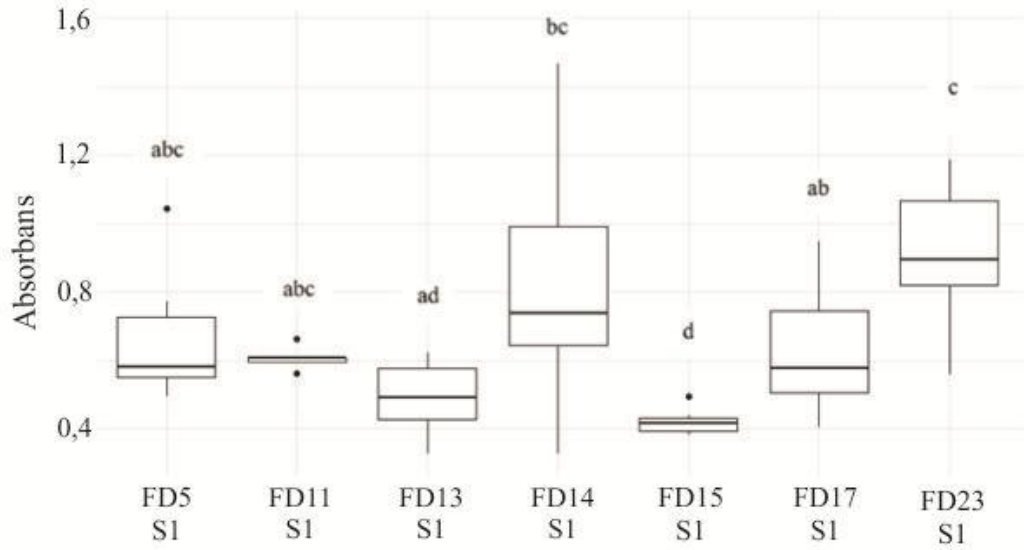
Şekil 4.8 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S1 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi

Bu anlamlı farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Dunn testi ile post-hoc analiz yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.5’te sunulmuştur.

Tablo 4.5 S1 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

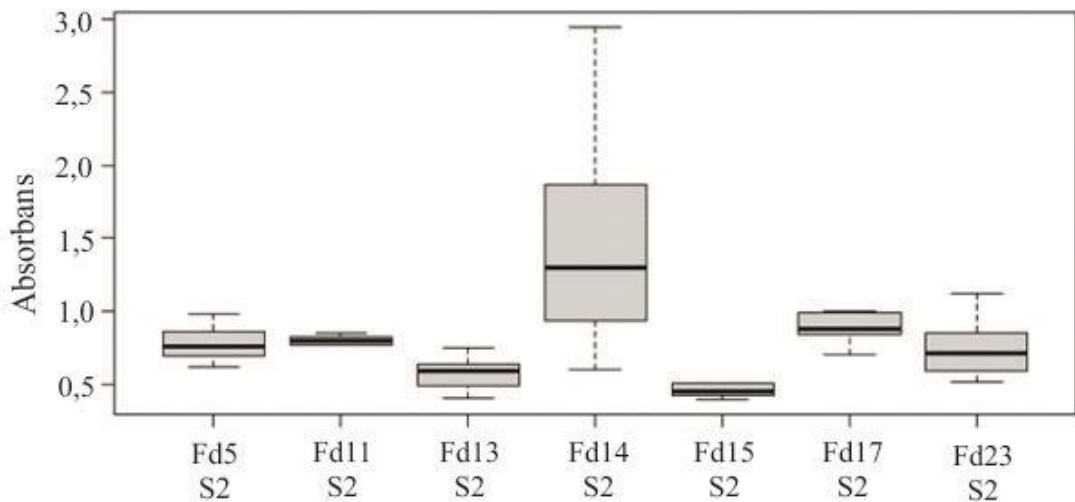
	FD11-S1	FD13-S1	FD14-S1	FD15-S1	FD17-S1	FD23-S1
FD13-S1	0,0790					
FD14-S1	0,2329	0,0161				
FD15-S1	0,0087	0,1673	0,0009			
FD17-S1	0,3709	0,1395	0,1448	0,0203		
FD23-S1	0,0790	0,0024	0,2475	0,0001	0,0408	
FD5-S1	0,4346	0,1062	0,1856	0,0135	0,4346	0,0574

Şekil 4.9’da, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının S1 suşunun biyofilm oluşumu üzerine etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.5’teki istatistiksel analiz sonuçları harflerle ifade edilmiştir. Aynı harfe sahip olan gruplar, istatistiksel olarak birbirine benzerken, farklı harflere sahip olan gruplar ise istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. Bu sayede, hangi gözlemin S1 suşunun biyofilm oluşturma yeteneğini anlamlı düzeyde etkilediği gösterilmiştir.



Şekil 4.9 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S1 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali

S2 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon değerlerinin etkileri Şekil 4.10’da gösterilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterdiği Shapiro-Wilk testi ile doğrulanmış ($p>0,05$), ancak varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda, incelenen gruplardan en az birinin diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p=1,62 \times 10^{-4}$).



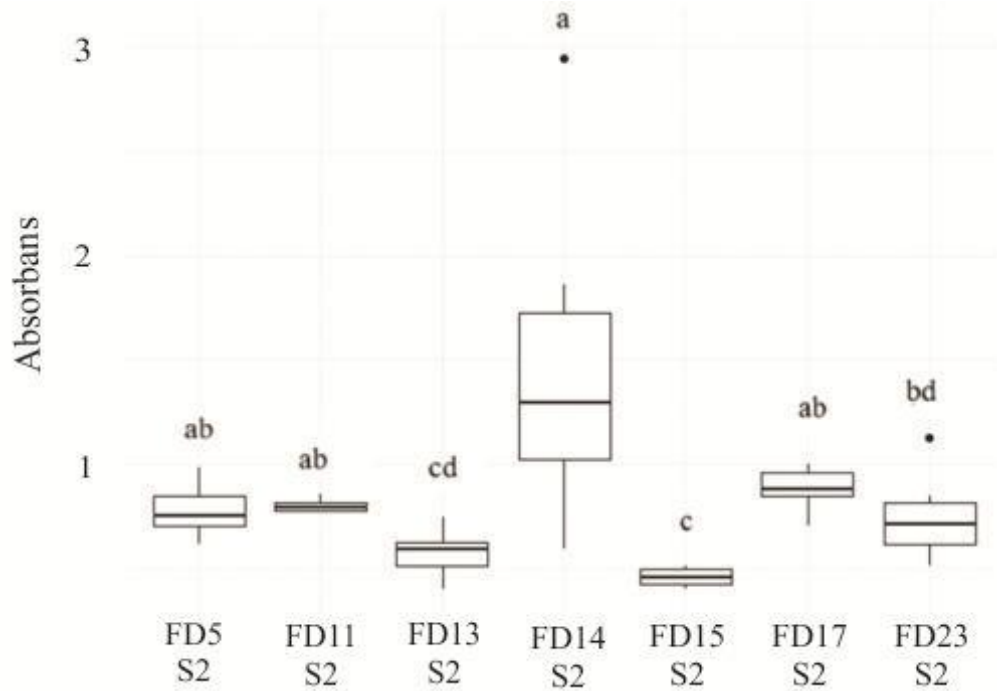
Şekil 4.10 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S2 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi

Bu anlamlı farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Dunn testi ile post-hoc analiz yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.6’da sunulmuştur.

Tablo 4.6 S2 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

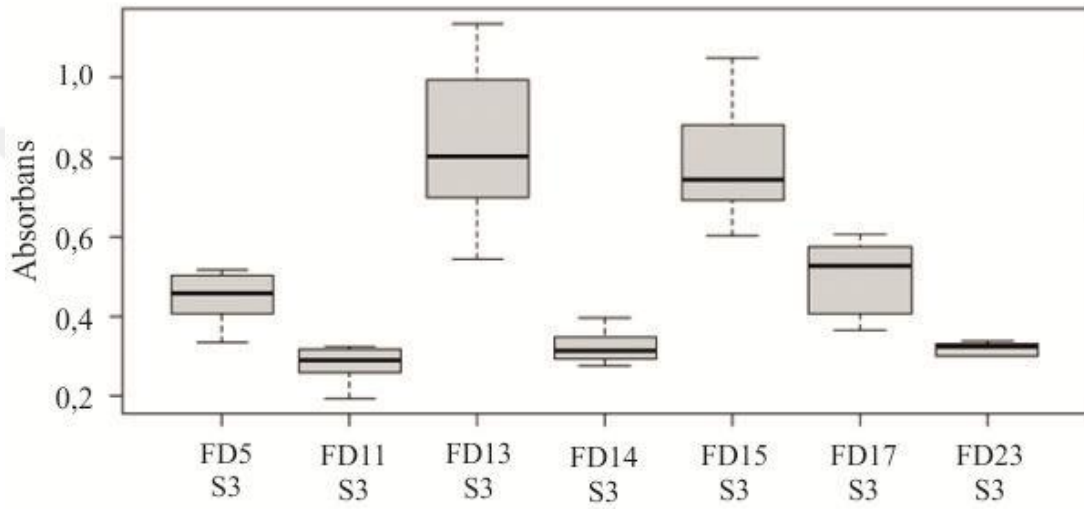
	FD11-S2	FD13-S2	FD14-S2	FD15-S2	FD17-S2	FD23-S2
FD13-S2	0,0221					
FD14-S2	0,0918	0,0004				
FD15-S2	0,0018	0,1825	0,0000			
FD17-S2	0,2257	0,0028	0,2821	0,0001		
FD23-S2	0,2512	0,0899	0,0227	0,0123	0,0773	
FD5-S2	0,3933	0,0408	0,0548	0,0041	0,1530	0,3446

Şekil 4.11’de, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının S2 suşunun biyofilm oluşumu üzerine etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.6’daki istatistiksel analiz sonuçları harflerle ifade edilmiştir. Aynı harfe sahip olan gruplar, istatistiksel olarak birbirine benzerken, farklı harflere sahip olan gruplar ise istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. Bu sayede, hangi gözlemin S2 suşunun biyofilm oluşturma yeteneğini anlamlı düzeyde etkilediği gösterilmiştir.



Şekil 4.11 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S2 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali

S3 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon değerlerinin etkileri Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterdiği Shapiro-Wilk testi ile doğrulanmış ($p>0,05$), ancak varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda, incelenen gruplardan en az birinin diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p=3,63 \times 10^{-6}$).



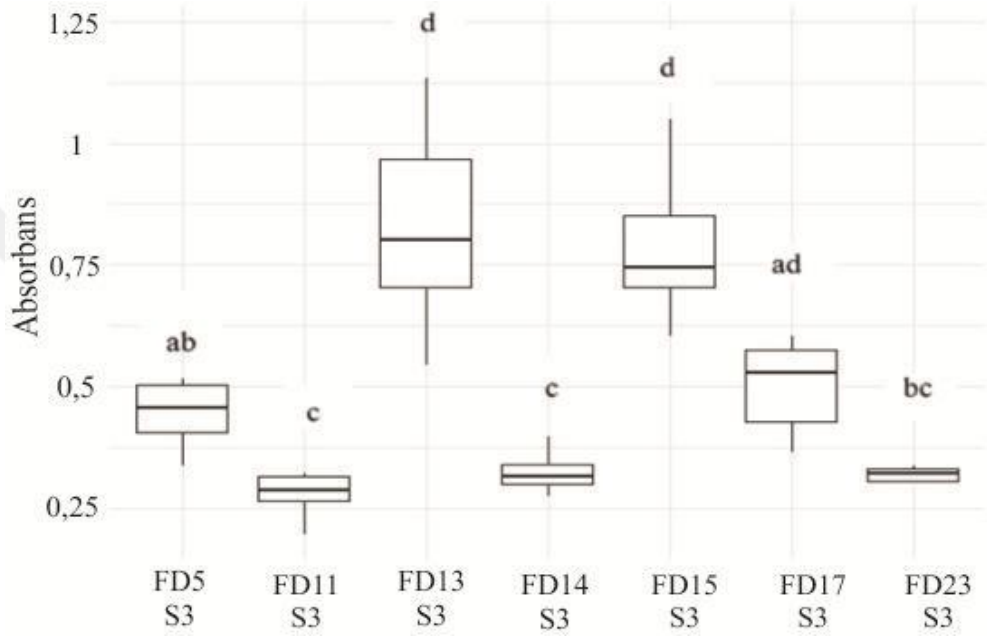
Şekil 4.12 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S3 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi

Bu anlamlı farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Dunn testi ile post-hoc analiz yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.7’de sunulmuştur.

Tablo 4.7 S3 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

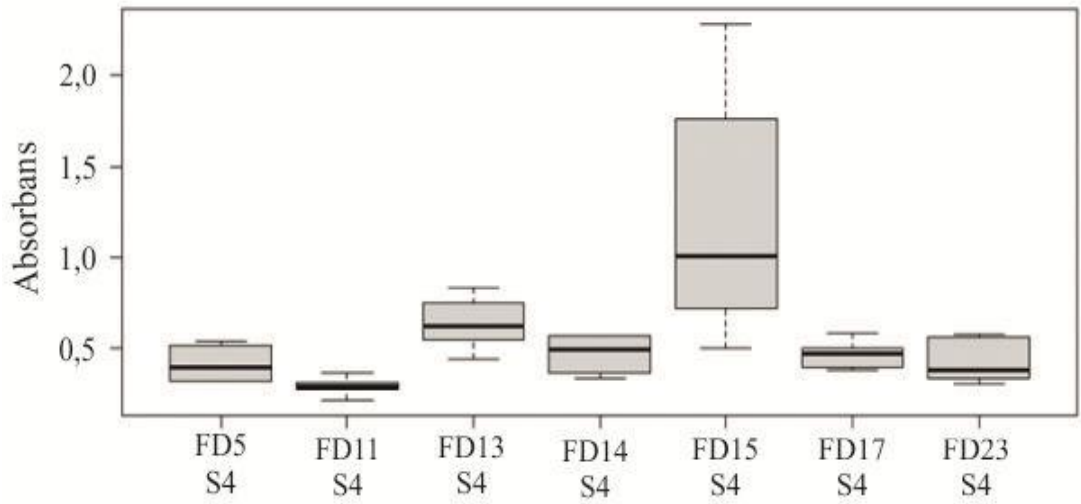
	FD11-S2	FD13-S2	FD14-S2	FD15-S2	FD17-S2	FD23-S2
FD13-S2	0,0000					
FD14-S2	0,2475	0,0002				
FD15-S2	0,0000	0,4812	0,0002			
FD17-S2	0,0026	0,0723	0,0176	0,0790		
FD23-S2	0,2152	0,0003	0,4578	0,0003	0,0227	
FD5-S2	0,0090	0,0299	0,0462	0,0332	0,3359	0,0574

Şekil 4.13'te, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının S3 suşunun biyofilm oluşumu üzerine etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.7'deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle ifade edilmiştir. Aynı harfe sahip olan gruplar, istatistiksel olarak birbirine benzerken, farklı harflere sahip olan gruplar ise istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. Bu sayede, hangi gözlemin S3 suşunun biyofilm oluşturma yeteneğini anlamlı düzeyde etkilediği gösterilmiştir.



Şekil 4.13 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S3 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali

S4 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon değerlerinin etkileri Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterdiği Shapiro-Wilk testi ile doğrulanmış ($p > 0,05$), ancak varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu nedenle, gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucunda, incelenen gruplardan en az birinin diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p = 1,77 \times 10^{-4}$).



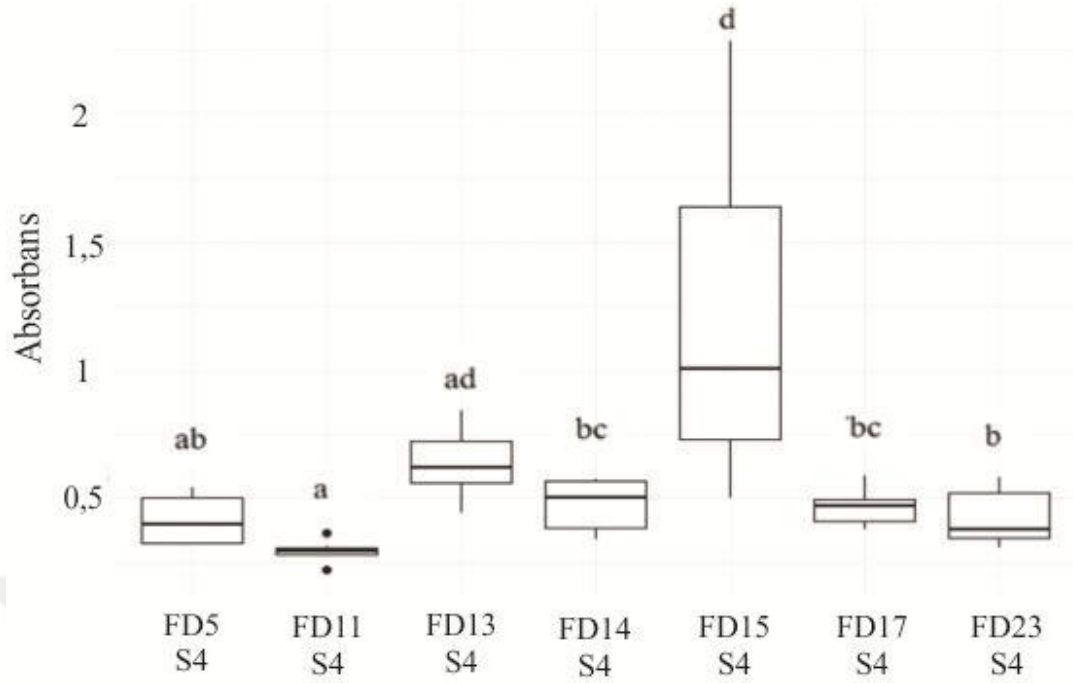
Şekil 4.14 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının S4 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine etkisi

Bu anlamlı farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Dunn testi ile post-hoc analiz yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.8’de sunulmuştur.

Tablo 4.8 S4 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

	FD11-S2	FD13-S2	FD14-S2	FD15-S2	FD17-S2	FD23-S2
FD13-S2	0,0001					
FD14-S2	0,0087	0,0756				
FD15-S2	0,0000	0,2401	0,0161			
FD17-S2	0,0082	0,0790	0,4906	0,0171		
FD23-S2	0,0388	0,0203	0,2703	0,0030	0,2626	
FD5-S2	0,0548	0,0135	0,2187	0,0018	0,2118	0,4346

Şekil 4.15’de, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının S4 suşunun biyofilm oluşumu üzerine etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.8’deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle ifade edilmiştir. Aynı harfe sahip olan gruplar, istatistiksel olarak birbirine benzerken, farklı harflere sahip olan gruplar ise istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. Bu sayede, hangi gözlemin S4 suşunun biyofilm oluşturma yeteneğini anlamlı düzeyde etkilediği gösterilmiştir.



Şekil 4.15 Farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının S4 suşunun biyofilm oluşumu üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak gruplandırılmış hali

4.3 Direnç Bazında Karşılaştırmalar

S. aureus suşlarının antibiyotik direnç durumları bazında karşılaştırmalar aşağıda ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

4.3.1 Sefoksitin Bazında Karşılaştırma

Sefoksitin direnci açısından incelenen dört *S. aureus* suşu, sefoksitin pozitif (Sefoksitin (+)) ve sefoksitin negatif (Sefoksitin (-)) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Sefoksitin (+) suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkilerinin analizinde öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve normal dağılım göstermedikleri belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre, farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının biyofilm oluşumu üzerinde anlamlı farklılıklar yarattığı belirlenmiştir ($p = 5,66 \times 10^{-11}$).

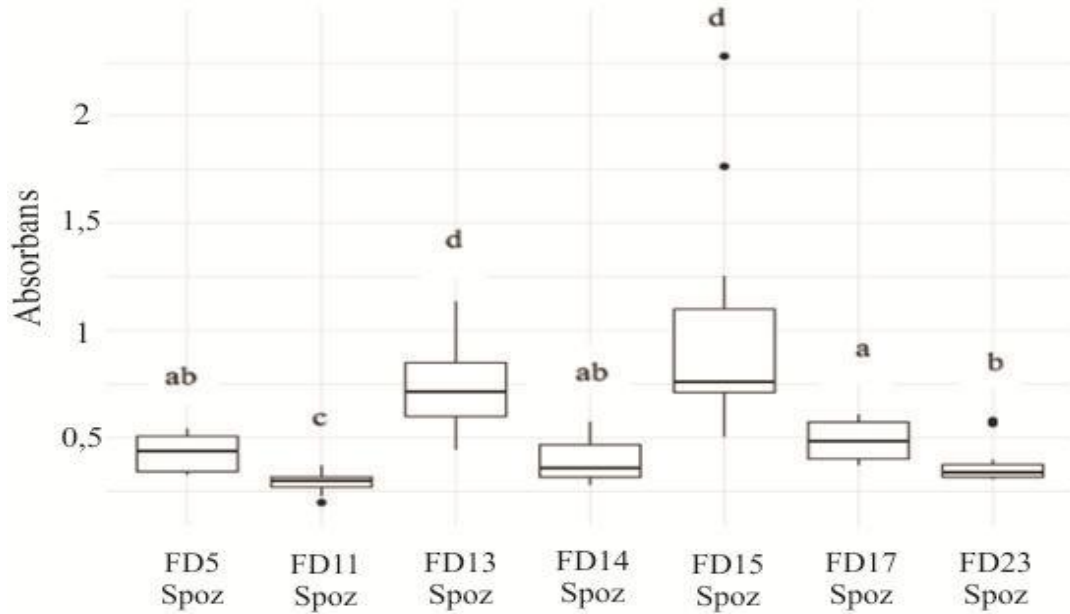
Bu anlamlı farklılıkların kaynağını belirlemek amacıyla post-hoc Dunn testi uygulanmış ve elde edilen p değerleri Tablo 4.9’da sunulmuştur.

Tablo 4.9 Sefoksitin (+) suşların oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

	FD11-SP	FD13-SP	FD14- SP	FD15- SP	FD17- SP	FD23- SP
FD13- SP	0,0000					
FD14- SP	0,0154	0,0002				
FD15- SP	0,0000	0,2889	0,0000			
FD17- SP	0,0001	0,0208	0,0628	0,0047		
FD23- SP	0,0416	0,0000	0,3348	0,0000	0,0251	
FD5- SP	0,0022	0,0019	0,2476	0,0003	0,1978	0,1338

*SP: Sefoksitin (+)

Şekil 4.16’da, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Sefoksitin (+) suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.9’daki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.16 Sefoksitin (+) suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri

Sefoksitin (-) suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkilerinin analizinde öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdikleri belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olmadığı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

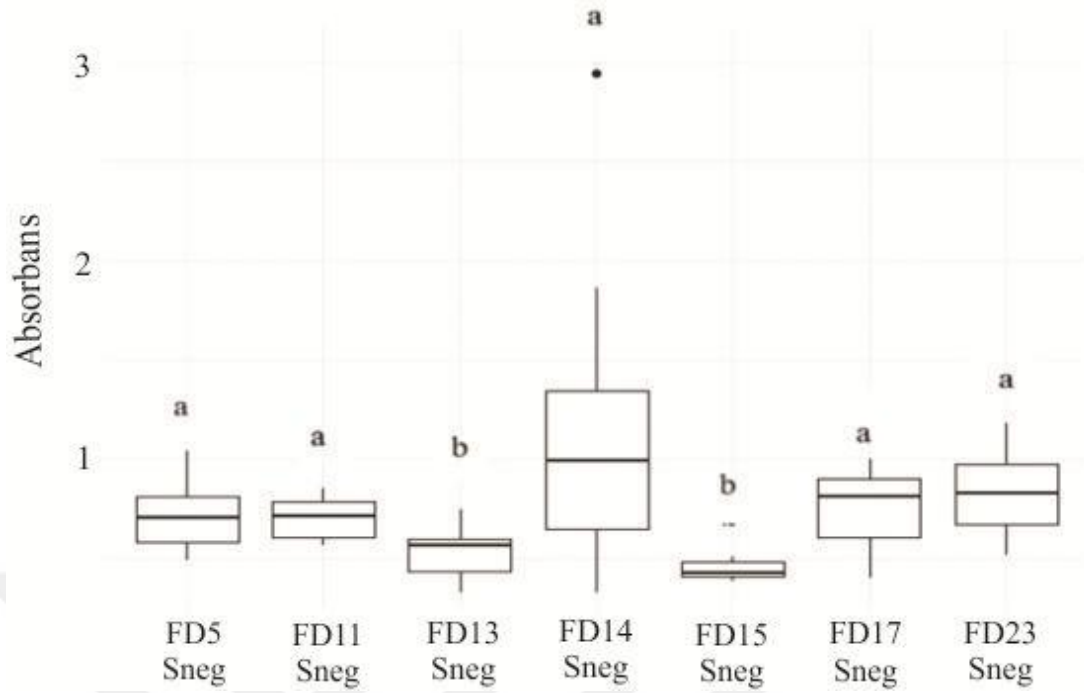
Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre, farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının biyofilm oluşumu üzerinde anlamlı farklılıklar yarattığı belirlenmiştir ($p=9,63 \times 10^{-7}$). Bu anlamlı farklılıkların kaynağını belirlemek amacıyla post-hoc Dunn testi uygulanmış ve elde edilen p değerleri Tablo 4.10'da sunulmuştur.

Tablo 4.10 Sefoksitin (-) suşların oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

	FD11-SN	FD13-SN	FD14- SN	FD15- SN	FD17- SN	FD23- SN
FD13- SN	0,0154					
FD14- SN	0,0655	0,0001				
FD15- SN	0,0002	0,0856	0,0000			
FD17- SN	0,3378	0,0050	0,1374	0,0000		
FD23- SN	0,1875	0,0012	0,2665	0,0000	0,3197	
FD5- SN	0,5000	0,0154	0,0655	0,0002	0,3378	0,1875

*SN: Sefoksitin (-)

Şekil 4.17'de, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Sefoksitin (-) suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.10'daki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.17 Sefoksitin (-) suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri

Çalışmada ayrıca, Sefoksitin (+) ve Sefoksitin (-) suşların aynı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarında ürettiği biyofilm miktarları karşılaştırılmıştır.

Verilerin Shapiro-Wilk ve Bartlett testleri ile analizinde normal dağılım göstermedikleri ($p < 0,05$) ve varyanslarının homojen olmadığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar non-parametrik Kruskal Wallis testi ile yapılmış ve en az bir gözlemin diğerlerinden anlamlı derecede farklı olduğu belirlenmiştir ($p < 2.2 \times 10^{-16}$).

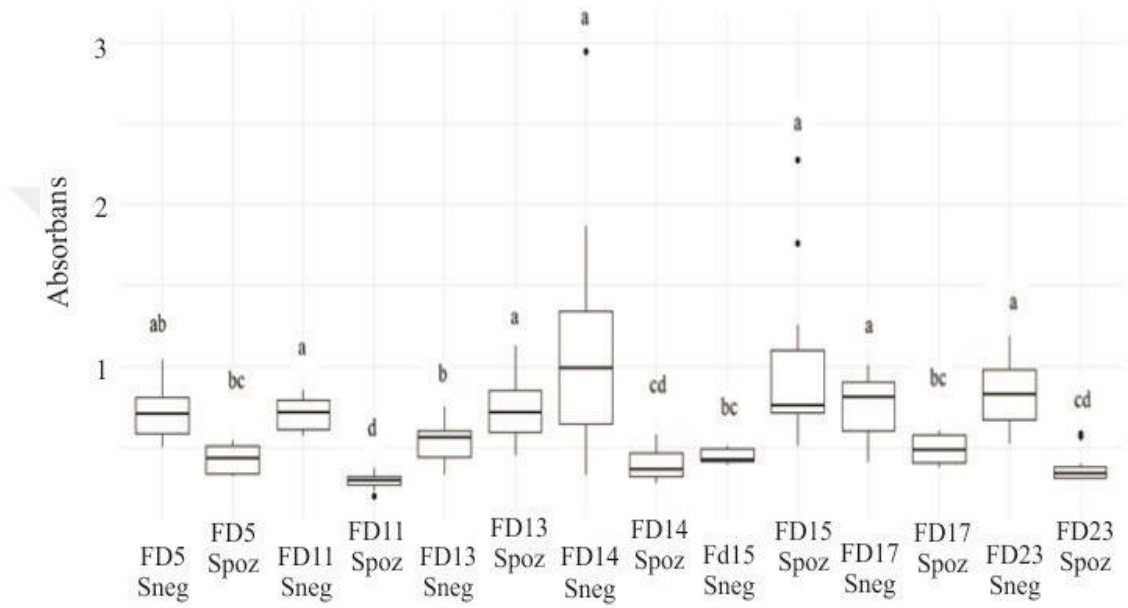
Kruskal Wallis testini takiben uygulanan Dunn post-hoc testinin sonuçları ve elde edilen p değerleri Tablo 4.11’de sunulmuştur.

Tablo 4.11 Sefoksitin (+) ve (-) suşların oluşturduğu biyofilm üzerine sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

	FD11- SN	FD11- SP	FD13- SN	FD13- SP	FD14- SN	FD14- SP	FD15- SN	FD15- SP	FD17- SN	FD17- SP	FD23- SN	FD23- SP	FD5- SN
FD11- SP	0,0000												
FD13- SN	0,0270	0,0004											
FD13- SP	0,4808	0,0000	0,0302										
FD14- SN	0,1863	0,0000	0,0024	0,1736									
FD14- SP	0,0001	0,0654	0,0318	0,0001	0,0000								
FD15- SN	0,0007	0,0172	0,1055	0,0009	0,0000	0,2728							
FD15- SP	0,2314	0,0000	0,0039	0,2169	0,4375	0,0000	0,0000						
FD17- SN	0,4433	0,0000	0,0193	0,4243	0,2269	0,0000	0,0005	0,2770					
FD17- SP	0,0043	0,0039	0,2404	0,0049	0,0002	0,1251	0,2927	0,0004	0,0028				
FD23- SN	0,2956	0,0000	0,0069	0,2791	0,3164	0,0000	0,0001	0,4218	0,3466	0,0008			
FD23- SP	0,0000	0,1251	0,0134	0,0000	0,0000	0,3591	0,1672	0,0000	0,0000	0,0654	0,0000		
FD5- SN	0,4607	0,0000	0,0338	0,4799	0,1610	0,0001	0,0010	0,2024	0,4047	0,0057	0,2625	0,0000	
FD5- SP	0,0005	0,0232	0,0847	0,0006	0,0000	0,3154	0,4507	0,0000	0,0003	0,2516	0,0001	0,2001	0,0188

*SP: Sefoksitin (+), SN: Sefoksitin (-)

Şekil 4.18’de, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Sefoksitin (+) ve Sefoksitin (-) suşlarda biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.11’deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların sefoksitin (+) ve (-) suşların biyofilm oluşturma yeteneğini farklı düzeylerde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.18 Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Sefoksitin (+) ve Sefoksitin (-) suşlarda biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi

Sonuçlara göre uygulanan bütün sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarına Sefoksitin (+) ve Sefoksitin (-) suşları istatistiksel olarak farklı tepkiler verdiği görülmüştür.

4.3.2 Oksasilin Bazında Karşılaştırma

Tez çalışmasında kullanılan *S. aureus* suşlarından Sefoksitin (-) olanlar aynı zamanda oksasilin duyarlıdır. Benzer şekilde, Sefoksitin (+) olanlar da oksasilin direncine sahiptir. Dolayısıyla, yukarıda Sefoksitin (-) olan suşlar için söylenenler oksasilin duyarlılar için de geçerli; Sefoksitin (+) olan suşlar için söylenenler oksasilin dirençliler için de geçerlidir.

4.3.3 Levofloksasin Bazında Karşılaştırma

Sefoksitin direnci açısından incelenen dört *S. aureus* suşu, levofloksasin dirençli (Levofloksasin R) ve levofloksasin duyarlı (Levofloksasin S) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Levofloksasin R suşların biyofilm üretimi üzerinde farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkilerinin analizinde öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve normal dağılım gösterdikleri belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

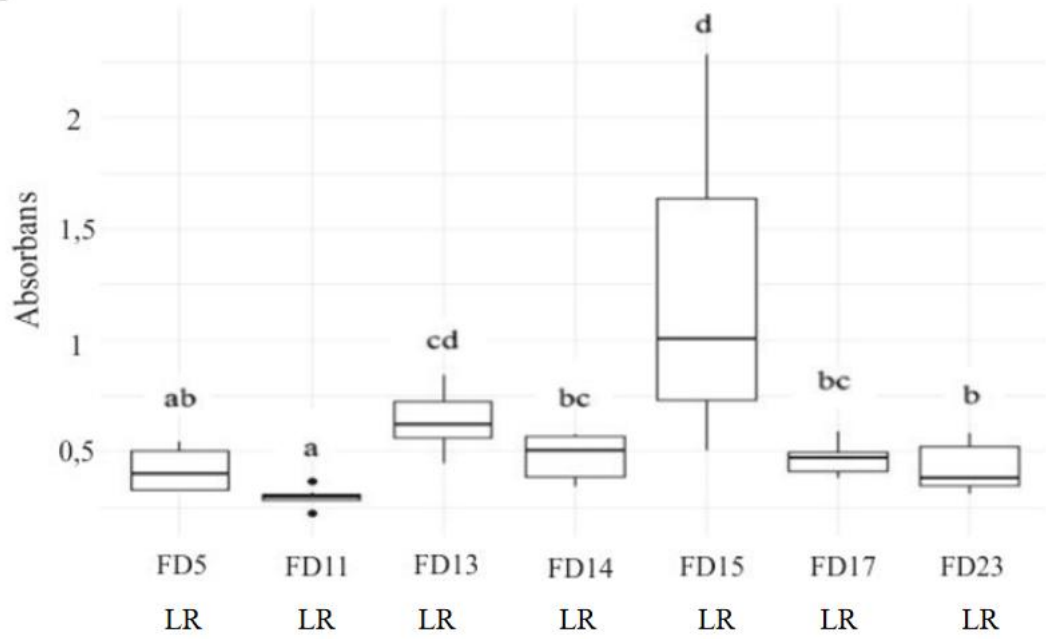
Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre, farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının biyofilm oluşumu üzerinde anlamlı farklılıklar yarattığı belirlenmiştir ($p=1,77 \times 10^{-4}$). Bu anlamlı farklılıkların kaynağını belirlemek amacıyla post-hoc Dunn testi uygulanmış ve elde edilen p değerleri Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.12 Levofloksasin R suşların oluşturduğu biyofilm üzerine farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

	FD11-LR	FD13-LR	FD14-LR	FD15-LR	FD17-LR	FD23-LR
FD13-LR	0,0001					
FD14-LR	0,0087	0,0756				
FD15-LR	0,0000	0,2401	0,0161			
FD17-LR	0,0082	0,0790	0,4906	0,0171		
F23-LR	0,0388	0,0203	0,2703	0,0030	0,2626	
FD5-LR	0,0548	0,0135	0,2187	0,0018	0,2118	0,4346

*LR: Levofloksasin R

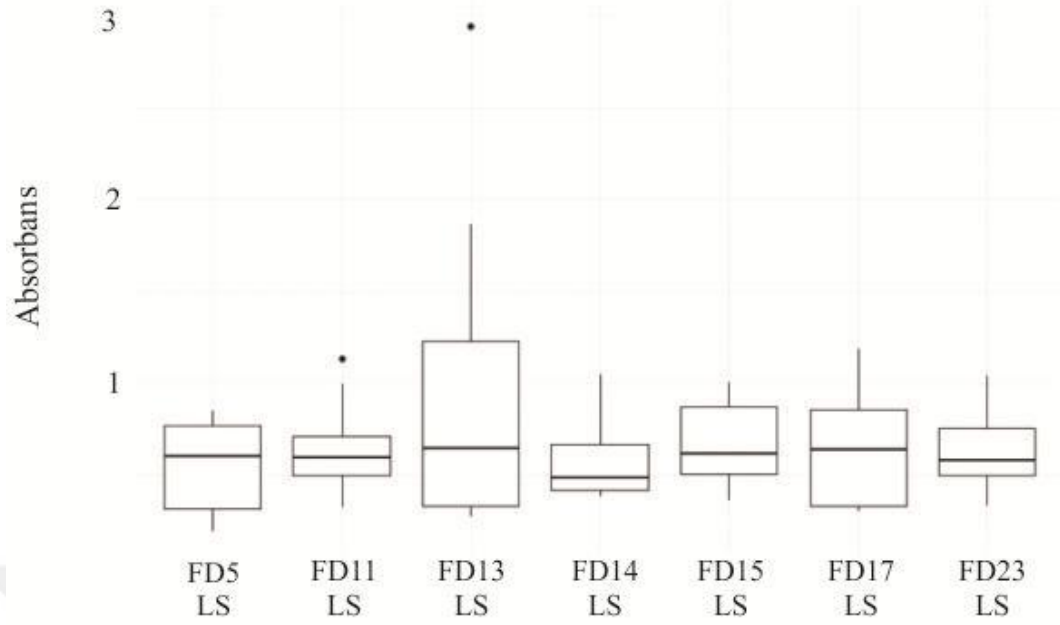
Şekil 4.19’da, farklı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Levofloksasin R suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.12’deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.19 Levofloksasin R suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri

Levofloksasin S suşların biyofilm üretimi üzerinde farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkilerinin analizinde öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım göstermediği belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olmadığı bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre, farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının biyofilm oluşumu üzerinde anlamlı farklılıklara sebep olmadığı belirlenmiştir ($p = 0,7071$) (Şekil 4.20).



Şekil 4.20 Levofloksasin S suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri

Çalışmada ayrıca, Levofloksasin R ve Levofloksasin S suşların aynı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarında ürettiği biyofilm miktarları karşılaştırılmıştır.

Verilerin Shapiro-Wilk ve Bartlett testleri ile analizinde normal dağılım göstermedikleri ($p < 0,05$) ve varyanslarının homojen olmadığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar non-parametrik Kruskal Wallis testi ile yapılmış ve en az bir gözlemin diğerlerinden anlamlı derecede farklı olduğu belirlenmiştir ($p = 5,79 \times 10^{-4}$).

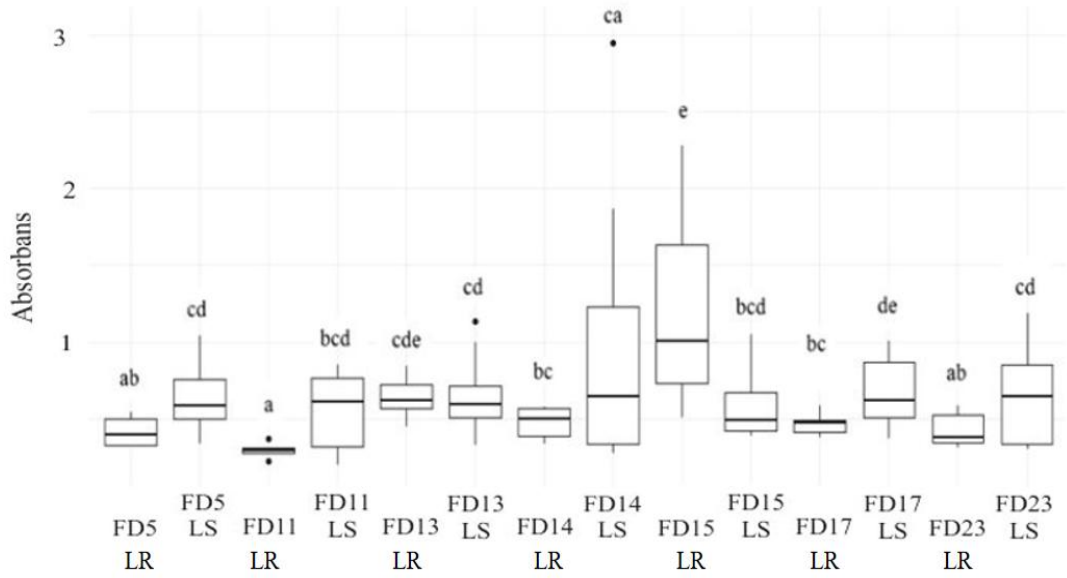
Kruskal Wallis testini takiben uygulanan Dunn post-hoc testinin sonuçları ve elde edilen p değerleri Tablo 4.13’de sunulmuştur.

Tablo 4.13 Levofloksasin R ve S suşların oluşturduğu biyofilm üzerine sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonlarının etkisine ait Dunn testi sonuçları

	FD11- LS	FD11- LR	FD13- LS	FD13- LR	FD14- LS	FD14- LR	FD15- LS	FD15- LR	FD17- LS	FD17- LR	FD23- LS	FD23- LR	FD5- LS
FD11- LR	0,0014												
FD13- LS	0,1925	0,0002											
FD13- LR	0,1799	0,0007	0,3815										
FD14- LS	0,1766	0,0001	0,4761	0,3977									
FD14- LR	0,2130	0,0368	0,0793	0,0811	0,0732								
FD15- LS	0,4226	0,0022	0,1437	0,1460	0,1305	0,2533							
FD15- LR	0,0091	0,0000	0,0402	0,1188	0,0440	0,0050	0,0062						
FD17- LS	0,0910	0,0000	0,3206	0,4889	0,3424	0,0410	0,0630	0,0780					
FD17- LR	0,1678	0,0492	0,0574	0,0625	0,0526	0,4457	0,2047	0,0033	0,0283				
FD23- LS	0,2620	0,0003	0,4085	0,3209	0,3854	0,1063	0,2025	0,0280	0,2428	0,0787			
FD23- LR	0,0782	0,0999	0,0211	0,0284	0,0190	0,3059	0,1004	0,0010	0,0091	0,3553	0,0309		
FD5- LS	0,2011	0,0002	0,4877	0,3732	0,4638	0,0825	0,1508	0,0384	0,3097	0,0599	0,4206	0,0222	
FD5- LR	0,0686	0,1102	0,0178	0,0249	0,0161	0,2864	0,0888	0,0008	0,0075	0,3346	0,0264	0,4775	0,0188

*LR: Sefoksitin (+), LS: Sefoksitin (-)

Şekil 4.21’de, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Levofloksasin R ve Levofloksasin S suşlarda biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.13’deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların Levofloksasin R ve Levofloksasin S suşlarının biyofilm oluşturma yeteneğini farklı düzeylerde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.21 Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarının Levofloksasin R ve Levofloksasin S suşlarda biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi

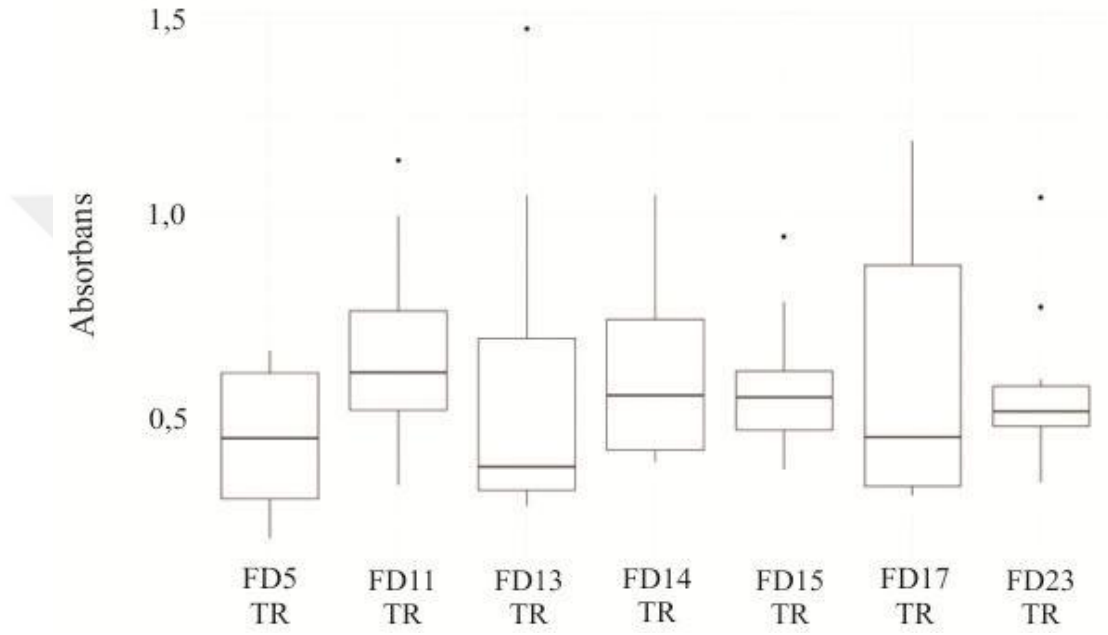
Sonuçlara göre FD-13 ve FD-14 hariç bütün sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonlarına Levofloksasin R ve Levofloksasin S suşlarının istatistiksel olarak farklı tepkiler verdiği görülmüştür.

4.3.4 Tetrasiklin Bazında Karşılaştırma

Tetrasiklin direnci açısından incelenen dört *S. aureus* suşu, tetrasiklin dirençli (Tetrasiklin R) ve tetrasiklin duyarlı (Tetrasiklin S) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Tetrasiklin R suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkilerinin analizinde öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve normal dağılım göstermedikleri belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve

varyansların da homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

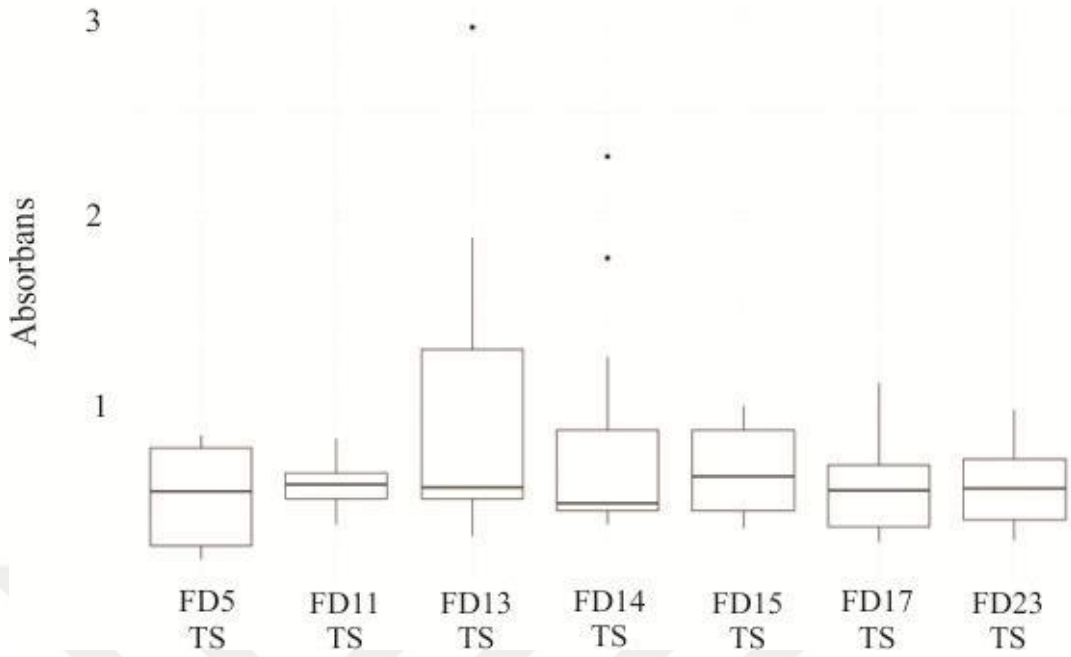
Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre, farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının biyofilm oluşumu üzerinde anlamlı farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir ($p=0,3697$) (Şekil 4.22).



Şekil 4.22 Tetrasiklin R suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri

Tetrasiklin S suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkilerinin analizinde öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve normal dağılım göstermedikleri belirlenmiştir ($p<0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

Kruskal Wallis testi sonuçlarına göre, farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının biyofilm oluşumu üzerinde anlamlı farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir ($p=0,6968$) (Şekil 4.23).



Şekil 4.23 Tetrasiklin S suşların biyofilm üretimi üzerindeki farklı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarının etkileri

Çalışmada ayrıca, Tetrasiklin R ve Tetrasiklin S suşların aynı sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonlarında ürettiği biyofilm miktarları karşılaştırılmıştır.

Verilerin Shapiro-Wilk ve Bartlett testleri ile analizinde normal dağılım göstermedikleri ($p < 0,05$) ve varyanslarının homojen olmadığı ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar non-parametrik Kruskal Wallis testi ile yapılmış ve anlamlı bir fark görülememiştir ($p = 0,4433$).

4.4 Sıcaklık, pH ve NaCl Kombinasyonları (FD) Bazında Karşılaştırmalar

Sıcaklık, pH ve NaCl kombinasyonları (FD) bazında karşılaştırmalar aşağıda ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

4.4.1 FD-13 (Sıcaklık = 20°C, pH = 7,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma

FD-13 (Sıcaklık = 20°C, pH = 7,0 ve NaCl = %6) bazında *S. aureus* suşları karşılaştırılırken öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p > 0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların

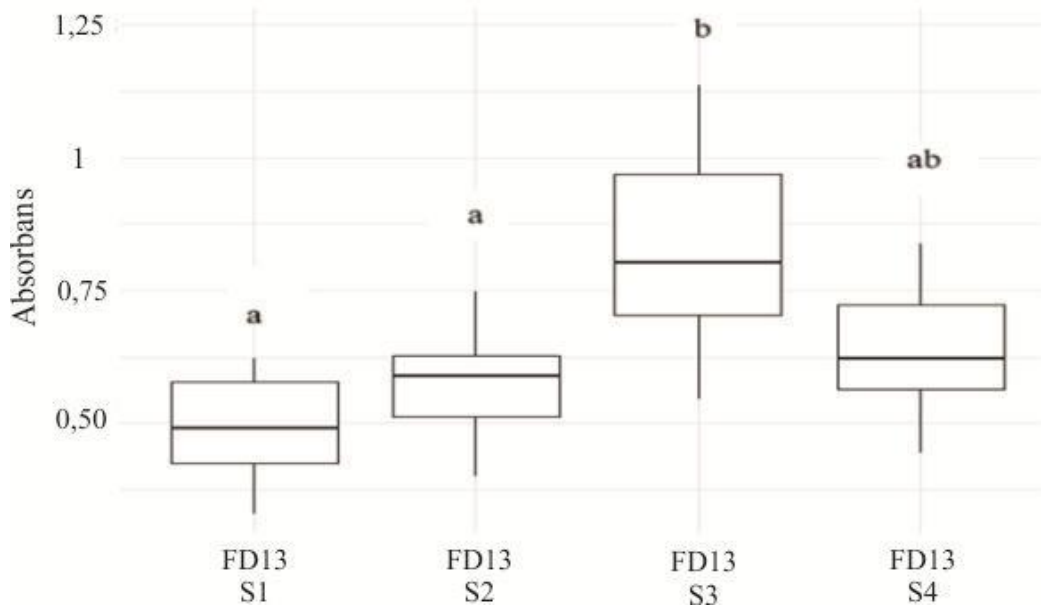
da homojen olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için parametrik bir test olan ANOVA testi kullanılmıştır ve değerler arasındaki fark ANOVA testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,0075$).

ANOVA testi sonrasında uygulanan Tukey post-hoc testinin sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 4.14’te verilmiştir.

Tablo 4.14 *S. aureus* suşları için FD-13 bazında karşılaştırma

	FD13-S1	FD13-S2	FD13-S3
FD13-S2	0,7692		
FD13-S3	0,0053	0,0436	
FD13-S4	0,3680	0,8973	0,1660

Şekil 4.24’te, aynı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonunun *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.14’teki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.24 *S. aureus* suşları bazında FD-13 değerlerinin karşılaştırması

4.4.2 FD-11 (Sıcaklık = 30°C, pH =5,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma

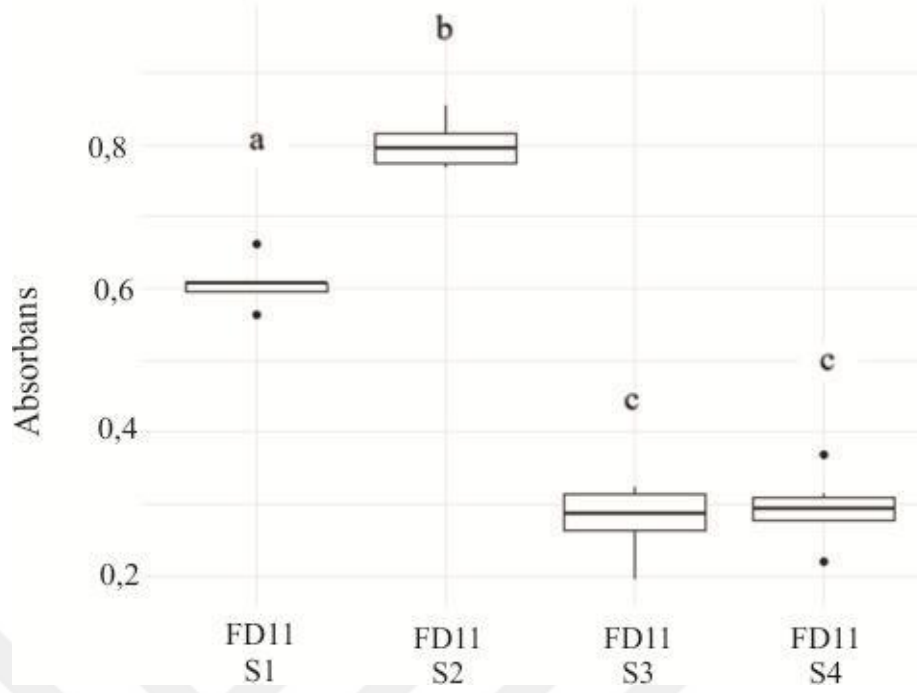
FD-11 (Sıcaklık = 30°C, pH =5,0 ve NaCl = %6) bazında *S. aureus* suşları karşılaştırılırken öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için parametrik bir test olan ANOVA testi kullanılmıştır ve değerler arasındaki fark ANOVA testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=1,21 \times 10^{-15}$).

ANOVA testi sonrasında uygulanan Tukey post-hoc testinin sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 4.15'te verilmiştir.

Tablo 4.15 *S. aureus* suşları için FD-11 bazında karşılaştırma

	FD11-S1	FD11-S2	FD11-S3
FD11-S2	5×10^{-7}		
FD11-S3	0,0000	0,0000	
FD11-S4	0,0000	0,0000	0,9155

Şekil 4.25'te, aynı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonunun *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.15'teki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.25 *S. aureus* suşları bazında FD-11 değerlerinin karşılaştırması

4.4.3 FD-14 (Sıcaklık = 30°C, pH =7,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma

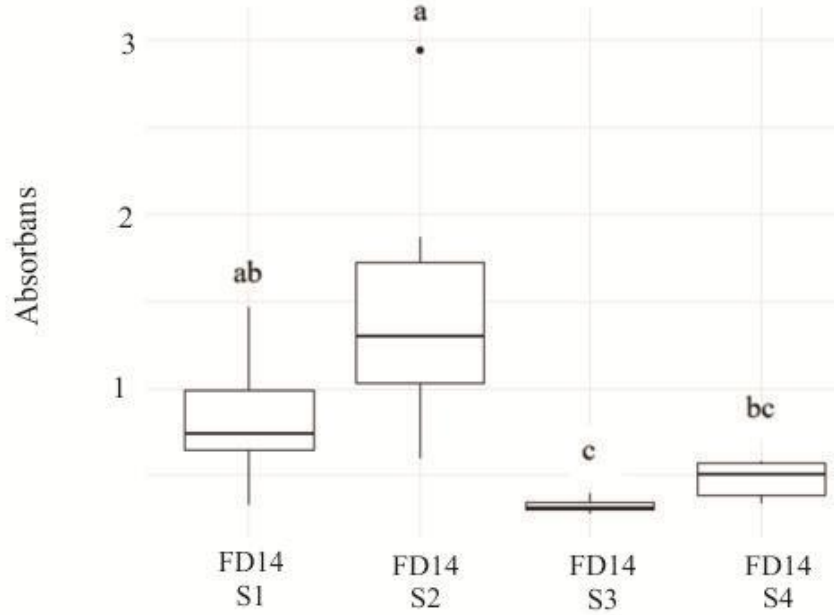
FD-14 (Sıcaklık = 30°C, pH =7,0 ve NaCl = %6) bazında *S. aureus* suşları karşılaştırılırken öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik bir test olan Kruskal Wallis testi kullanılmıştır ve değerler arasındaki fark Kruskal Wallis testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=8,12 \times 10^{-4}$).

Kruskal Wallis testi sonrasında uygulanan Dunn post-hoc testinin sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 4.16’da verilmiştir.

Tablo 4.16 *S. aureus* suşları için FD-14 bazında karşılaştırma

	FD14-S1	FD14-S2	FD14-S3
FD14-S2	0,1442		
FD14-S3	0,0028	0,0001	
FD14-S4	0,0826	0,0072	0,0826

Şekil 4.26’da, aynı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonunun *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.16’daki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.26 *S. aureus* suşları bazında FD-14 değerlerinin karşılaştırması

4.4.4 FD-5 (Sıcaklık = 30°C, pH =5,0 ve NaCl = %2) Bazında Karşılaştırma

FD-5 (Sıcaklık = 30°C, pH =5,0 ve NaCl = %2) bazında *S. aureus* suşları karşılaştırılırken öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bu nedenle, gruplar arası

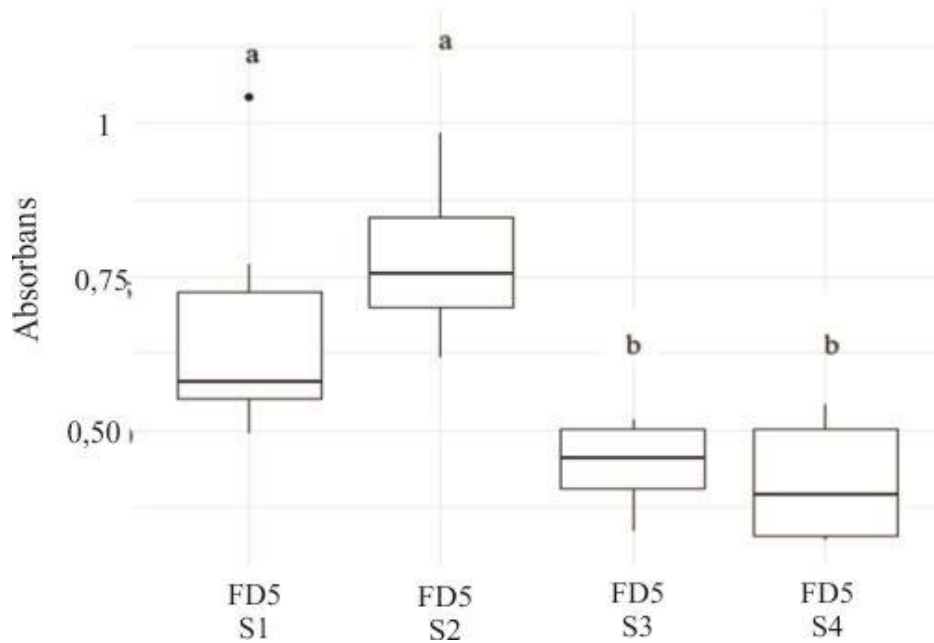
karşılaştırmalar için parametrik bir test olan ANOVA testi kullanılmıştır ve değerler arasındaki fark ANOVA testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=3,29 \times 10^{-4}$).

ANOVA testi sonrasında uygulanan Tukey post-hoc testinin sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 4.17’de verilmiştir.

Tablo 4.17 *S. aureus* suşları için FD-5 bazında karşılaştırma

	FD5-S1	FD5-S2	FD5-S3
FD5-S2	0,5183		
FD5-S3	0,0466	0,0022	
FD5-S4	0,0213	0,0009	0,9820

Şekil 4.27’de, aynı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonunun *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.17’deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.27 *S. aureus* suşları bazında FD-5 değerlerinin karşılaştırması

4.4.5 FD-23 (Sıcaklık = 30°C, pH =7,0 ve NaCl = %10) Bazında Karşılaştırma

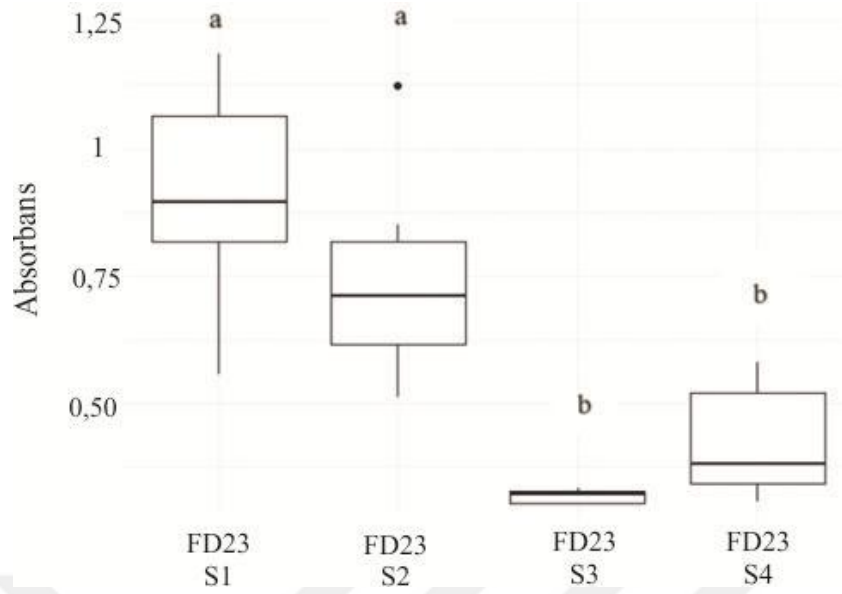
FD-23 (Sıcaklık = 30°C, pH =7,0 ve NaCl = %10) bazında *S. aureus* suşları karşılaştırılırken öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için parametrik bir test olan Kruskal Wallis testi kullanılmıştır ve değerler arasındaki fark Kruskal Wallis testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=5,67 \times 10^{-4}$).

Kruskal Wallis testi sonrasında uygulanan Dunn post-hoc testinin sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 4.18’de verilmiştir.

Tablo 4.18 *S. aureus* suşları için FD-23 bazında karşılaştırma

	FD23-S1	FD23-S2	FD23-S3
FD23-S2	0,2567		
FD23-S3	0,0001	0,0010	
FD23-S4	0,0067	0,0345	0,1027

Şekil 4.28’de, aynı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonunun *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.18’deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.28 *S. aureus* suşları bazında FD-23 değerlerinin karşılaştırması

4.4.6 FD-17 (Sıcaklık = 30°C, pH =9,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma

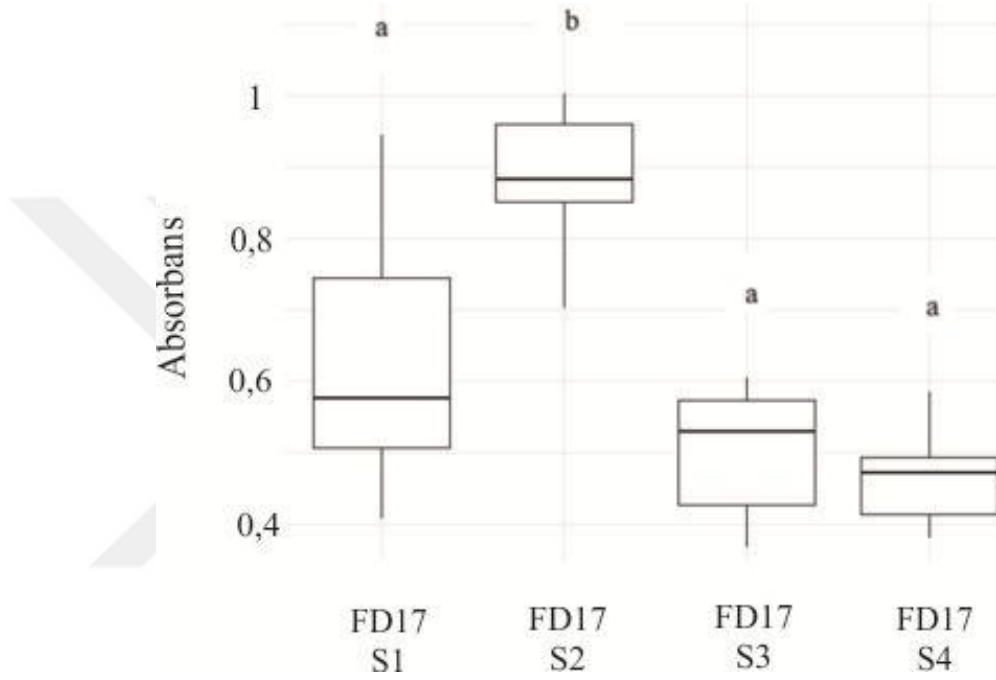
FD-17 (Sıcaklık = 30°C, pH =9,0 ve NaCl = %6) bazında *S. aureus* suşları karşılaştırılırken öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların da homojen olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için parametrik bir test olan ANOVA testi kullanılmıştır ve değerler arasındaki fark ANOVA testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=7,24 \times 10^{-5}$).

ANOVA testi sonrasında uygulanan Tukey post-hoc testinin sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 4.19’da verilmiştir.

Tablo 4.19 *S. aureus* suşları için FD-17 bazında karşılaştırma

	FD17-S1	FD17-S2	FD17-S3
FD17-S2	0,0151		
FD17-S3	0,3332	0,0003	
FD17-S4	0,1602	0,0001	0,9676

Şekil 4.29’da, aynı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonunun *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.19’daki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.29 *S. aureus* suşları bazında FD-17 değerlerinin karşılaştırması

4.4.7 FD-15 (Sıcaklık = 40°C, pH =7,0 ve NaCl = %6) Bazında Karşılaştırma

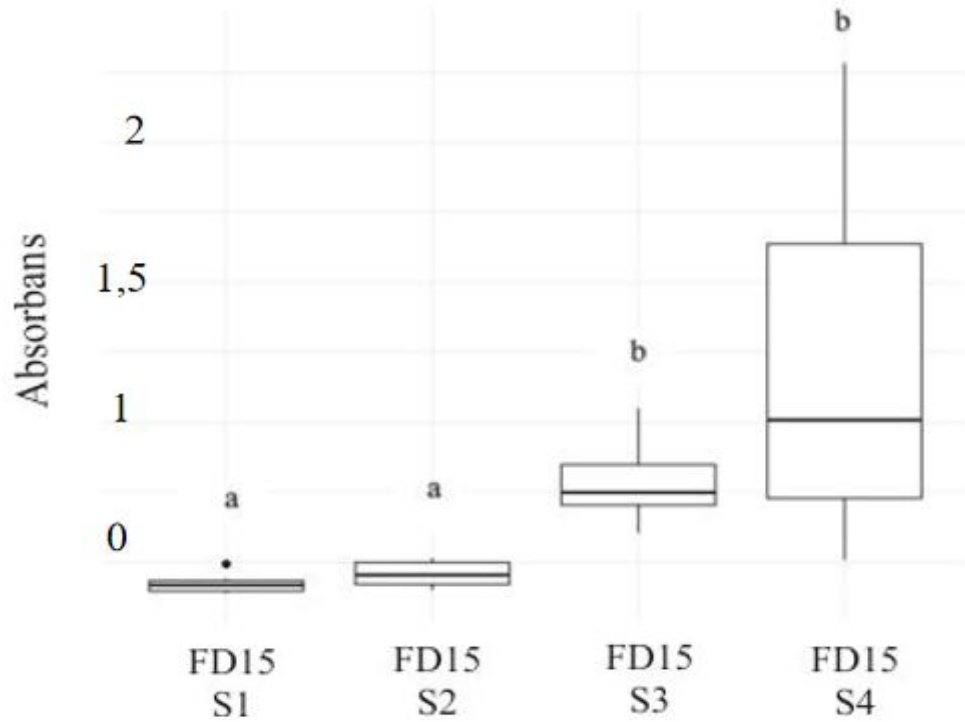
FD-15 (Sıcaklık = 40°C, pH =7,0 ve NaCl = %6) bazında *S. aureus* suşları karşılaştırılırken öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım gösterip göstermedikleri incelenmiş ve verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$). Ardından Bartlett testi ile varyans homojenliği test edilmiş ve varyansların homojen olmadığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu nedenle, gruplar arası karşılaştırmalar için non-parametrik bir test olan Kruskal Wallis testi kullanılmıştır ve değerler arasındaki fark Kruskal Wallis testi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=5,30 \times 10^{-4}$).

Kruskal Wallis testi sonrasında uygulanan Dunn post-hoc testinin sonucunda elde edilen p değerleri Tablo 4.20’de verilmiştir.

Tablo 4.20 *S. aureus* suşları için FD-15 bazında karşılaştırma

	FD15-S1	FD15-S2	FD15-S3
FD15-S2	0,2190		
FD15-S3	0,0011	0,0111	
FD15-S4	0,0002	0,0031	0,3267

Şekil 4.30’da, aynı sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyon kombinasyonunun *S. aureus* suşlarında biyofilm oluşumu üzerindeki etkisini gösteren kutu grafiğinde, Tablo 4.20’deki istatistiksel analiz sonuçları harflerle gösterilmiştir. Aynı harfe sahip gruplar istatistiksel olarak benzerken, farklı harflere sahip gruplar ise istatistiksel olarak farklıdır. Bu sayede, hangi koşulların biyofilm oluşturma yeteneğini diğerlerinden farklı düzeyde etkilediği açıkça ortaya konulmuştur.



Şekil 4.30 *S. aureus* suşları bazında FD-15 değerlerinin karşılaştırması

4.5 Korelasyon Analizi

Ayrı ayrı yapılan korelasyon analizleri detaylı olarak aşağıda açıklanmıştır.

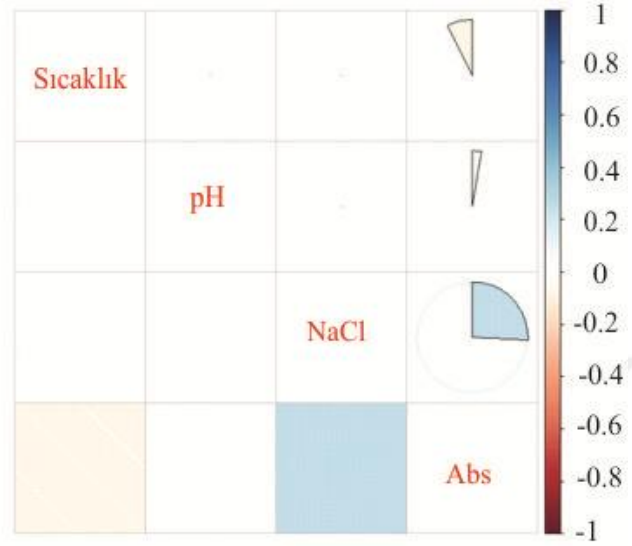
4.5.1 *S. aureus* Suşları Bazında Korelasyon Analiz

Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu faktörlerinin biyofilm absorbansı arasındaki korelasyon bütün bakteriler için beraber incelendiğinde hiçbir parametre arasında kuvvetli bir korelasyon görülmemektedir. Fakat bakteriler ayrı ayrı değerlendirildiğinde pozitif veya negatif korelasyonlar gözlemlenmektedir. Elde edilen Pearson kat sayıları Tablo 4.21’de verilmiştir.

Tablo 4.21 Her bir *S. aureus* suşu için Pearson korelasyon katsayıları

S1	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	-0,07300313
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,02643217
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	0,25748888
Absorbans	-0,07300313	0,02643217	0,2574889	1,00000000
S2	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	-0,07393823
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,05167415
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	-0,01807149
Absorbans	-0,07393823	0,05167415	-0,01807149	1,00000000
S3	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	-0,05030753
pH	0,00000000	0,00000000	0,00000000	0,02596769
NaCl	0,00000000	1,00000000	1,00000000	-0,14482470
Absorbans	-0,05030753	0,2549677	-0,1448247	1,00000000
S4	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	0,404502396
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,121924730
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	0,007028712
Absorbans	0,4045024	0,1219247	0,007028712	1,00000000

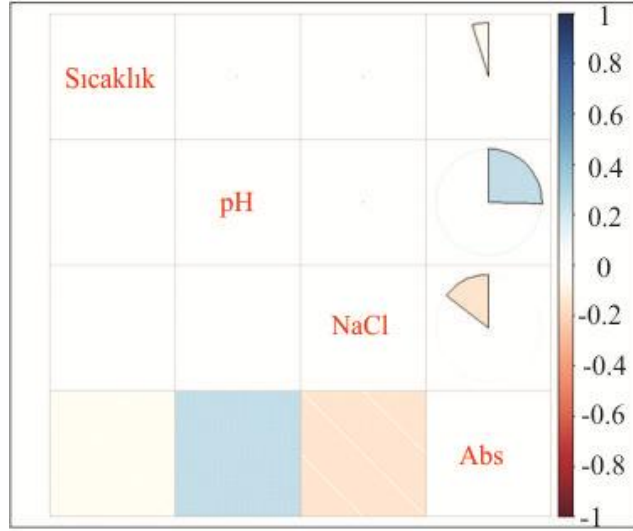
S1 suşu için elde edilen korelasyon grafiği Şekil 4.31’de, S2 suşu için elde edilen korelasyon grafiği Şekil 4.32’de, S3 suşu için elde edilen korelasyon grafiği Şekil 4.33’de ve S4 suşu için elde edilen korelasyon grafiği Şekil 4.34’te verilmiştir.



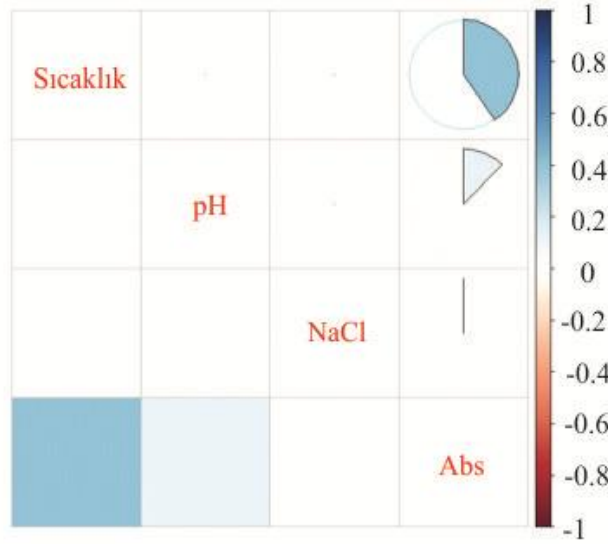
Şekil 4.31 S1 suşu için elde edilen korelasyon grafiği



Şekil 4.32 S2 suşu için elde edilen korelasyon grafiği



Şekil 4.33 S3 suşu için elde edilen korelasyon grafiği



Şekil 4.34 S4 suşu için elde edilen korelasyon grafiği

Bütün bakteri suşları için elde edilen korelasyonlardan sadece S4 bakterisinin sıcaklık ve biyofilm absorbansı arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,0079$).

4.5.2 Sefoksitin Direnci Bazında Korelasyon Analizi

Sefoksitin direnci bazında elde edilen Pearson katsayıları Tablo 4.22’de verilmiştir.

Tablo 4.22 Sefoksitin direnci bazında Pearson korelasyon katsayıları

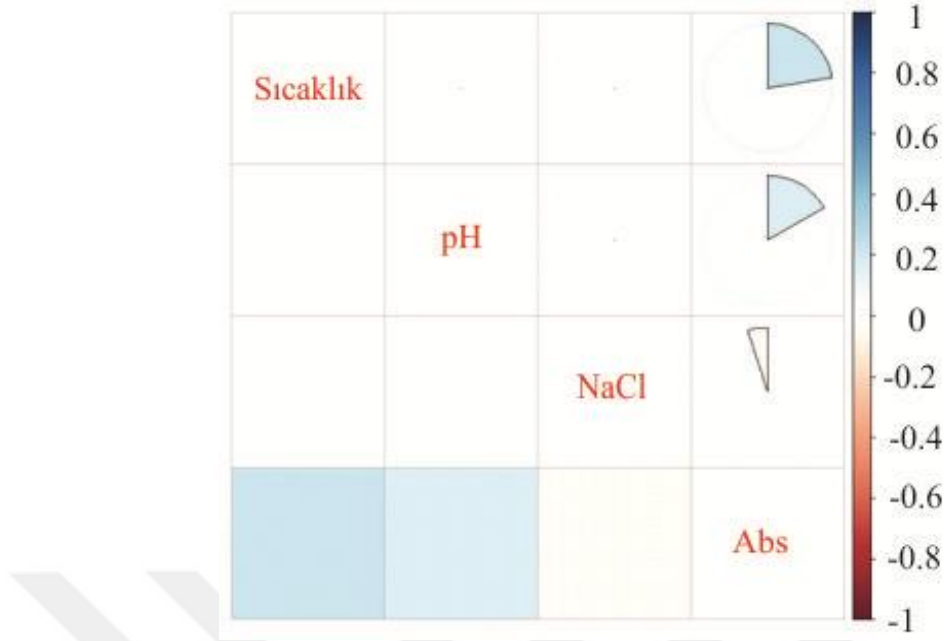
S (-)	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	-0,06908396
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,03986181
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	0,7739620
Absorbans	-0,06908396	0,03986181	0,0773962	1,00000000

S (+)	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	0,22390083
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,16701640
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	-0,04914725
Absorbans	0,2239008	0,1670164	-0,04914725	1,00000000

Sefoksitin (-) olan suşlar için korelasyon grafiği Şekil 4.35’de, Sefoksitin (+) olan suşlar için elde edilen korelasyon grafiği ise Şekil 4.36’da verilmiştir.



Şekil 4.35 Sefoksitin (-) olan suşlar için elde edilen korelasyon grafiği



Şekil 4.36 Sefoksitin (+) olan suşlar için elde edilen korelasyon grafiği

Bu kolerasyonlardan sadece Sefoksitin (+) olduğu durumda sıcaklık ve absorbans arasındaki kolerasyon istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulunmuştur ($p=0,0406$).

4.5.3 Oksasilin Direnci Bazında Korelasyon Analizi

Tez çalışmasında kullanılan *S. aureus* suşlarından Sefoksitin (-) olanlar aynı zamanda oksasilin duyarlıdır. Benzer şekilde, Sefoksitin (+) olanlar da oksasilin direncine sahiptir. Dolayısıyla, yukarıda Sefoksitin (-) olan suşlar için söylenenler oksasilin duyarlılar için de geçerli; Sefoksitin (+) olan suşlar için söylenenler oksasilin duyarlılar için de geçerlidir.

Bu sebeple kolerasyonlardan sadece Oksasilin R olduğu durumda sıcaklık ve absorbans arasındaki kolerasyon istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulunmuştur ($p=0,0406$).

4.5.4 Levofloksasin Direnci Bazında Korelasyon Analizi

Levofloksasin direnci bazında elde edilen Pearson katsayıları Tablo 4.23’de verilmiştir.

Tablo 4.23 Levofloksasin direnci bazında Pearson korelasyon katsayıları

L (I)	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	-0,05991943
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,08583264
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	0,02148626
Absorbans	-0,05991943	0,08583264	0,02148626	1,00000000

L (R)	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	0,404502396
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,121924730
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	0,007028712
Absorbans	0,4045024	0,1219247	0,007028712	1,000000000

Levofloksasin I olan suşlar için korelasyon grafiği Şekil 4.37’de, Levofloksasin R olan suşlar için elde edilen korelasyon grafiği ise Şekil 4.38’de verilmiştir.



Şekil 4.37 Levofloksasin I olan suşlar için korelasyon grafiği



Şekil 4.38 Levofloksasin R olan suşlar için korelasyon grafiği

Bu korelasyonlardan sadece Levofloksasin R olduğu durumda sıcaklık ve absorbans arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,0079$).

4.5.5 Tetrasiklin Direnci Bazında Korelasyon Analizi

Tetrasiklin direnci bazında elde edilen Pearson katsayıları Tablo 4.24’de verilmiştir.

Tablo 4.24 Tetrasiklin direnci bazında Pearson korelasyon katsayıları

T (R)	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	-0,05905454
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,13088954
NaCl	0,00000000	0,00000000	1,00000000	0,05923082
Absorbans	-0,05905454	0,1308895	0,05923082	1,00000000

T (S)	Sıcaklık	pH	NaCl	Absorbans
Sıcaklık	1,00000000	0,00000000	0,00000000	0,142898136
pH	0,00000000	1,00000000	0,00000000	0,080465695

Elde edilen korelasyonların hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p<0,05$).

5. TARTIŞMA

Abdallah vd. (2015) tarafından yapılan çalışmaya göre, sıcaklık *S. aureus* biyofilmleri üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. 20°C, 30°C ve 37°C'lerde 24-48 saatlik inkübasyona bırakılan *S. aureus* biyofilmlerinin nihai biyokütlesini (toplam biyofilm miktarını) büyüme sıcaklığının önemli ölçüde etkilediğine dair net bir kanıt bulunamamıştır. Ancak, ekstraselüler matris (EPS) üretimi açısından farklılıklar gözlenmiştir. 24 saatlik inkübasyonlarda matristeki protein ve karbonhidrat bileşenlerinin miktarları büyüme sıcaklığından önemli ölçüde etkilenmemiştir. Buna karşılık, 48 saatlik biyofilmlerde, büyüme sıcaklığının 20°C'den 37°C'ye yükseltilmesi, toplam matris bileşenlerinin (proteinler ve karbonhidratlar) üretimini önemli ölçüde artırmıştır.

Bu tez çalışmasında ise, farklı direnç profillerine sahip toplam dört *S. aureus* suşunun biyofilm oluşturma potansiyeli; 20°C, 30°C ve 40°C olmak üzere üç farklı sıcaklık seviyesinin yanı sıra, çeşitli pH ve NaCl konsantrasyonları altında değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, bu suşlarda biyofilm oluşumu için en ideal sıcaklığın istisnai durumlar haricinde 30°C olduğu saptanmıştır.

Arar (2015), farklı *S. aureus* MSSA suşlarında biyofilm oluşumu için pH, sıcaklık, çeşitli karbon kaynakları (sükroz, mannitol vb.) ve tuz konsantrasyonu gibi parametreleri test etmiştir. Çalışma, optimal biyofilm oluşumunun genellikle alkali pH (pH 8) ve 37°C'de gerçekleştiğini, ancak karbon kaynağı ve tuz etkilerinin suşlar arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Örneğin, MSSA10 suşunda mannitol ve tuz pozitif etki yaparken, MSSA20 suşunda optimal koşullar tuzsuz ortamda, mannitol ile 42°C'de sağlanmıştır.

Bu tez çalışmasında ise, direnç profilleri açısından farklılık gösteren dört *S. aureus* suşu üzerinde yapılan incelemelerde, tüm suşlar için en uygun biyofilm oluşumunun tespit edildiği pH değeri 7 olarak belirlenmiştir. Spesifik olarak, S1 ve S2 (MSSA) suşları için 30°C en ideal biyofilm oluşum sıcaklığıyken, S3 ve S4 (MRSA) suşları %6'lık NaCl varlığında maksimum biyofilm üretimi göstermiştir. Optimal NaCl konsantrasyonlarının ve sıcaklık gereksinimlerinin suşlar arasında değişkenlik gösterdiği saptanmıştır.

Nostro vd. (2012) çalışmasına göre, alkali pH (örneğin pH 8,5), *S. aureus*'un biyofilm oluşumunu belirgin şekilde engeller; biyofilm kütlelerinde ve ilk tutunmada önemli azalmalar görülür. Alkali ortamda hücreler yüzeylere yapışmak yerine kümeleşir ve oluşan biyofilmler yapısal olarak zayıf, daha ince ve gelişimi duraklamış olur. Bu durumun, alkali pH'nın hücre yüzeyindeki negatif yükü artırıp hidrofobikliği azaltarak ilk tutunmayı engellemesinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Bu bulgular, alkali bazlı formülasyonların bakteri kolonizasyonunu kontrol etmede potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Tango vd. (2018), *S. aureus* ATCC 13150 suşunun biyofilm oluşumunun pH ve NaCl konsantrasyonuna bağlı olduğunu bildirmiştir. En güçlü biyofilm oluşumu, optimal büyüme koşullarına yakın olan nötr pH (6,76-6,81) ve yüksek su aktivitesi (a_w 0,98-0,97) değerlerinde saptanmıştır. pH 4,0'ın altında (alt sınır $\approx$ 3,8) ve 9,0'ın üzerinde çok zayıf biyofilm oluşumu gözlenirken, yüksek NaCl konsantrasyonları da (%0,5-%20,0) hem bakteri üremesini hem de biyofilmi inhibe etmiştir. Bu bulgu, bazı önceki raporların aksine aşırı yüksek NaCl'nin inhibitör etkisini göstermektedir. Sonuç olarak, iyi bakteri büyüme koşulları (düşük gecikme süresi, yüksek büyüme hızı) ile güçlü biyofilm oluşumu arasında net bir ilişki bulunmuş, optimal pH ve NaCl'deki güçlü biyofilmin bu koşullardaki daha iyi bakteri büyümesine bağlı olduğu belirtilmiştir.

Tez çalışmamızda *S. aureus* suşları için ideal biyofilm oluşumunun tespit edildiği pH değeri 7 olarak belirlenmiştir. pH 7'nin altındaki ve pH 8'in üzerindeki koşullarda absorbans değerleri istisnai durumlar haricinde genel bir düşüş göstermektedir. Ayrıca, %2, %6 ve %10'luk NaCl konsantrasyonlarının pH ile kombinasyonları incelendiğinde, S2, S3 ve S4 suşlarının özellikle %6'luk NaCl konsantrasyonunda, S1 suşunun ise %10'luk NaCl konsantrasyonunda daha yüksek absorbans gösterdiği belirlenmiştir.

Zmantar vd. (2010), pH'ın *S. aureus*'un biyofilm oluşumunu önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Nötr pH 7'de değişken biyofilm seviyeleri gözlenirken, pH 3 gibi yüksek asidik koşullarda biyofilm oluşumu önemli ölçüde engellenmiştir. Hafif asidik (pH 5), hafif alkali (pH 9) ve yüksek alkali (pH 12) gibi bazı uç pH değerlerinde, çoğu suşta azalma görülmesine rağmen, bazı suşlarda biyofilm üretiminde artış saptanmıştır. Bu

durum, pH'ın bazı *S. aureus* suşlarında biyofilmi tetikleyen bir stres faktörü olabileceğini ve muhtemelen hücre ile yüzey arasındaki elektrostatik etkileşimleri değiştirerek yapışmayı etkilediğini düşündürmektedir.

Voronkova vd. (2010), ortam pH'ının *S. aureus* biyofilm oluşumunu (pH 4,0-8,0 aralığında) önemli ölçüde etkilediğini ve bu etkinin pH yoğunluğu ve süresine bağlı olduğunu bulmuştur. Nötr pH 7,0, maksimum hücre artışı (~9,5 log CFU/mL, 72 saat) ile optimal koşul olarak saptanmıştır. pH 6,0 ve pH 8,0'da biyofilm oluşumu devam etse de, pH 7,0'a göre daha yavaş büyüme hızları gözlenmiş (sırasıyla 135 ve 15 kat daha az hücre) ve bu değerler optimal bölgenin sınırları olarak değerlendirilmiştir. Buna karşın, pH 4,0 ve 5,0 gibi yüksek asidik koşullarda büyüme minimal kalmış, hücre sayıları pH 7,0'dakinden 13.000 kattan fazla düşük bulunmuştur. *S. aureus*'un pH değişimlerine *S. epidermidis*'ten daha dirençli olduğu, bu direncin de güçlü hücre duvarı ve ekstraselüler matrise atfedilebileceği belirtilmiştir.

Vaezi vd. (2020), pH ve NaCl konsantrasyonunun *S. aureus* biyofilm oluşumunu önemli derecede etkilediğini ve bu etkinin doğrusal olmadığını bildirmiştir. En güçlü biyofilm, bakteri büyümesi için de optimal olan nötre yakın pH'da (24 saatte 6,5; 48 saatte 6,5-7,5) gözlenirken, çok asidik (pH 3) ve çok alkali (pH 12) koşullar düşük biyofilmle sonuçlanmıştır; alkali pH'nın daha zayıf biyofilmlere yol açabileceği de eklenmiştir. NaCl konsantrasyonu incelendiğinde, düşük seviyeler biyofilmi teşvik ederken, en yüksek biyofilm %5,5 (24s) ve %6 (48s) NaCl'de elde edilmiş, ancak %6'nın üzerindeki konsantrasyonlar biyofilmi baskılamıştır.

Tez çalışmamızda *S. aureus* suşları için ideal biyofilm oluşumunun tespit edildiği pH değeri 7 olarak belirlenmiştir. pH 7'nin altındaki ve pH 8'in üzerindeki koşullarda absorbans değerleri istisnai durumlar haricinde genel bir düşüş göstermektedir. Ayrıca, %2, %6 ve %10'luk NaCl konsantrasyonlarının pH ile kombinasyonları incelendiğinde, S2, S3 ve S4 suşlarının özellikle %6'luk NaCl konsantrasyonunda, S1 suşunun ise %10'luk NaCl konsantrasyonunda daha yüksek absorbans gösterdiği belirlenmiştir.

5.1 Farklı Sıcaklık, pH ve NaCl Konsantrasyon Değerlerinin *S. aureus* Biyofilm Üretimine Etkisi

S. aureus biyofilm üretimi üzerinde sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu gibi çevresel faktörlerin etkilerini ayrıntılı bir şekilde incelemek amacıyla çeşitli regresyon modelleri kullanılmıştır.

Bu amaçla, doğrusal (linear), logaritmik, ters (inverse), kuadratik, kuadratik logaritmik, kübik, üstel ve doğrusal olmayan GAM (Genelleştirilmiş Aditif Model) gibi farklı regresyon modelleri denenmiştir. Bu modellerin kullanılması, çevresel faktörler ile biyofilm oluşumu arasındaki potansiyel ilişkilerin daha kapsamlı bir şekilde analiz edilmesine ve en uygun modelin belirlenmesine olanak tanımıştır. Regresyon analizleri ile bu çevresel faktörlerin biyofilm oluşumu üzerindeki etkilerinin yönü (pozitif veya negatif), büyüklüğü ve anlamlılığı değerlendirilerek, *S. aureus* biyofilm oluşumunu etkileyen karmaşık etkileşimlerin daha iyi anlaşılması hedeflenmiştir.

5.1.1 Faktörlerin *S. aureus* Biyofilm Üretimine Etkisini En İyi Açıklayan Regresyon Modelinin Tespiti

5.1.1.1 Doğrusal (linear) regresyon modeli

Doğrusal (linear) regresyon modeli, *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonunun etkilerini değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Analiz sonucunda, S1, S2 ve S3 suşları için bu parametrelerin hiçbirinin doğrusal regresyon modelinde anlamlı bir etkisi tespit edilememiştir ($p>0,05$). Bu durum, kullanılan suşlar için incelenen çevresel faktörlerin doğrusal bir ilişki göstermediğini düşündürmektedir.

S4 suşu için ise, sadece sıcaklık parametresinin doğrusal regresyon modelinde anlamlı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($p=0,0091$). Bu, S4 suşunun biyofilm üretiminin sıcaklıkla doğrusal bir ilişki gösterebileceğine işaret etmektedir. Ancak, bu model için hesaplanan düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri 0,1137 olarak bulunmuştur. Düzeltilmiş R-kare değeri, modelin bağımsız değişkenler tarafından açıklanan

varyansın oranını gösterir ve 0 ile 1 arasında değişir. Düşük bir R-kare değeri (0,1137), modelin verideki varyansın sadece %11,37'sini açıklayabildiği anlamına gelir. Bu nedenle, doğrusal modelin S4 suşunun biyofilm üretimini yeterince iyi açıklamadığı ve bu modelin geçerli kabul edilemeyeceği sonucuna varılmıştır. Bu durum, S4 suşunun biyofilm üretimi ile sıcaklık arasındaki ilişkinin doğrusal olmaktan ziyade daha karmaşık olabileceğini veya diğer faktörlerin de önemli rol oynayabileceğini göstermektedir.

5.1.1.2 Logaritmik regresyon modeli

Yapılan analizlerde, S1, S2 ve S3 suşları için hiçbir parametrenin logaritmik regresyon modelinde anlamlı bir etkisi tespit edilememiştir ($p>0,05$). Bu durum, bu suşlar için incelenen çevresel faktörler ile biyofilm oluşumu arasında logaritmik bir ilişkinin bulunmadığını göstermektedir.

S4 suşu için ise, yalnızca sıcaklık parametresinin logaritmik regresyon modelinde sınırda anlamlı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($p=0,0429$). Bu sonuç, S4 suşunun biyofilm üretiminin sıcaklıkla logaritmik bir ilişki gösterebileceğine işaret etmektedir. Modelin intercept değeri (modelin sabiti) için elde edilen p değeri ise 0,0604 olarak bulunmuştur. Bu değer de yine kabul edilen anlamlılık düzeyi olan 0,05'in hemen üzerinde olup, sınırda bir anlamlılık gösterdiği söylenebilir. Ancak, bu model için hesaplanan düzeltilmiş R-kare değeri 0,0626 olarak bulunmuştur. Düşük bir düzeltilmiş R-kare değeri (0,0626), modelin verideki varyansın sadece %6,26'sını açıklayabildiği anlamına gelir. Bu nedenle, logaritmik modelin S4 suşunun biyofilm üretimini yeterince iyi açıklamadığı ve bu modelin geçerli kabul edilemeyeceği sonucuna varılmıştır.

5.1.1.3 Ters (inverse) regresyon modeli

Analiz sonuçlarına göre, S1, S2 ve S4 suşları için hiçbir parametrenin ters regresyon modelinde anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu durum, incelenen çevresel

faktörler ile bu suşların biyofilm oluşumu arasında ters bir ilişkinin olmadığına işaret etmektedir.

S3 suşu için ise, yalnızca pH parametresinin ($p=0,0421$) ve model intercept değerinin (modelin sabiti) ($p=0,0322$) ters regresyon modelinde anlamlı bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, S3 suşunun biyofilm üretiminin pH ile ters bir ilişki gösterebileceğini düşündürmektedir. Ancak, bu model için elde edilen düzeltilmiş R-kare değeri 0,1074 olarak bulunmuştur. Bu değer, modelin verideki varyansın sadece %10,74'ünü açıklayabildiği anlamına gelmektedir. Bu nedenle, ters modelin S3 suşunun biyofilm üretimini yeterince iyi açıklamadığı ve bu modelin geçerli kabul edilemeyeceği sonucuna varılmıştır.

5.1.1.4 Kuadratik regresyon modeli

Kuadratik regresyon modeli, *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonunun etkilerini daha karmaşık bir şekilde (doğrusal ve kuadratik terimlerle) incelemek amacıyla kullanılmıştır. Bu model, faktörlerin hem doğrusal etkilerini hem de eğrisel (kuadratik) etkilerini hesaba katmayı amaçlamaktadır.

S1 suşu için kullanılan model sonuçlarına göre, intercept (modelin sabiti) anlamlı bulunmuştur ($p=0,0200$), bu da modelin biyofilm üretimi için bir temel değer öngördüğünü göstermektedir. S1 suşu için sıcaklık ($p=0,0014$) ve sıcaklığın karesi ($p=0,0011$) parametreleri anlamlı bulunmuştur. Bu, sıcaklığın S1 suşunun biyofilm üretimi üzerinde hem doğrusal, hem de kuadratik (eğrisel) bir etkiye sahip olduğunu gösterir. Sıcaklığın doğrusal etkisi pozitifken (0,2178), sıcaklığın karesinin etkisi negatiftir (-0,0037). Bu durum, sıcaklık arttıkça biyofilm üretiminin önce arttığını, ancak belirli bir sıcaklık değerinden sonra azalmaya başladığını düşündürmektedir. S1 suşu için pH ve pH'ın karesi parametreleri sınırda anlamlı bulunmuştur ($p=0,0542$ ve $p=0,0554$). Bu parametreler tek başına anlamlı olmasa da, modelin genelinde bir etkiye sahip olabilirler. Son olarak NaCl ve NaCl'nin karesi parametreleri anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu model için düzeltilmiş R-kare değeri 0,3111'dir. Bu değer, modelin verideki varyansın yaklaşık %31'ini açıklayabildiği anlamına gelir.

Bu, modelin S1 suşunun biyofilm üretimini orta düzeyde açıkladığını göstermektedir. Modelin p değeri 0,0033 olarak bulunmuştur. Bu sebeple, modelin genel olarak anlamlı olduğu söylenebilir.

S2 suşu için kullanılan model sonuçlarına göre, intercept, sıcaklık, pH, NaCl, sıcaklığın karesi, pH'ın karesi ve NaCl'nin karesi parametreleri anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Bu sonuç, bu faktörlerin S2 suşunun biyofilm üretimi üzerinde hem doğrusal hem de kuadratik etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Modelin düzeltilmiş R-kare değeri 0,4145 olarak bulunmuş olup; bu değer, modelin verideki varyansın yaklaşık %41'ini açıklayabildiği anlamına gelmektedir. Bu sonuçlar, modelin S2 suşunun biyofilm üretimini orta düzeyde açıkladığını göstermektedir. Ayrıca modelin p değeri 0,0003 olarak bulunmuştur. Bu değer, modelin genel olarak yüksek düzeyde anlamlı olduğunu göstermektedir.

S3 suşu için kullanılan model sonuçlarına göre, intercept, sıcaklık ve sıcaklığın karesi parametreleri anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Bu sonuç, sıcaklığın S3 suşunun biyofilm üretimi üzerinde hem doğrusal, hem de kuadratik etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Sıcaklığın doğrusal etkisi negatifken (-0,2927), sıcaklığın karesinin etkisi pozitifdir (0,0048). Bu durum, sıcaklık arttıkça biyofilm üretiminin önce azaldığını, ancak belirli bir sıcaklık değerinden sonra artmaya başladığını düşündürmektedir. Modelin düzeltilmiş R-kare değeri 0,7677'dir. Bu değer, modelin verideki varyansın yaklaşık %77'sini açıklayabildiği anlamına gelir. Bu, modelin S3 suşunun biyofilm üretimini oldukça iyi açıkladığını göstermektedir. Modelin p değeri ise $6,03 \times 10^{-11}$ olarak bulunmuştur. Bu değer, modelin genel olarak yüksek düzeyde anlamlı olduğunu göstermektedir.

Son olarak, S4 suşu için kullanılan model sonuçlarına göre, sıcaklık ve sıcaklığın karesi parametreleri anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$). Bu sonuç, sıcaklığın S4 suşunun biyofilm üretimi üzerinde hem doğrusal, hem de kuadratik etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Sıcaklığın doğrusal etkisi negatifken (-0,2415), sıcaklığın karesinin etkisi pozitifdir (0,0045). Bu durum, sıcaklık arttıkça biyofilm üretiminin önce azaldığını, ancak belirli bir sıcaklık değerinden sonra artmaya başladığını düşündürmektedir. Modelin düzeltilmiş R-kare değeri ise 0,4747 olarak bulunmuştur.

Bu değer, modelin verideki varyansın yaklaşık %47'sini açıklayabildiği anlamına gelir. Bu, modelin S4 suşunun biyofilm üretimini orta düzeyde açıkladığını göstermektedir. Modelin p değeri $4,81 \times 10^{-5}$ olarak bulunmuştur. Bu değer, modelin genel olarak anlamlı olduğunu gösterir.

Kuadratik regresyon modeli, *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonunun etkilerini farklı düzeylerde açıklamaktadır. Model, S3 suşu için en iyi performansı gösterirken, S1 ve S2 suşları için daha düşük açıklayıcılığa sahiptir. Sıcaklık, tüm suşlar için önemli bir faktör olarak öne çıkarken, pH ve NaCl'nin etkisi suşa göre değişiklik göstermektedir. Bu sonuçlar, *S. aureus* biyofilm oluşumunun karmaşık bir süreç olduğunu ve çevresel faktörlerin etkisinin suşa, dolayısıyla direnç profillerine göre farklılık gösterebileceğini vurgulamaktadır.

5.1.1.5 Kuadratik logaritmik regresyon modeli

Bu modelde, biyofilm üretiminin logaritması ($\log(\text{Abs})$) bağımlı değişken olarak alınmış ve bağımsız değişkenler olarak sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu ve bunların kuadratik terimleri kullanılmıştır. Modelin amacı, faktörler ile biyofilm üretimi arasındaki doğrusal ve eğrisel ilişkileri daha iyi ortaya çıkarmaktır.

S1 suşu için, model sonuçlarına göre intercept ($p=0,0174$) ve sıcaklık ($p=0,0016$) anlamlı bulunmuştur. Sıcaklığın karesi de ($p=0,0012$) anlamlıdır. Bu durum, sıcaklığın S1 suşunun biyofilm üretimi üzerinde hem doğrusal, hem de kuadratik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Modelin düzeltilmiş R-kare değeri 0,3416 olarak bulunmuştur; bu da modelin verideki varyansın yaklaşık %34'ünü açıklayabildiği anlamına gelir. Modelin genel anlamlılığı $p=0,0017$ olarak bulunmuştur.

S2 suşu için, intercept, sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu ve bunların kuadratik terimleri anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuç, bu faktörlerin S2 suşunun biyofilm üretimi üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Modelin düzeltilmiş R-kare değeri 0,5636 olarak bulunmuştur; bu da modelin verideki varyansın yaklaşık %56'sını açıklayabildiği anlamına gelir. Modelin genel anlamlılığı $p=2,37 \times 10^{-6}$ olarak bulunmuştur.

S3 suşu için, intercept, sıcaklık ve sıcaklığın karesi anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). NaCl konsantrasyonu da anlamlı bulunmuştur ($p = 0,0338$). Bu sonuçlar, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun S3 suşunun biyofilm üretimi üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Modelin düzeltilmiş R-kare değeri 0,8251 olarak bulunmuştur; bu da modelin verideki varyansın yaklaşık %83'ünü açıklayabildiği anlamına gelir. Modelin genel anlamlılığı $p = 4,67 \times 10^{-13}$ olarak bulunmuştur.

S4 suşu için, sıcaklık ($p = 0,0016$) ve sıcaklığın karesi ($p = 0,0007$) anlamlı bulunmuştur. Bu, sıcaklığın S4 suşunun biyofilm üretimi üzerinde hem doğrusal, hem de kuadratik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Modelin düzeltilmiş R-kare değeri 0,5939 olarak bulunmuştur; bu da modelin verideki varyansın yaklaşık %59'unu açıklayabildiği anlamına gelir. Modelin genel anlamlılığı $p = 7,24 \times 10^{-7}$ olarak bulunmuştur.

Genel olarak, kuadratik logaritmik model, *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki etkileri açıklamada farklı düzeylerde başarı göstermiştir. S3 suşu için model en yüksek açıklayıcılığa sahipken, S1 suşu için daha düşük bir açıklayıcılık gözlenmiştir. Bu durum, *S. aureus* biyofilm oluşumunun karmaşık bir süreç olduğunu ve çevresel faktörlerin etkisinin suşa göre değişebileceğini vurgulamaktadır.

5.1.1.6 Kübik regresyon modeli

Kübik model, kuadratik modelden farklı olarak ek bir açıklayıcı bilgi sağlamamıştır; her iki model de aynı sonuçları vermiştir.

5.1.1.7 Üstel regresyon modeli

Üstel model analizinde, S1 ve S2 suşları için biyofilm üretimini etkileyen anlamlı bir parametre tespit edilememiştir. S3 suşu için pH'ın ($p < 0,05$; düzeltilmiş $R^2 = 0,1052$), S4 suşu için ise sıcaklığın ($p < 0,05$, düzeltilmiş $R^2 = 0,0960$) etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak, her iki suş için de düzeltilmiş R-kare değerleri oldukça düşüktür; bu durum, üstel modelin bu suşların biyofilm üretimini yeterince açıklamadığını göstermektedir.

5.1.1.8 Doğrusal olmayan GAM regresyon modeli

Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM), doğrusal olmayan ilişkileri modelleyebilen esnek bir yaklaşımdır. Bu modelde, hem düzeltilmiş (smooth) terimler, hem de kuadratik terimler kullanılmıştır. Bu yaklaşım, faktörlerin karmaşık etkilerini daha iyi yakalamayı amaçlamaktadır.

GAM modeli, farklı *S. aureus* suşları için farklı derecelerde başarı göstermiştir. Modelin performansı, açıklanan varyans (deviance explained) ve düzeltilmiş R-kare değerleri ile değerlendirilmiştir. Ayrıca, modeldeki parametrelerin ve düzeltilmiş terimlerin anlamlılık düzeyleri de dikkate alınmıştır.

Model, S1 suşu için orta düzeyde bir açıklayıcılığa sahiptir (düzeltilmiş R-kare = 0,3420; Deviance explained=%43,8). Parametrik katsayılardan yalnızca intercept ($p=0,0667$) ve sıcaklığın karesi ($p=0,0118$) anlamlı bulunmuştur. Düzeltilmiş terimlerden ise sıcaklık ($p=0,0141$) anlamlı bulunmuştur. pH ($p=0,2425$) ve NaCl ($p=0,8306$) anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, sıcaklığın S1 suşunun biyofilm üretimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu, ancak bu etkinin doğrusal olmadığını (düzeltilmiş terim) ve aynı zamanda kuadratik bir bileşene sahip olduğunu göstermektedir. pH ve NaCl'nin ise S1 suşunun biyofilm üretimi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı söylenebilir.

Model, S2 suşu için orta düzeyde bir açıklayıcılığa sahiptir (düzeltilmiş R-kare = 0,5640; Deviance explained = %62,7). Parametrik katsayılardan intercept, sıcaklığın karesi ($p=7,71 \times 10^{-7}$), pH'nın karesi ($p=0,0074$) ve NaCl'nin karesi ($p=0,0011$) anlamlı bulunmuştur. Düzeltilmiş terimlerden ise sıcaklık ($p=1,32 \times 10^{-6}$), pH ($p=0,0069$) ve NaCl ($p=0,0016$) anlamlı bulunmuştur. Bu sonuçlar, sıcaklık, pH ve NaCl'nin S2 suşunun biyofilm üretimi üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Bu faktörlerin hem doğrusal olmayan etkileri (düzeltilmiş terimler) hem de kuadratik etkileri (kuadratik terimler) anlamlı bulunmuştur.

Model, S3 suşu için yüksek düzeyde bir açıklayıcılığa sahiptir (düzeltilmiş R-kare = 0,8250, Deviance explained = %85,1). Parametrik katsayılardan yalnızca intercept ve sıcaklığın karesi ($p=1,78 \times 10^{-8}$) anlamlı bulunmuştur. Düzeltilmiş terimlerden sıcaklık

($p < 2 \times 10^{-16}$) yüksek düzeyde anlamlı bulunmuştur. pH ($p = 0,3765$) ve NaCl ($p = 0,0761$) anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, sıcaklığın S3 suşunun biyofilm üretimi üzerinde baskın bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Sıcaklığın hem doğrusal olmayan etkileri (düzeltilmiş terim), hem de kuadratik etkisi (kuadratik terim) anlamlı bulunmuştur.

Son olarak model, S4 suşu için orta düzeyde bir açıklayıcılığa sahiptir (düzeltilmiş R-kare = 0,5940, Deviance explained = %65,3). Parametrik katsayılarından yalnızca sıcaklığın karesi ($p = 0,0007$) anlamlı bulunmuştur. Düzeltilmiş terimlerden sıcaklık ($p = 0,0017$) anlamlı bulunmuştur. pH ($p = 0,4116$) ve NaCl ($p = 0,5638$) anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, sıcaklığın S4 suşunun biyofilm üretimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu, ancak bu etkinin doğrusal olmadığını (düzeltilmiş terim) ve aynı zamanda kuadratik bir bileşene sahip olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, GAM modeli, *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki etkileri açıklamada genel olarak başarılı olmuştur. Model, özellikle S3 suşu için yüksek düzeyde bir açıklayıcılığa sahipken, S1 suşu için daha düşük bir performans göstermiştir. Ancak yine de uygulanan diğer modellere göre daha yüksek bir açıklayıcılığa sahiptir. Sıcaklık, tüm suşlar için önemli bir faktör olarak öne çıkarken, pH ve NaCl'nin etkisi suşa göre değişiklik göstermektedir. Düzeltilmiş terimlerin anlamlılığı, faktörlerin biyofilm üretimi üzerindeki etkilerinin doğrusal olmadığını ve karmaşık etkileşimlerin söz konusu olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, *S. aureus* biyofilm oluşumunun karmaşık bir süreç olduğunu ve çevresel faktörlerin etkisinin suşa göre farklılık gösterebileceğini vurgulamaktadır.

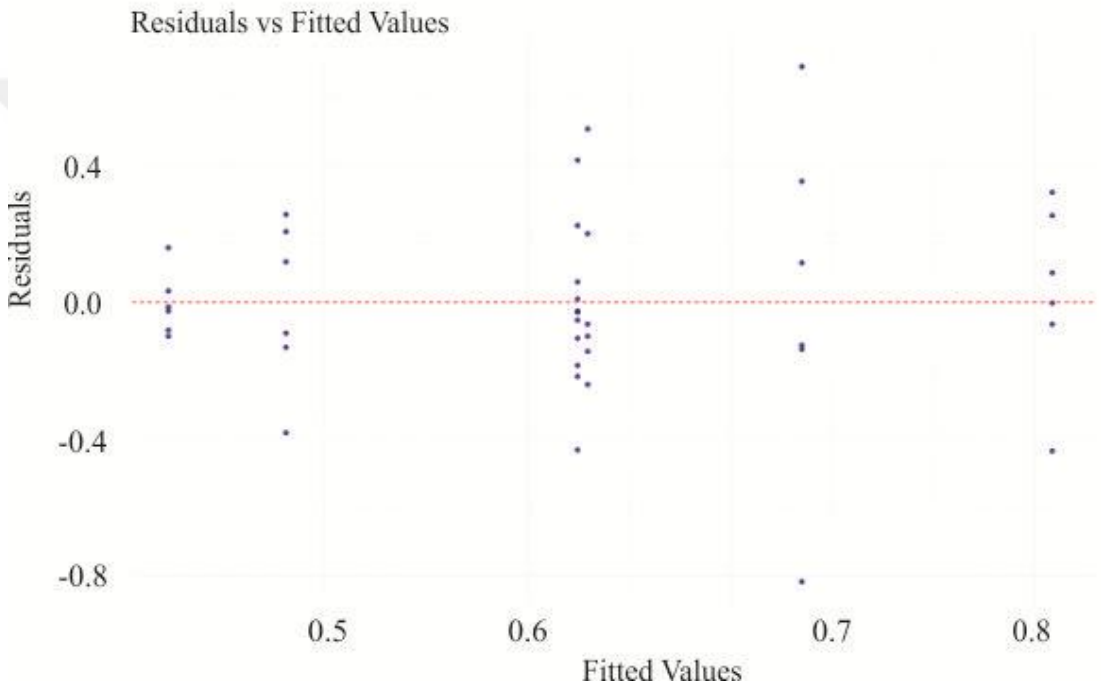
Bütün modellerin düzeltilmiş R-kare değerlerine bakıldığında sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu gibi çevresel faktörlerin *S. aureus* biyofilmine etkisini açıklayabilmek için GAM modeli seçilmiştir.

5.1.2 Bakteri Tipine Göre GAM Modeli ile Elde Edilen Sonuçlar

5.1.2.1 S1 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar

Yukarıda detaylı bir şekilde açıklandığı üzere sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu gibi çevresel faktörlerin *S. aureus* biyofilmine etkisini açıklayabilmek için GAM modelinin kullanılmasına karar verilmiştir.

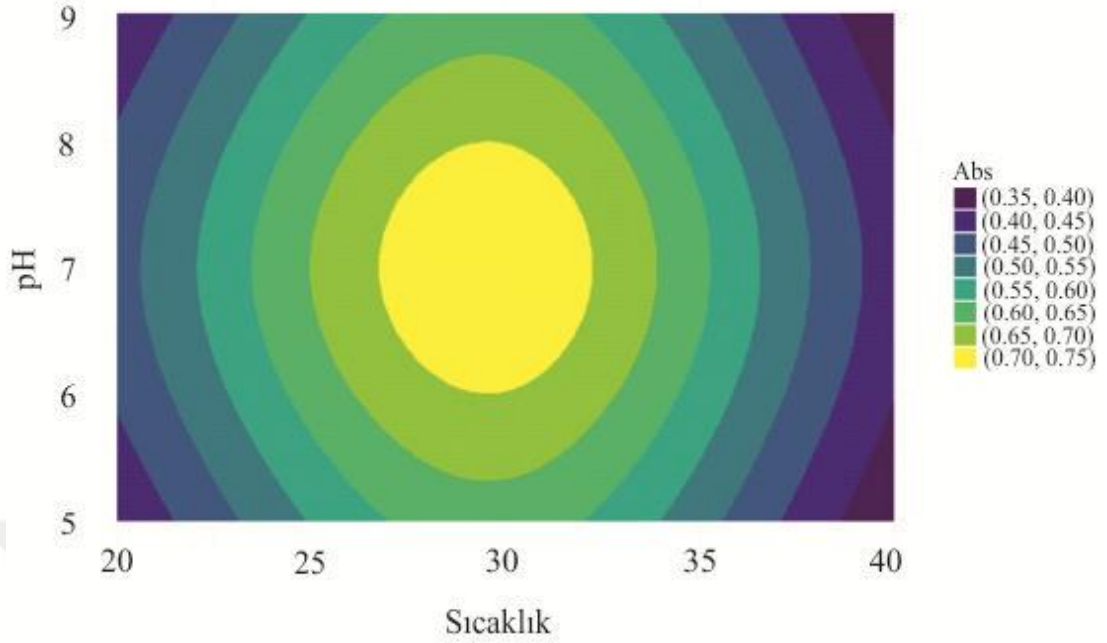
Genelleştirilmiş Aditif Modelinin (GAM) S1 suşu için uyum iyiliğini değerlendirmek amacıyla çizilen artık değerler grafiği (residual grafiği) Şekil 5.1’de sunulmuştur. Bu grafik, modelin hatalarının rastgele dağılıp dağılmadığını ve herhangi bir sistematik örüntü olup olmadığını görsel olarak göstermektedir.



Şekil 5.1 Artıklar ve tahmin edilen değerler

S1 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin ikili etkileşimleri Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) kullanılarak incelenmiştir.

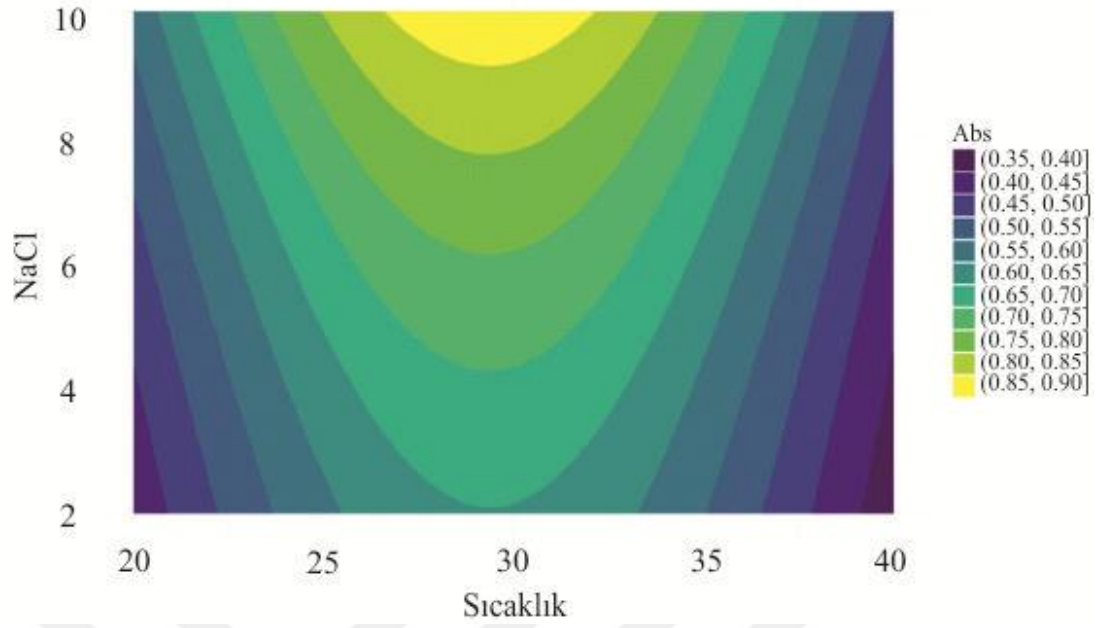
Şekil 5.2’de sunulan kontur grafiği, pH ve sıcaklığın S1 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki ortak etkisini görselleştirmektedir.



Şekil 5.2 Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği

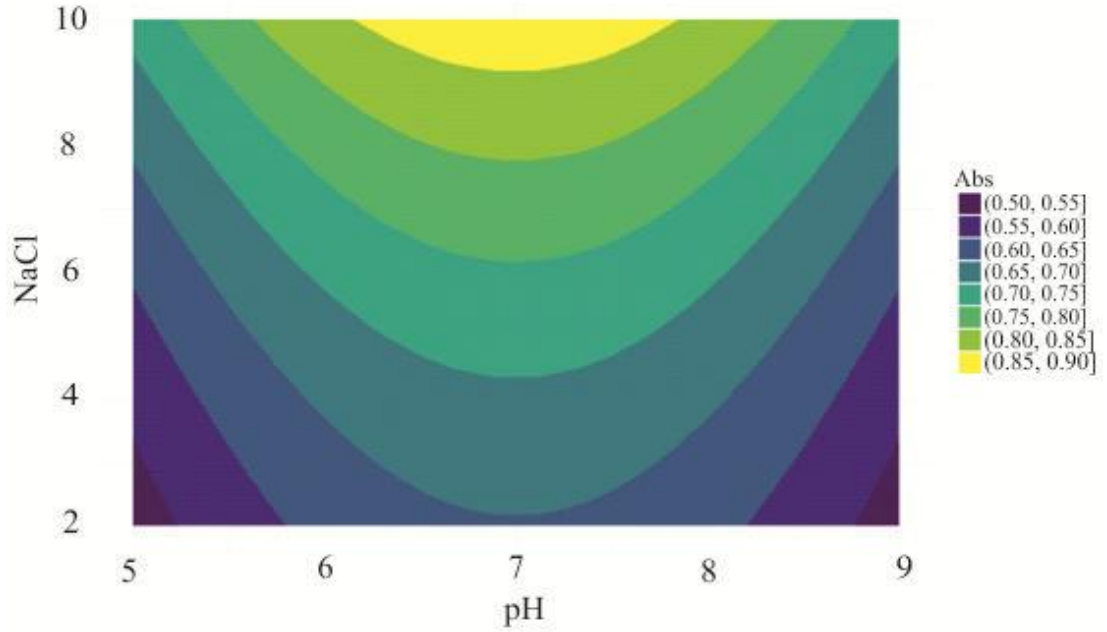
Şekil 5.2, farklı pH ve sıcaklık kombinasyonlarında suşun oluşturduğu biyofilm miktarının nasıl değiştiğini göstermektedir. Konturlar, belirli bir biyofilm miktarına sahip pH ve sıcaklık değerlerini birleştirerek, biyofilm koşulları için en uygun bölgeleri vurgulamaktadır.

Şekil 5.3'te gösterilen kontur grafiği, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun S1 suşunun oluşturduğu biyofilm miktarı üzerindeki etkisini incelemektedir.



Şekil 5.3 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun kontur grafiği

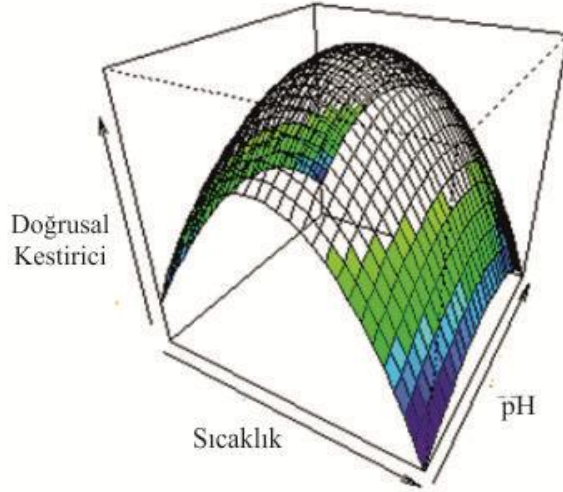
Şekil 5.4'te sunulan kontur grafiği, NaCl konsantrasyonu ve pH'nın S1 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki ortak etkisini göstermektedir.



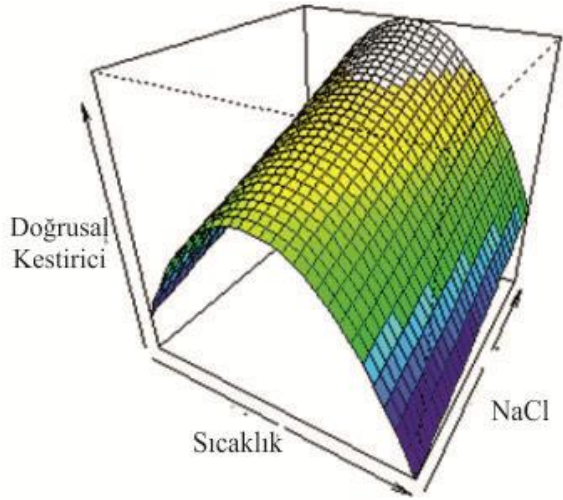
Şekil 5.4 NaCl ve pH'nın kontur grafiği

Kontur grafiklerine ek olarak, ikili parametre etkileşimleri, daha kapsamlı bir görsel analiz sağlamak amacıyla 3 boyutlu yüzey grafikleri ile de gösterilmiştir. 3 boyutlu

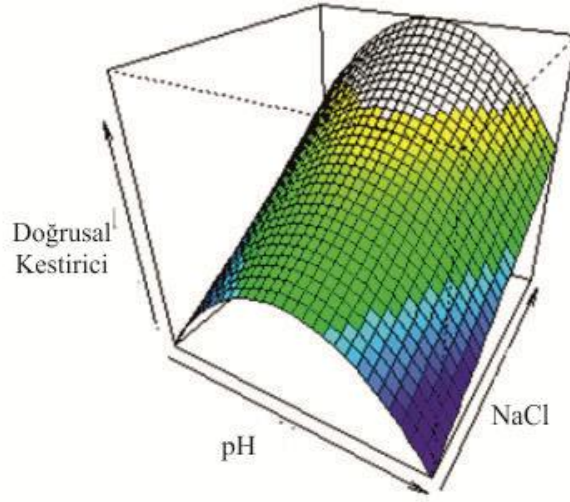
ikili etkileşimler sıcaklık-pH için Şekil 5.5, sıcaklık-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.6 ve pH-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.7’de verilmiştir.



Şekil 5.5 Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

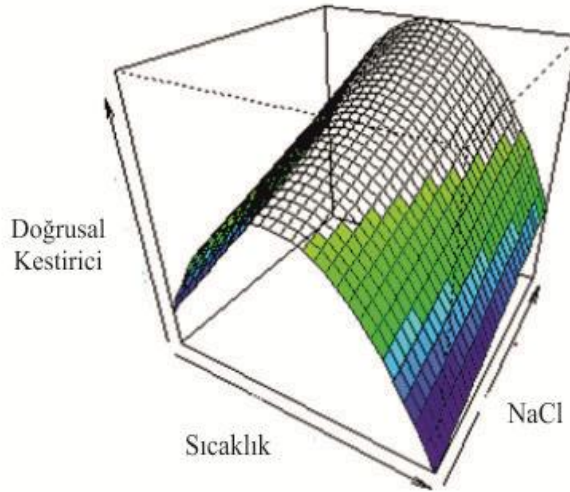


Şekil 5.6 Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

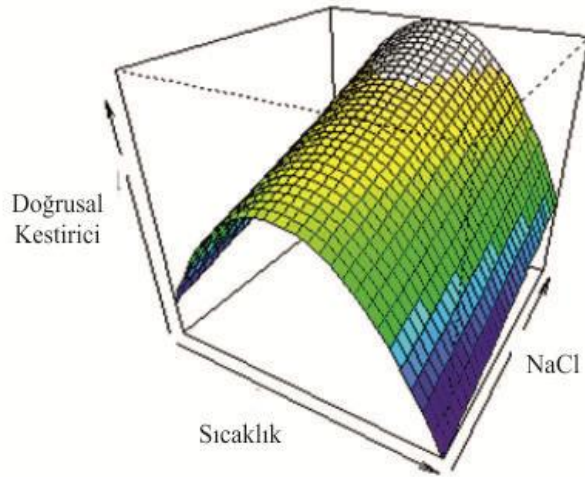


Şekil 5.7 pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

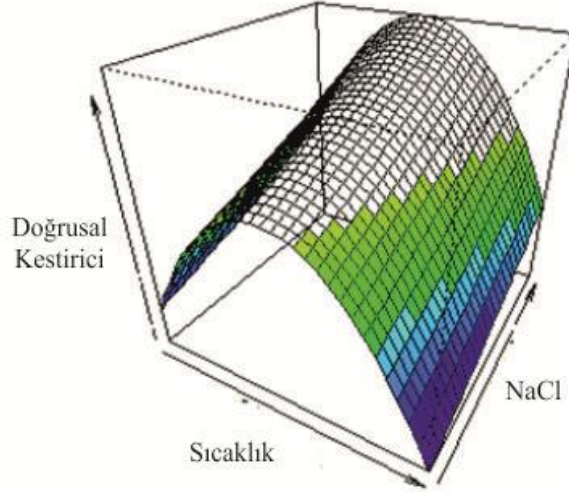
pH değeri 5 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.8’de, pH değeri 7 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.9’da ve pH değeri 9 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.10’da ’verilmiştir.



Şekil 5.8 pH=5’te sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

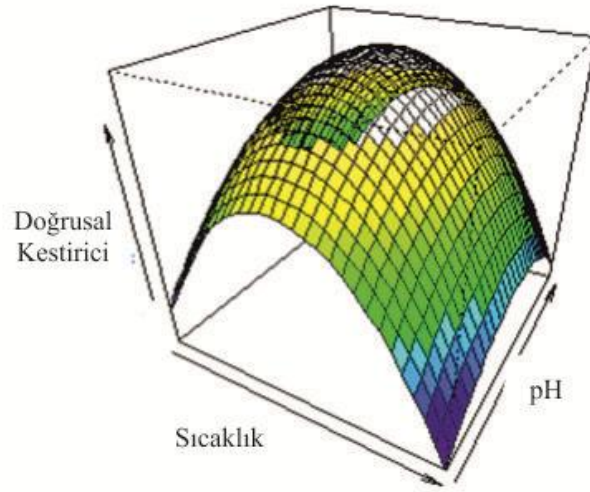


Şekil 5.9 pH=7’de sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

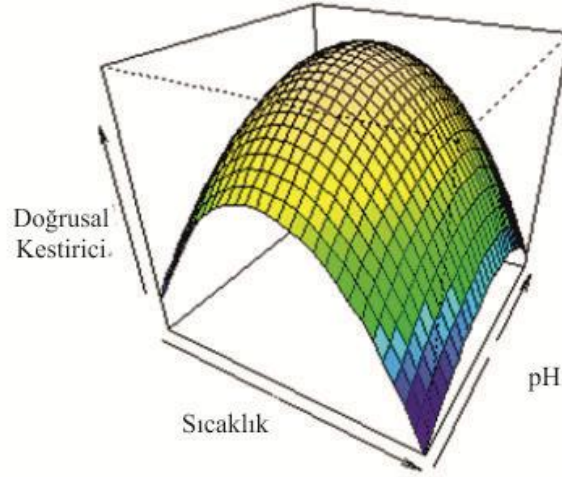


Şekil 5.10 pH=9’da sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

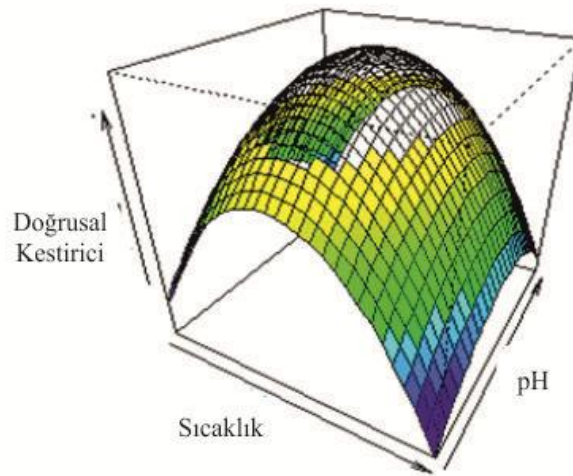
NaCl konsantrasyon %2 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.11’de, NaCl konsantrasyon %6 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.12’de ve NaCl konsantrasyon %10 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.13’de verilmiştir.



Şekil 5.11 NaCl=%2 iken sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

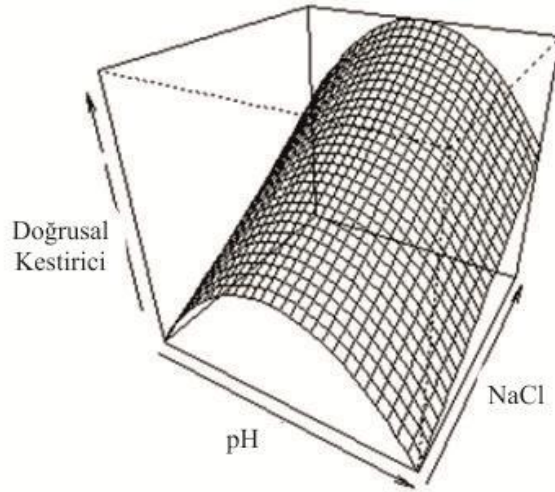


Şekil 5.12 NaCl=%6 iken sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

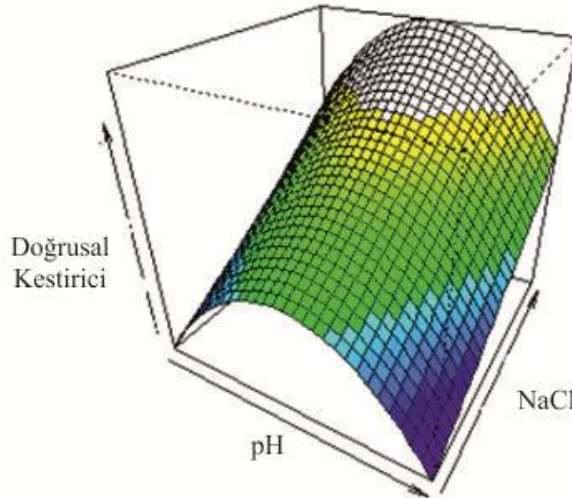


Şekil 5.13 NaCl=%10 iken sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

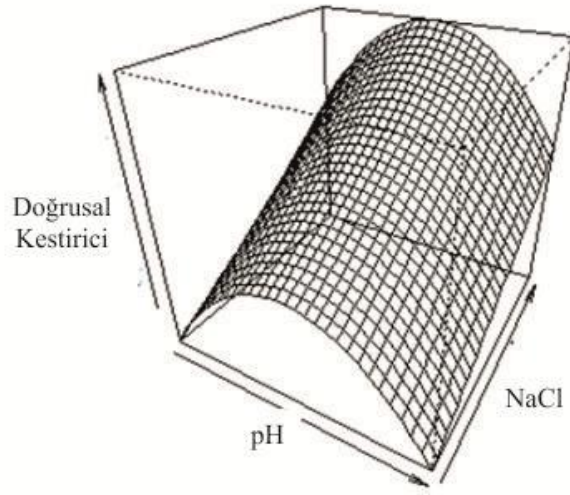
Sıcaklık 20°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.14'te, Sıcaklık 30°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.15'te ve Sıcaklık 40°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.16'da verilmiştir.



Şekil 5.14 20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



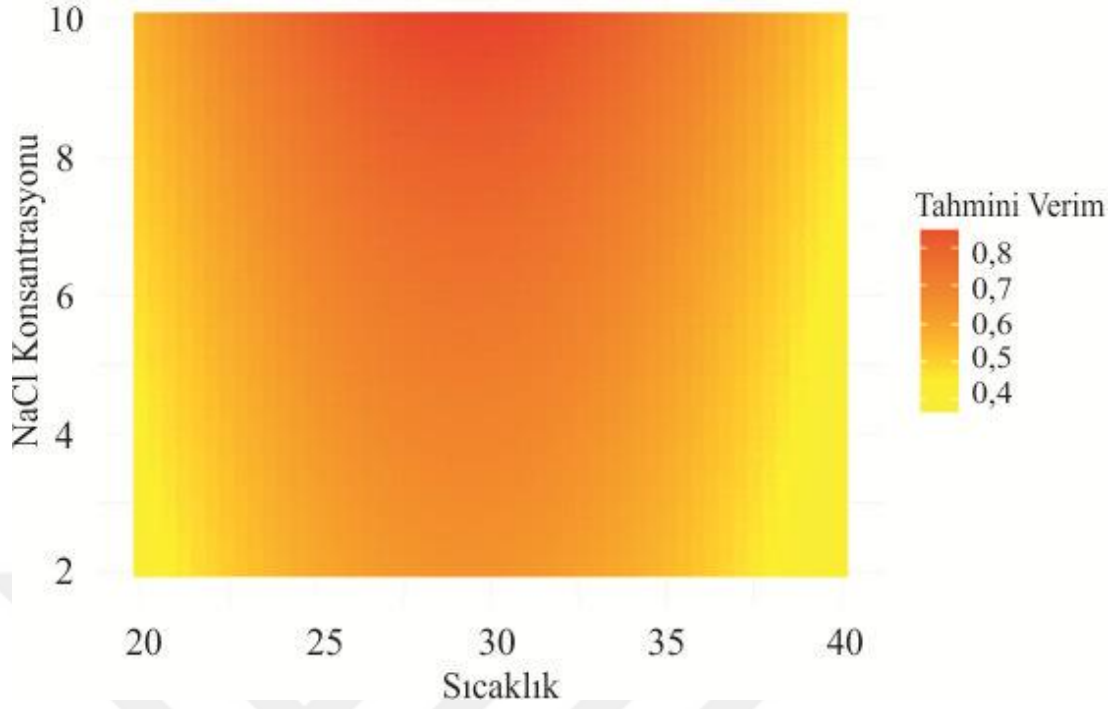
Şekil 5.15 30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



Şekil 5.16 40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

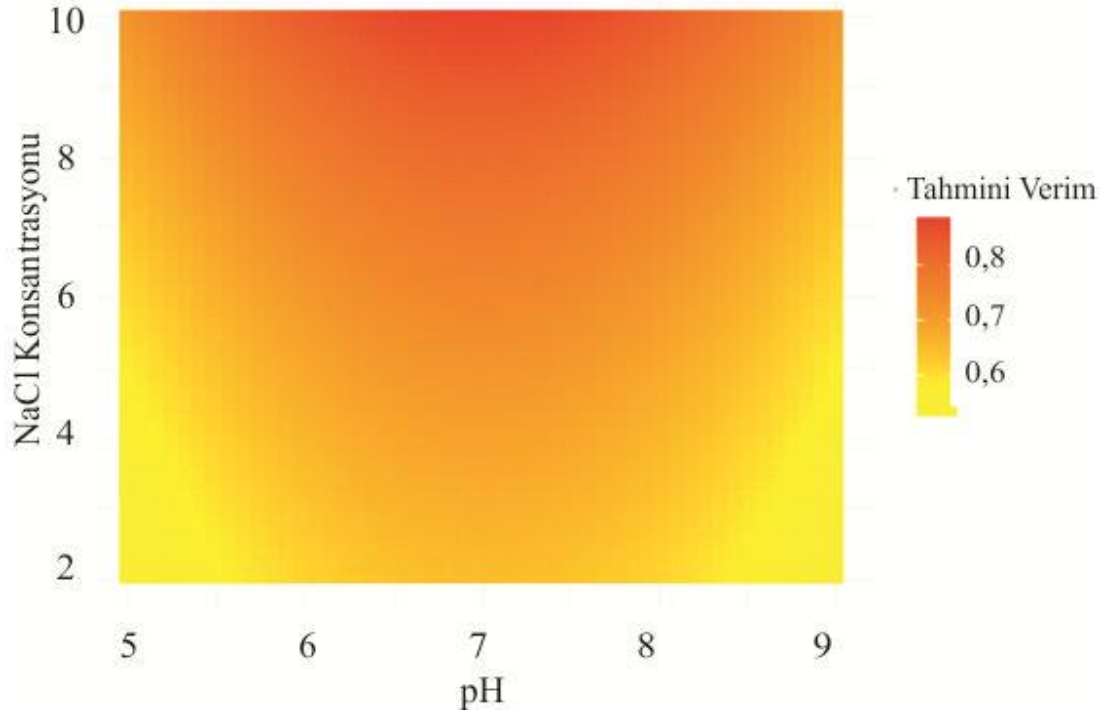
Elde edilen GAM model analizi, biyofilm oluşumu için en uygun koşulların; 29,39°C sıcaklık, %10 NaCl konsantrasyonu ve 6,96 pH değerlerinin bir araya gelmesiyle oluştuğunu göstermiştir. Modelin tahminlerine göre, bu ideal kombinasyon, yaklaşık 0,8839 absorbans değerine karşılık gelen yüksek bir biyofilm üretimi sağlayacaktır.

Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.17’de verilmiştir.



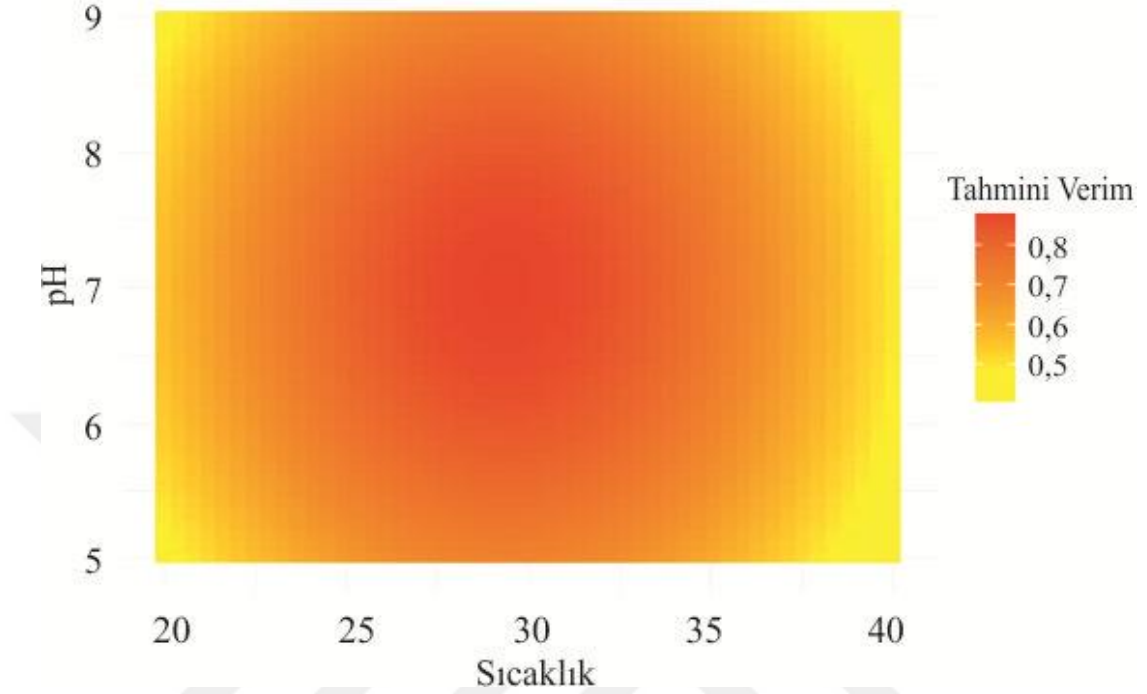
Şekil 5.17 Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.18’de verilmiştir.



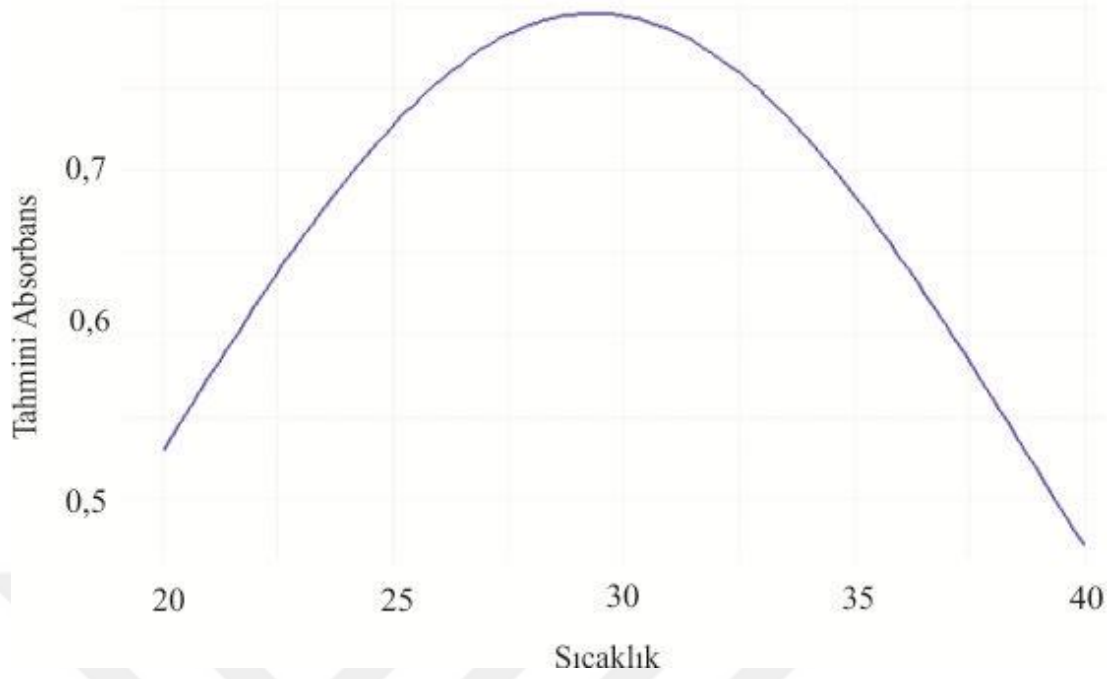
Şekil 5.18 Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği

Son olarak NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.19'da verilmiştir.



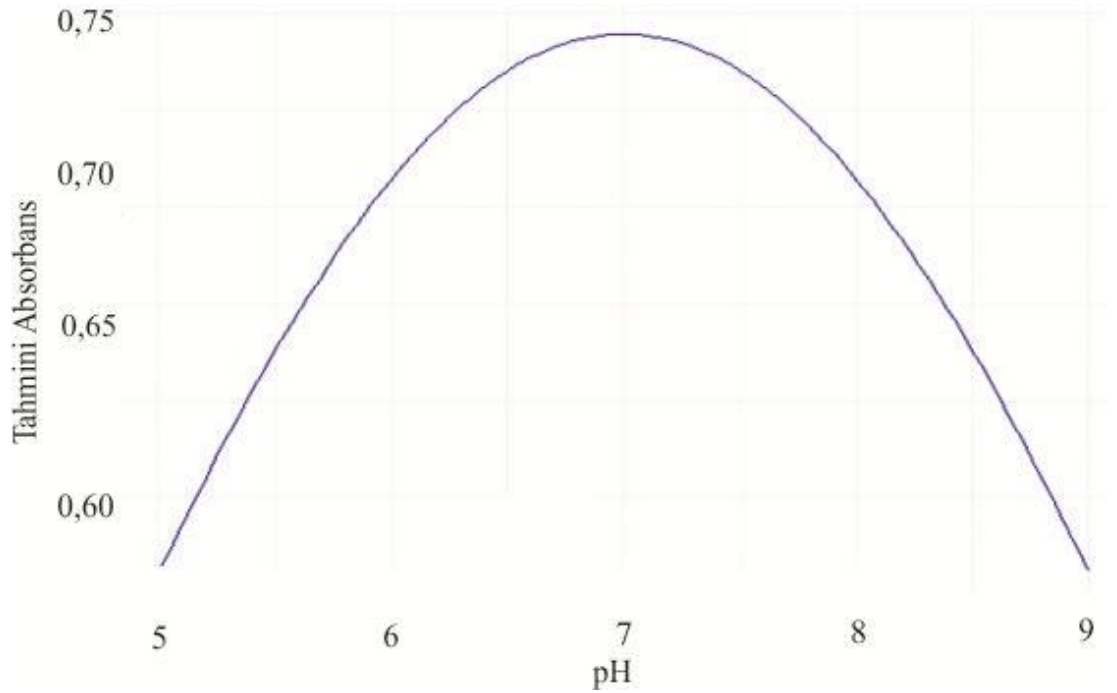
Şekil 5.19 NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Elde edilen GAM modeline göre pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.20'de verilmiştir.



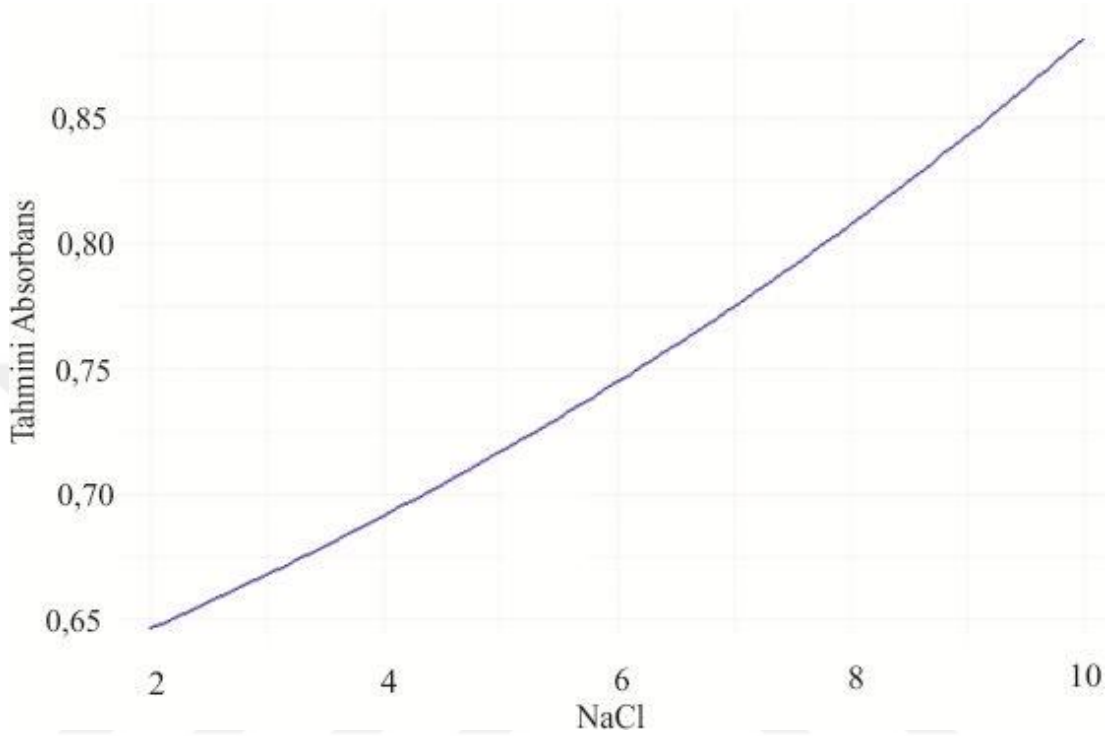
Şekil 5.20 pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

'Elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.21'de verilmiştir.



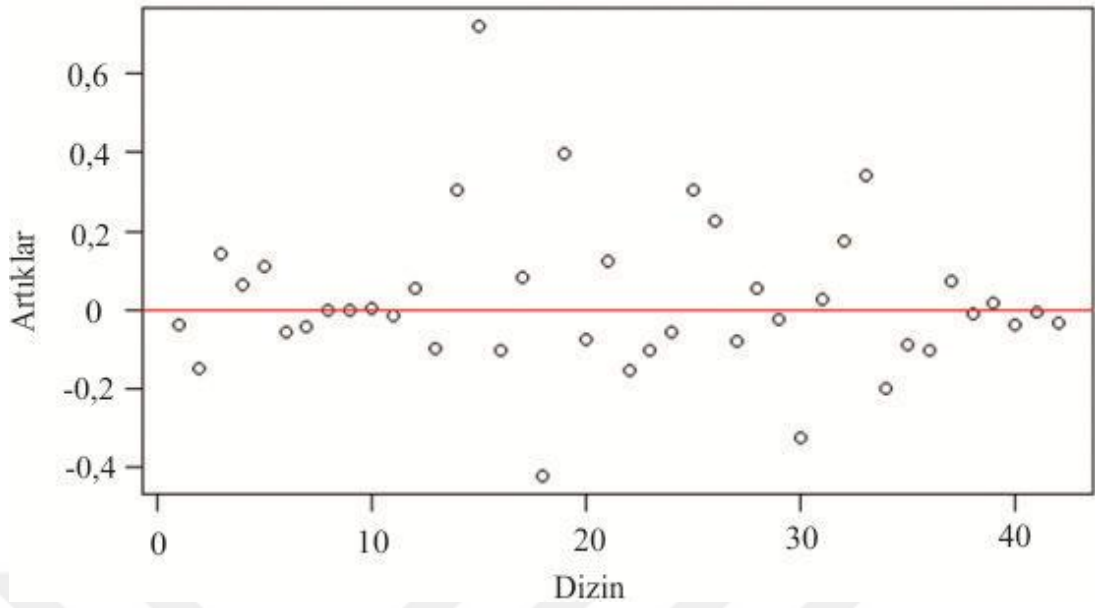
Şekil 5.21 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi '

Son olarak elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi Şekil 5.22'de verilmiştir.



Şekil 5.22 Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi '

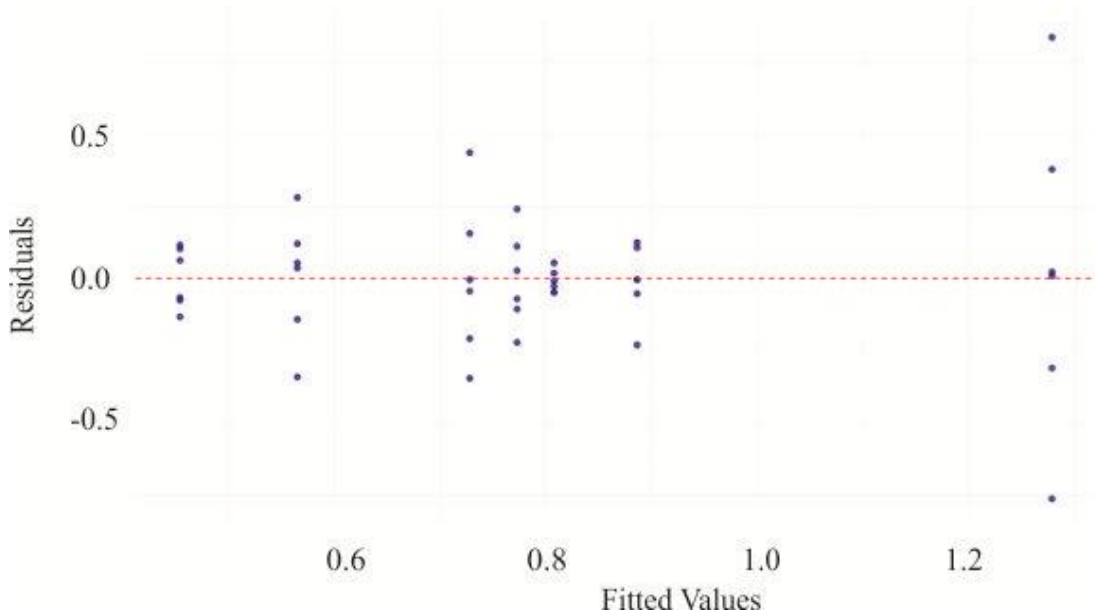
Bu etkileşimler için elde edilen artık değerler grafiği (residual grafiği) ise Şekil 5.23'de gösterilmektedir.



Şekil 5.23 S1 GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)

5.1.2.2 S2 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar

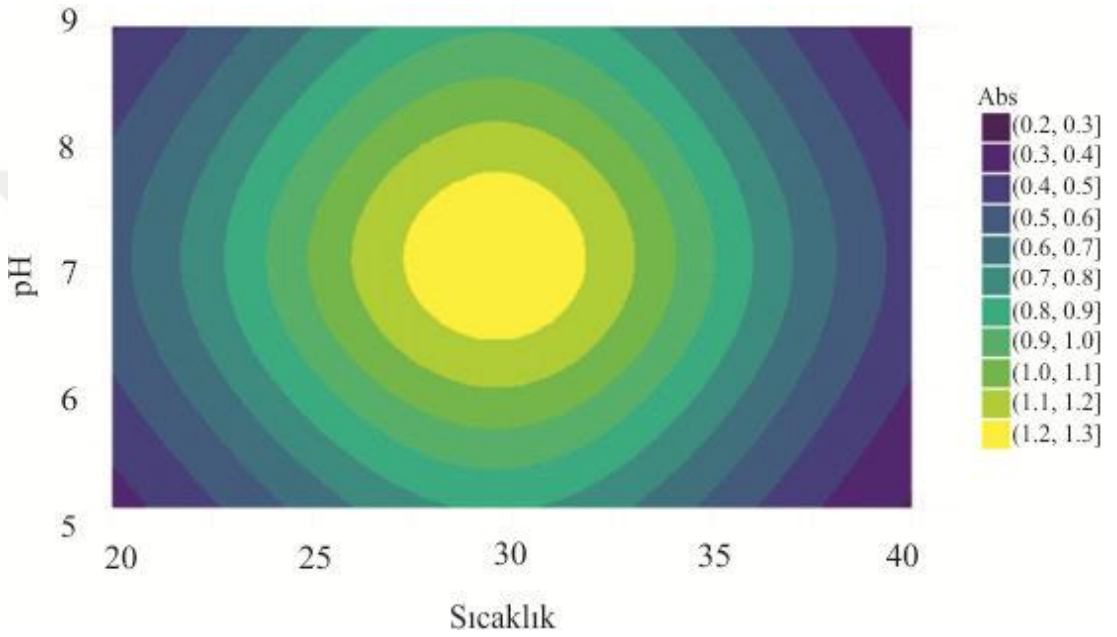
Genelleştirilmiş Aditif Modelinin (GAM) S2 suşu için uyum iyiliğini değerlendirmek amacıyla çizilen artık değerler grafiği (residual grafiği) Şekil 5.24'te sunulmuştur. Bu grafik, modelin hatalarının rastgele dağılıp dağılmadığını ve herhangi bir sistematik örüntü olup olmadığını görsel olarak göstermektedir.



Şekil 5.24 Artıklar ve tahmin edilen değerler

S2 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin ikili etkileşimleri Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) kullanılarak incelenmiştir.

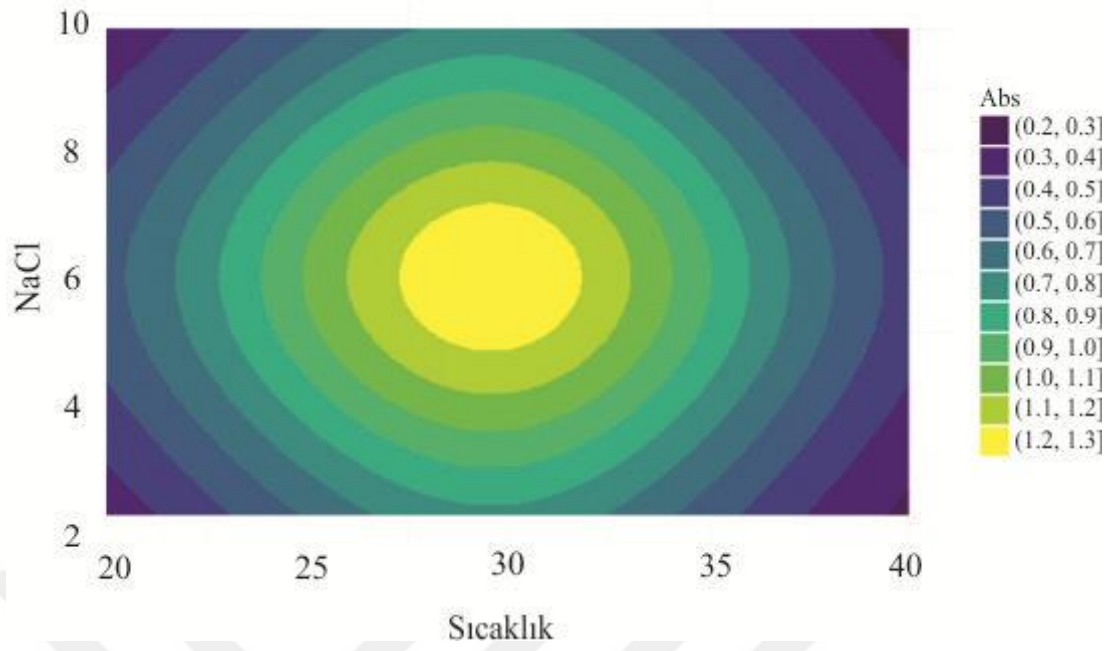
Şekil 5.25’de sunulan kontur grafiği, pH ve sıcaklığın S2 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki ortak etkisini görselleştirmektedir.



Şekil 5.25 Sıcaklık ve pH’ın kontur grafiği

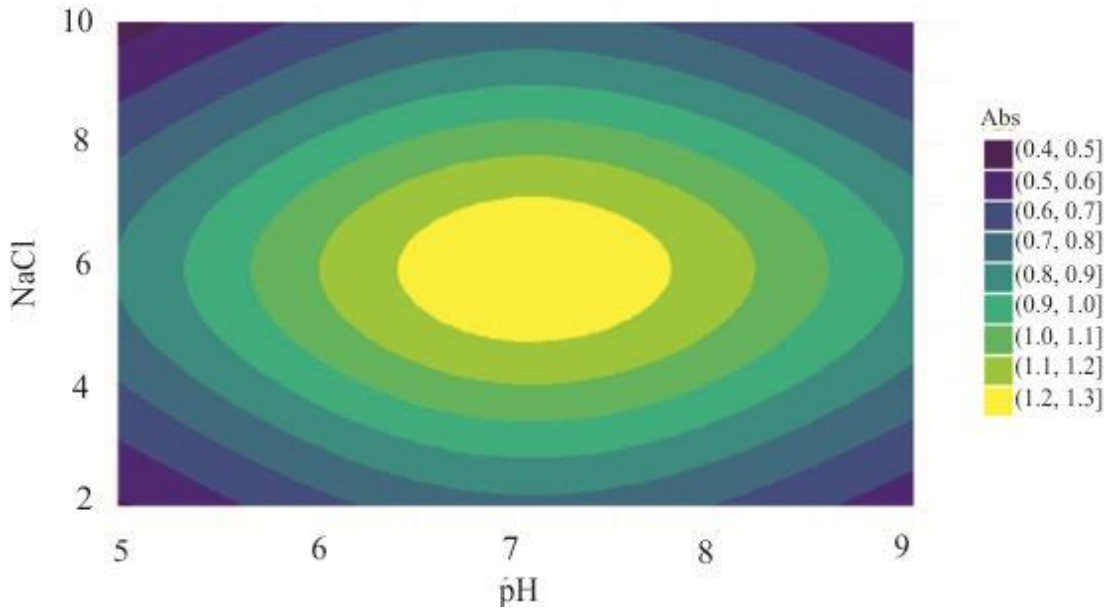
Şekil 5.25, farklı pH ve sıcaklık kombinasyonlarında suşun oluşturduğu biyofilm miktarının nasıl değiştiğini göstermektedir. Konturlar, belirli bir biyofilm miktarına sahip pH ve sıcaklık değerlerini birleştirerek, biyofilm koşulları için en uygun bölgeleri vurgulamaktadır.

Şekil 5.26’da gösterilen kontur grafiği, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun S2 suşunun oluşturduğu biyofilm miktarı üzerindeki etkisini incelemektedir.



Şekil 5.26 Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği

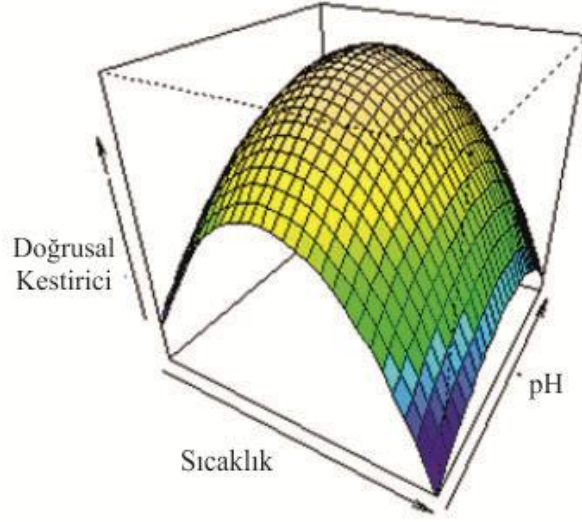
Şekil 5.27'de sunulan kontur grafiği, NaCl konsantrasyonu ve pH'ın S2 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki ortak etkisini göstermektedir.



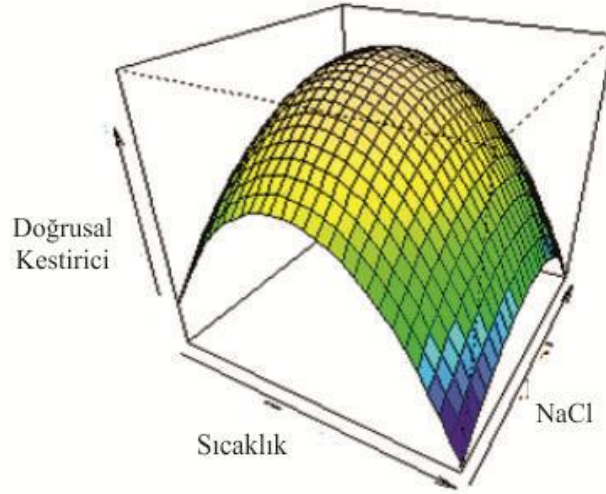
Şekil 5.27 NaCl ve pH'ın kontur grafiği

Kontur grafiklerine ek olarak, ikili parametre etkileşimleri, daha kapsamlı bir görsel analiz sağlamak amacıyla 3 boyutlu yüzey grafikleri ile de gösterilmiştir. 3 boyutlu

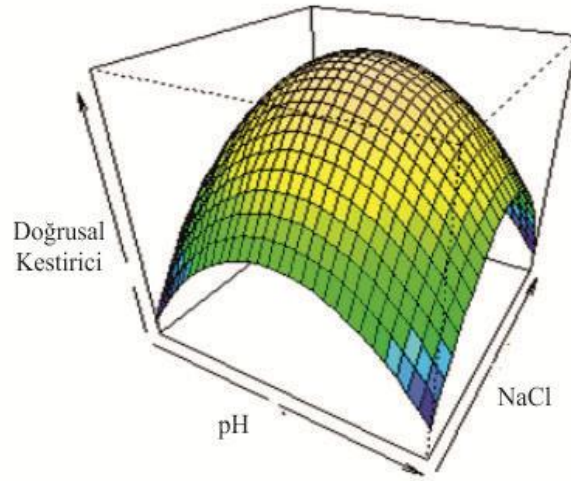
ikili etkileşimler sıcaklık-pH için Şekil 5.28, sıcaklık-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.29 ve pH-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.30’da verilmiştir.



Şekil 5.28 Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

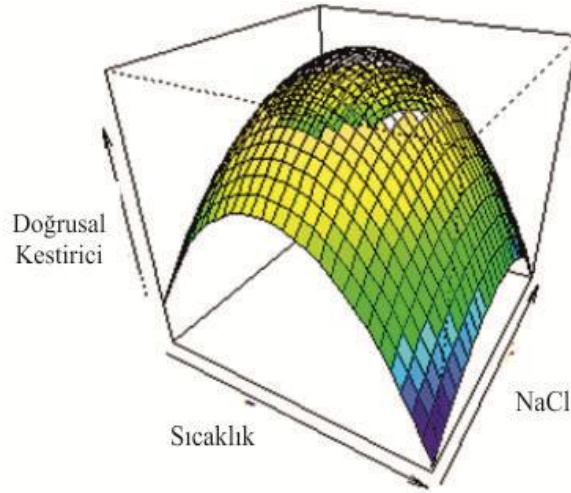


Şekil 5.29 Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

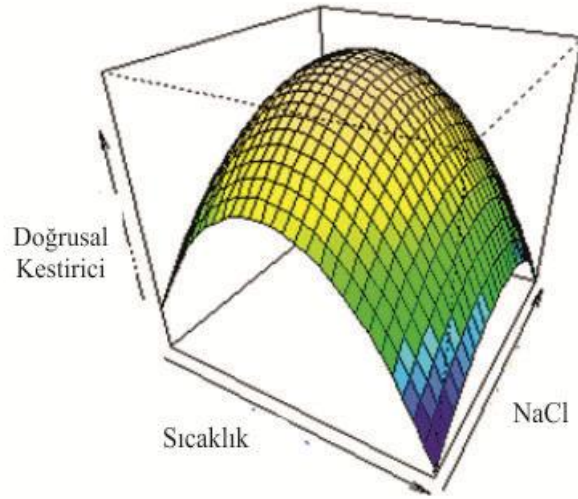


Şekil 5.30 pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

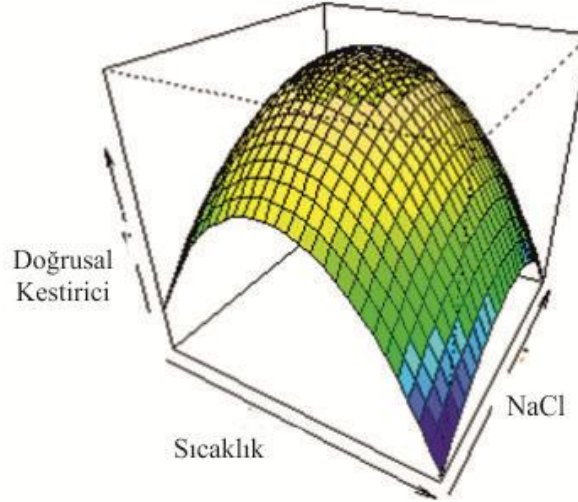
pH değeri 5 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.31’de, pH değeri 7 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.32’de ve pH değeri 9 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.33’de verilmiştir.



Şekil 5.31 pH=5’te Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

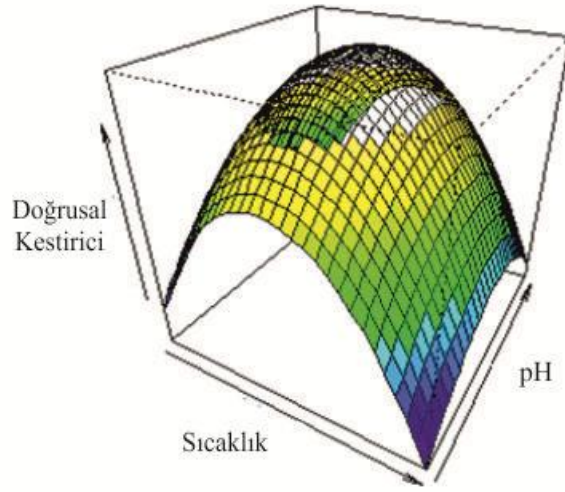


Şekil 5.32 pH=7’de Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği



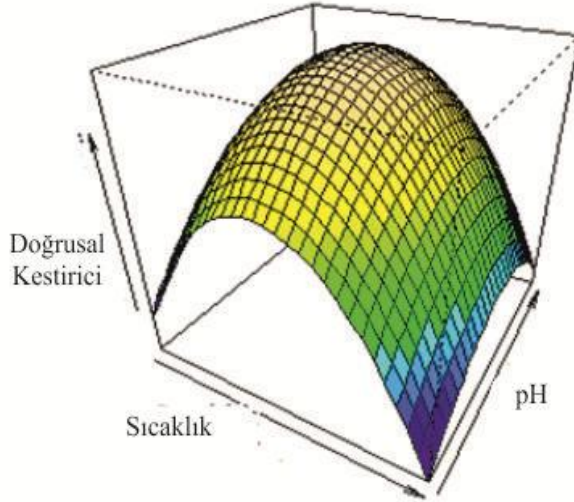
Şekil 5.33 pH=9’da Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

NaCl konsantrasyon %2 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.34’de, NaCl konsantrasyon %6 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.35’de ve NaCl konsantrasyon %10 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.36’da verilmiştir.

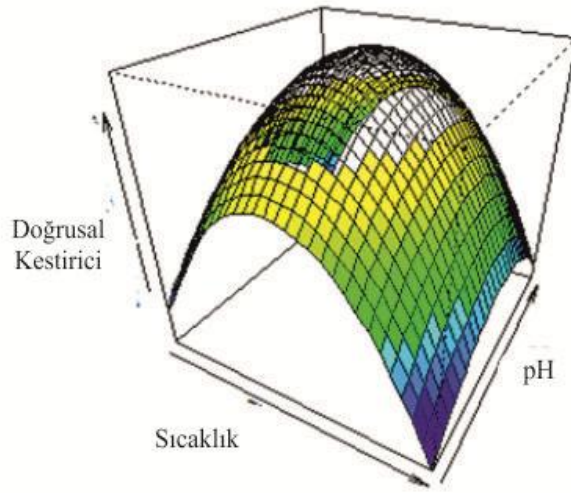


”

Şekil 5.34 NaCl=2’de Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

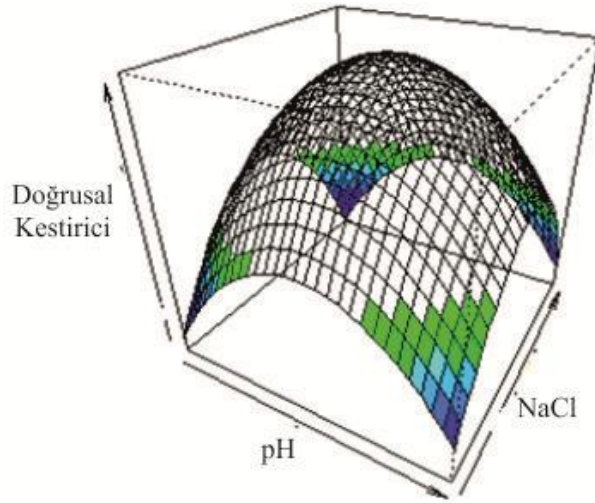


Şekil 5.35 NaCl=6’da Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

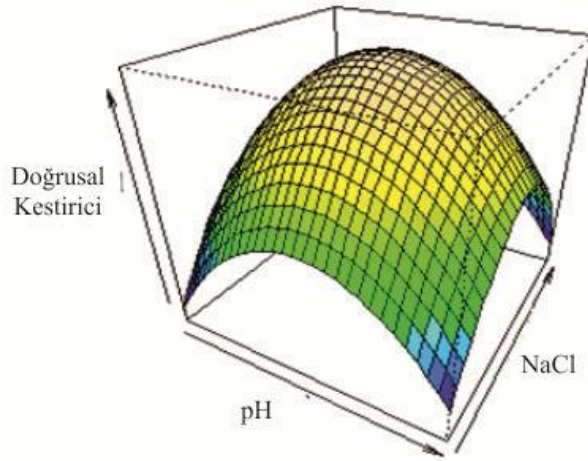


Şekil 5.36 NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

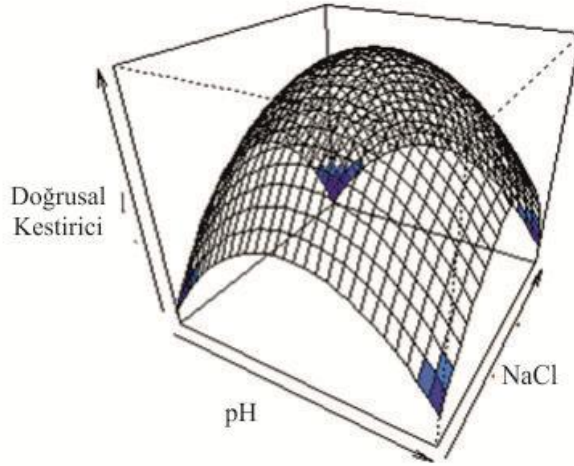
Sıcaklık 20°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.37'de, Sıcaklık 30°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.38'de ve Sıcaklık 40°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.39'da verilmiştir.



Şekil 5.37 20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



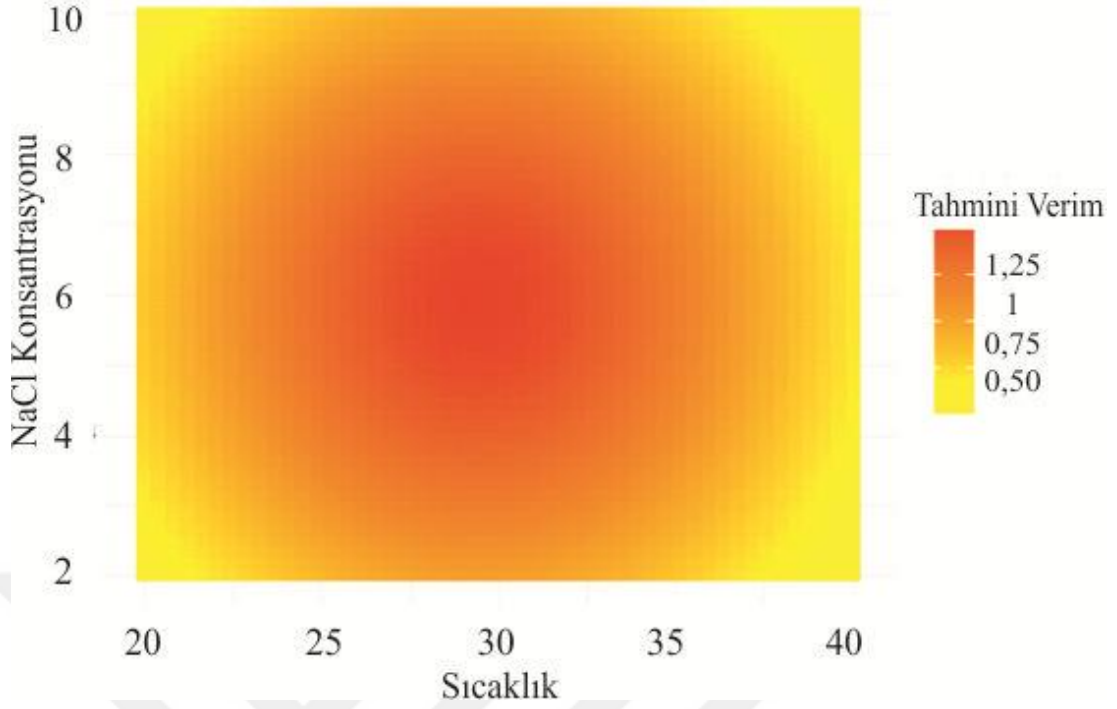
Şekil 5.38 30°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği



Şekil 5.39 40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

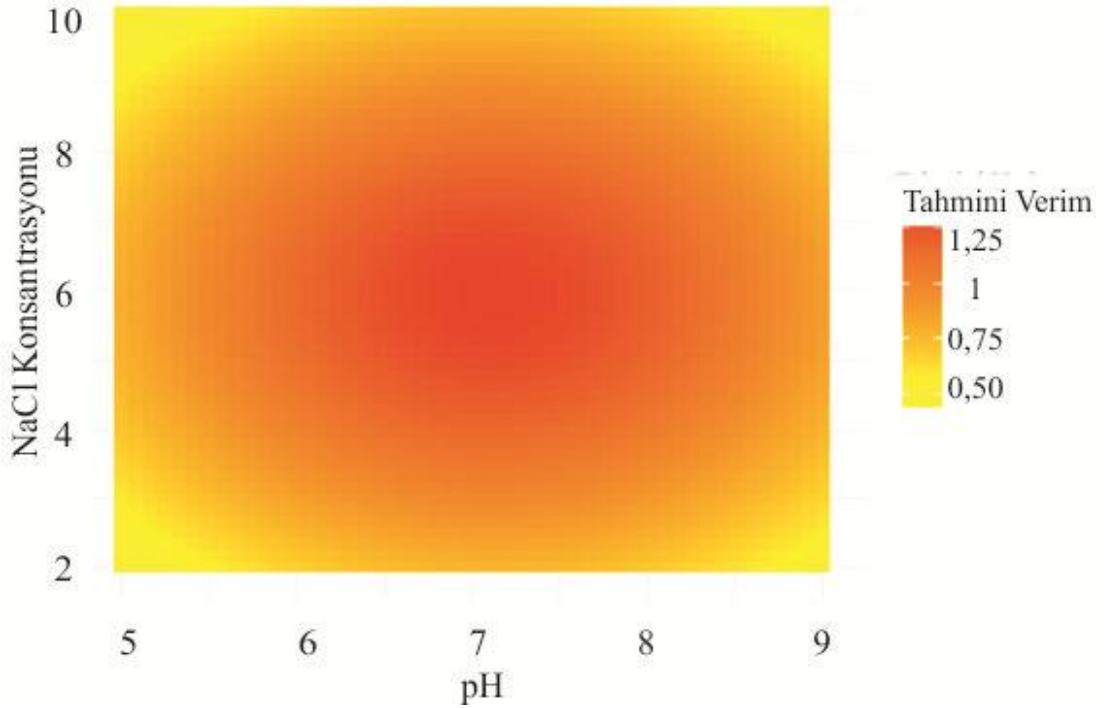
Elde edilen GAM model analizi, biyofilm oluşumu için en uygun koşulların; 29,39°C sıcaklık, %5,92 NaCl konsantrasyonu ve 7,12 pH değerlerinin bir araya gelmesiyle oluştuğunu göstermiştir. Modelin tahminlerine göre, bu ideal kombinasyon, yaklaşık 1,3210 absorbans değerine karşılık gelen yüksek bir biyofilm üretimi sağlayacaktır.

Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.40’da verilmiştir.



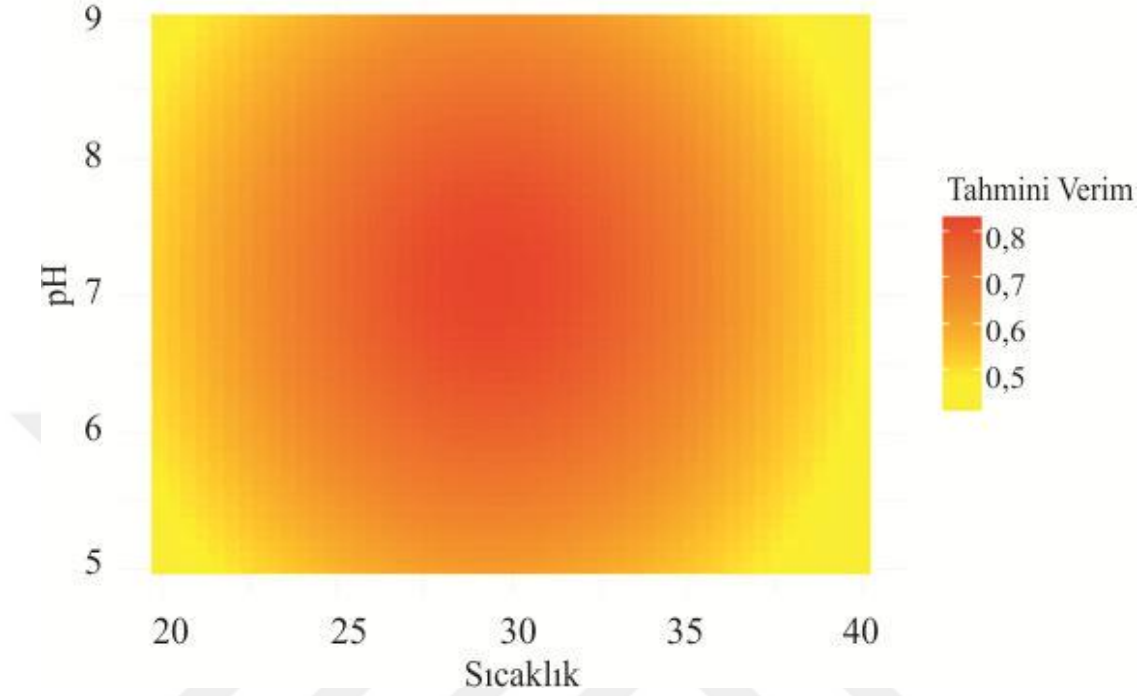
Şekil 5.40 Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.41’de verilmiştir.



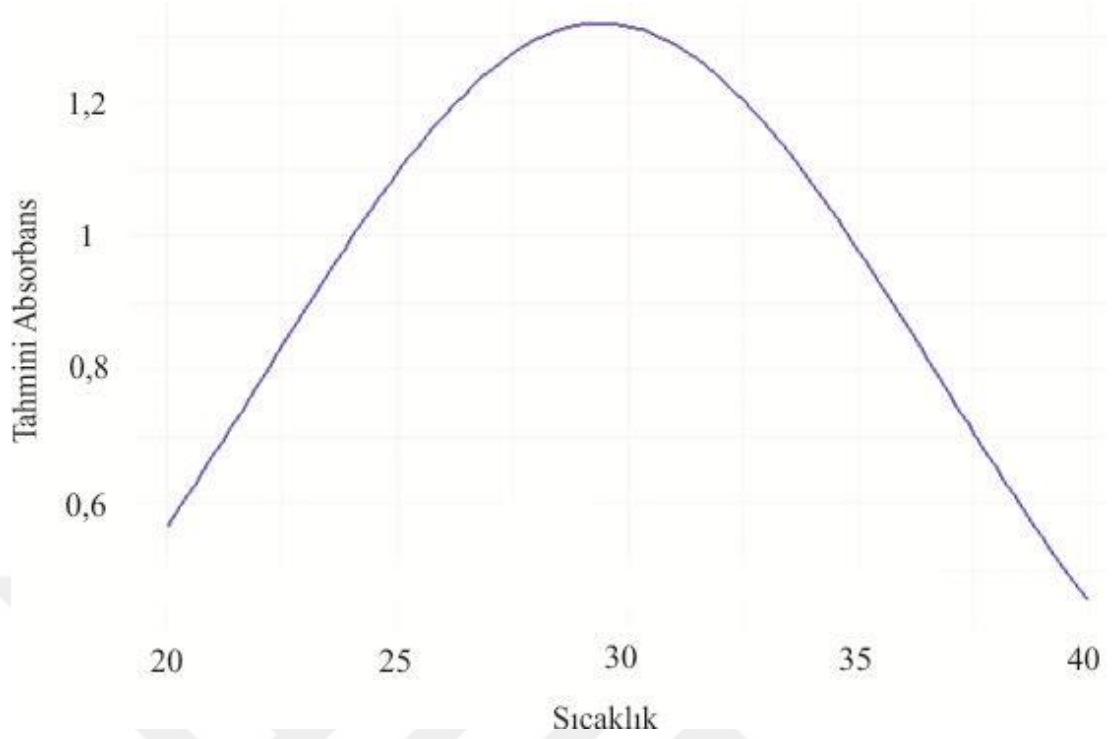
Şekil 5.41 Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği

Son olarak NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.42'de verilmiştir.



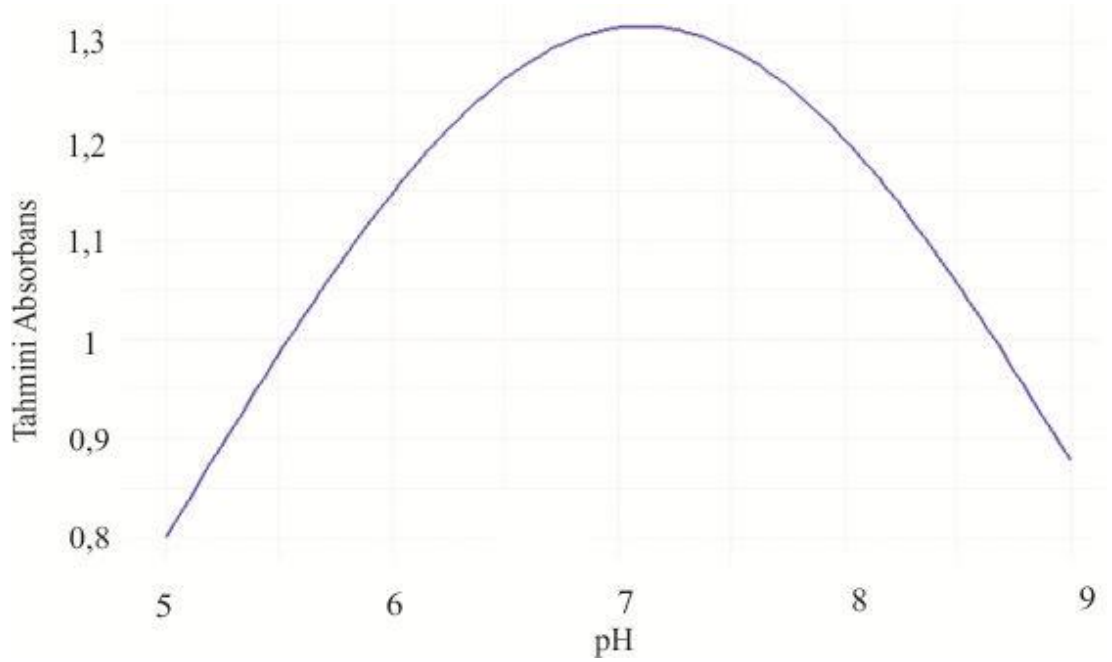
Şekil 5.42 NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Elde edilen GAM modeline göre pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.43'da verilmiştir.



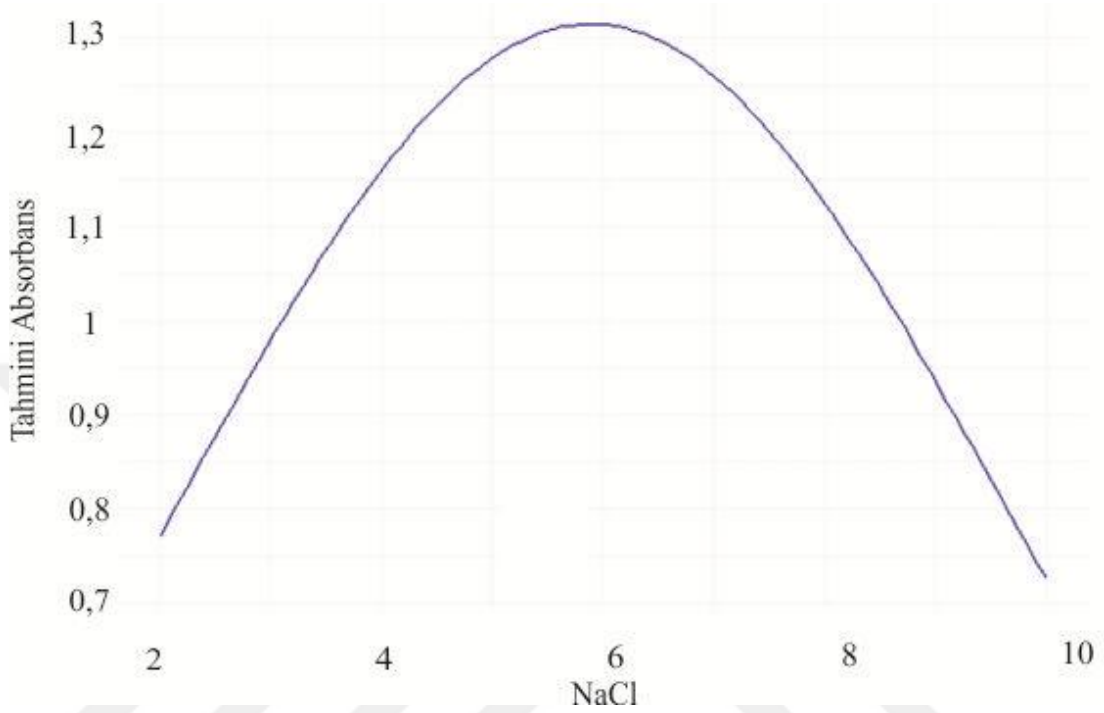
Şekil 5.43 pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.44'de verilmiştir.



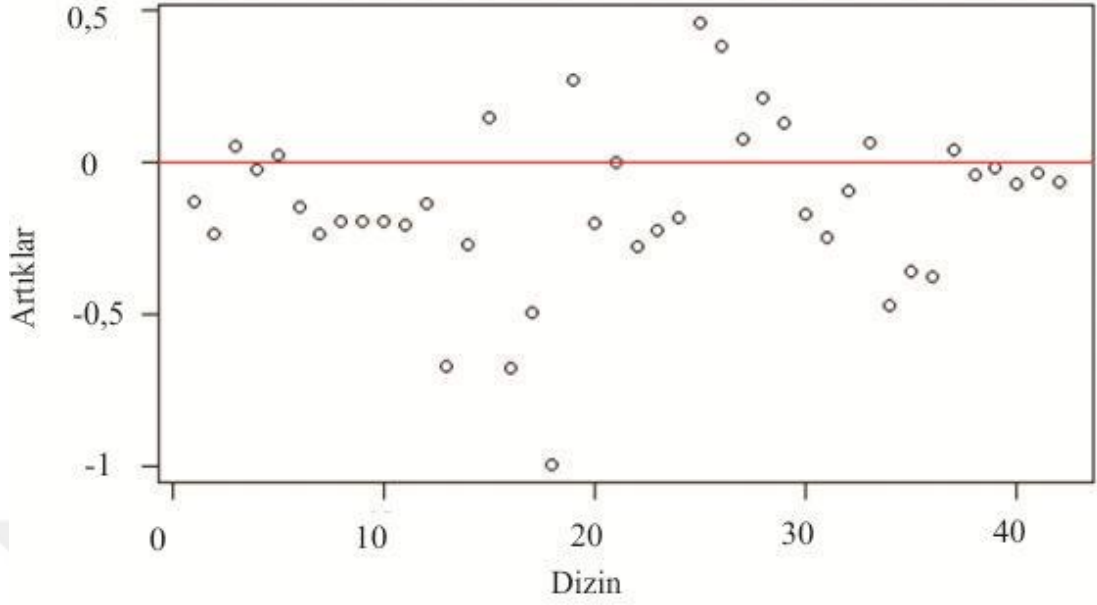
Şekil 5.44 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Son olarak elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.45'te verilmiştir.



Şekil 5.45 Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

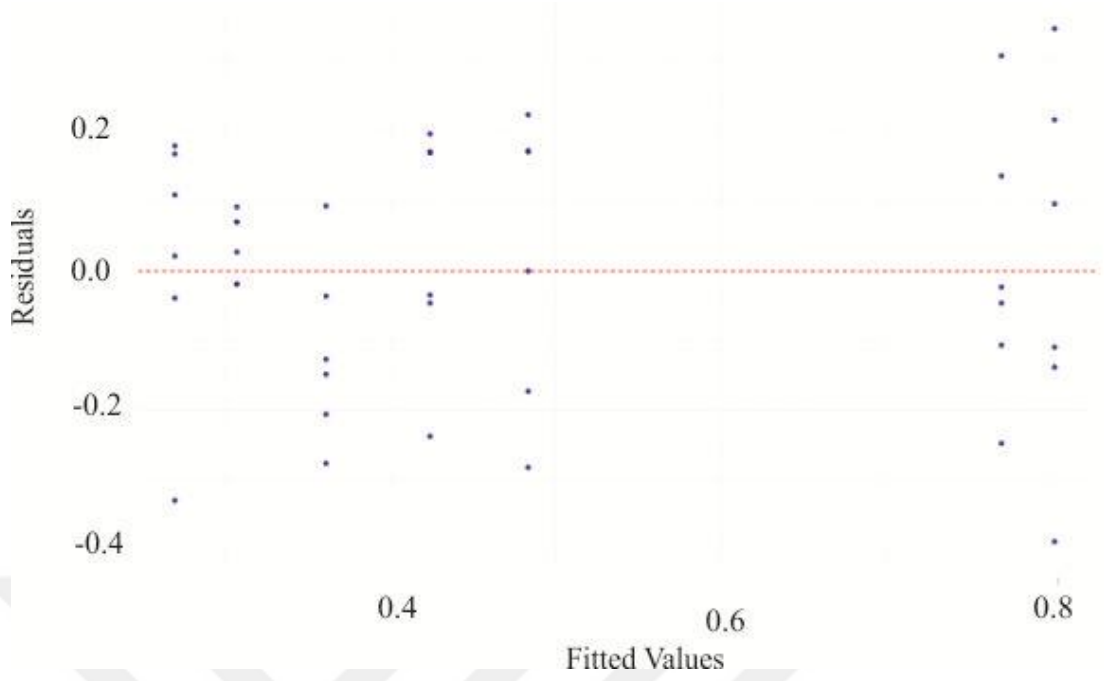
Bu etkileşimler için elde edilen artık değerler grafiği (residual grafiği) ise Şekil 5.46'da gösterilmektedir.



Şekil 5.46 S2 GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)

5.1.2.3 S3 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar

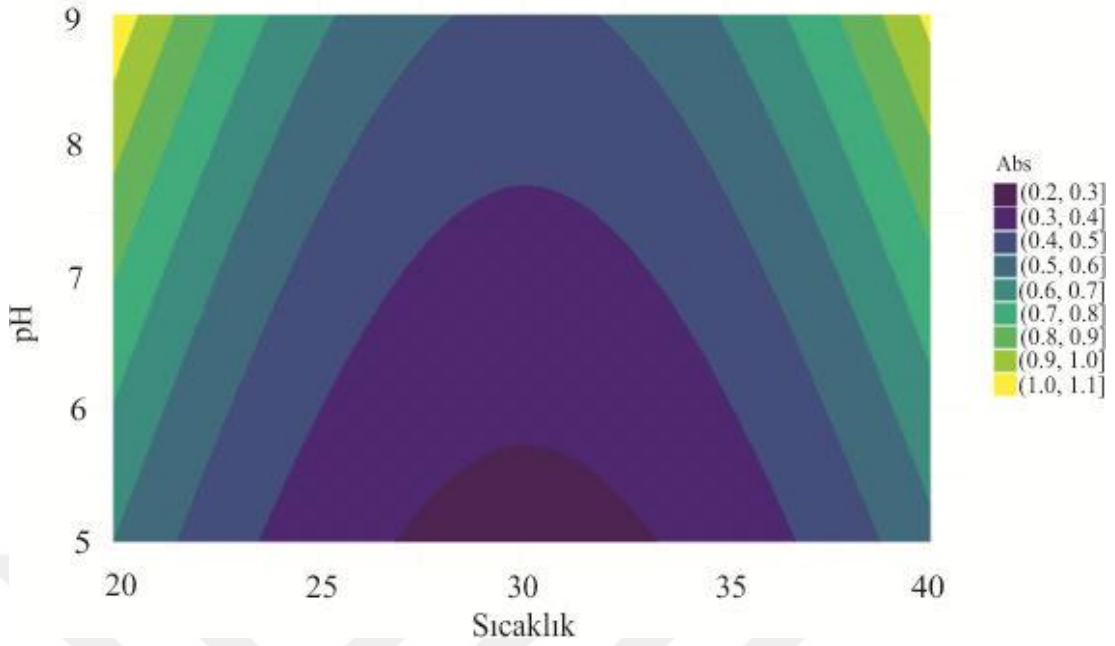
Genelleştirilmiş Aditif Modelinin (GAM) S3 suşu için uyum iyiliğini değerlendirmek amacıyla çizilen artık değerler grafiği (residual grafiği) Şekil 5.47’de sunulmuştur. Bu grafik, modelin hatalarının rastgele dağılıp dağılmadığını ve herhangi bir sistematik örüntü olup olmadığını görsel olarak göstermektedir.



Şekil 5.47 Artıklar ve tahmin edilen değerler

S3 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin ikili etkileşimleri Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) kullanılarak incelenmiştir.

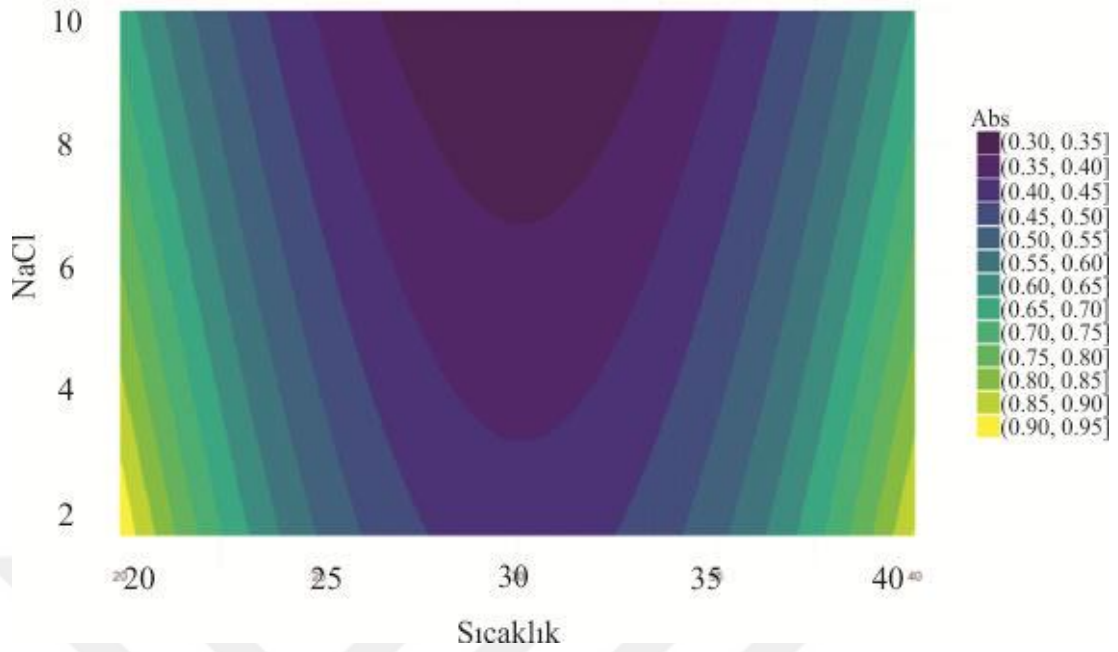
Şekil 5.48’de sunulan kontur grafiği, pH ve sıcaklığın S3 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki ortak etkisini görselleştirmektedir.



Şekil 5.48 Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği

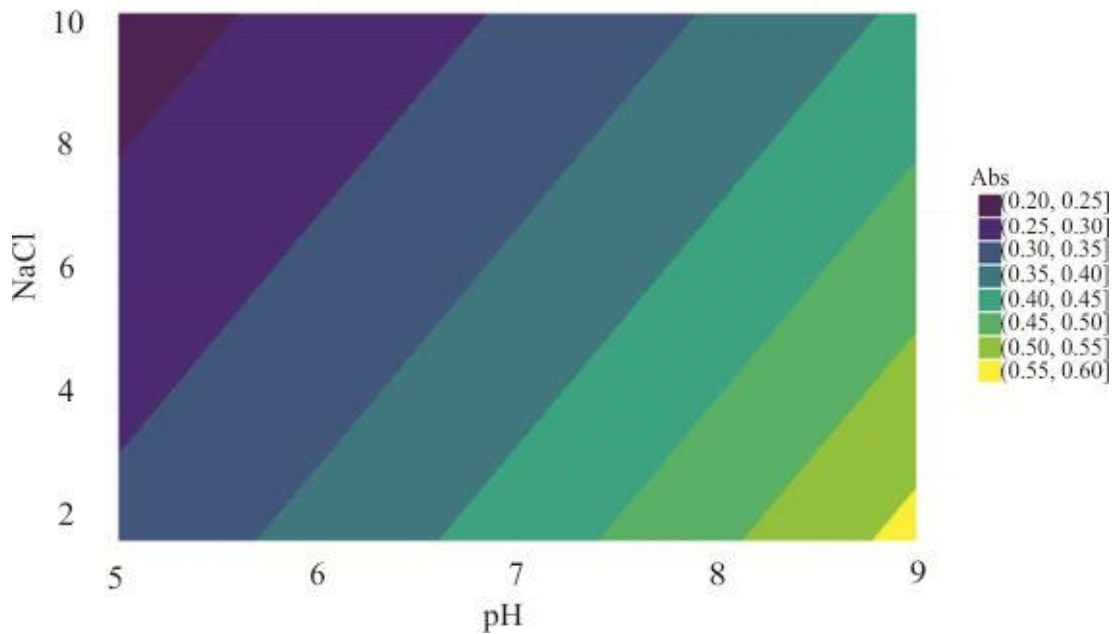
Şekil 5.48, farklı pH ve sıcaklık kombinasyonlarında suşun oluşturduğu biyofilm miktarının nasıl değiştiğini göstermektedir. Konturlar, belirli bir biyofilm miktarına sahip pH ve sıcaklık değerlerini birleştirerek, biyofilm koşulları için en uygun bölgeleri vurgulamaktadır.

Şekil 5.49'da gösterilen kontur grafiği, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun S3 suşunun oluşturduğu biyofilm miktarı üzerindeki etkisini incelemektedir.



Şekil 5.49 Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği

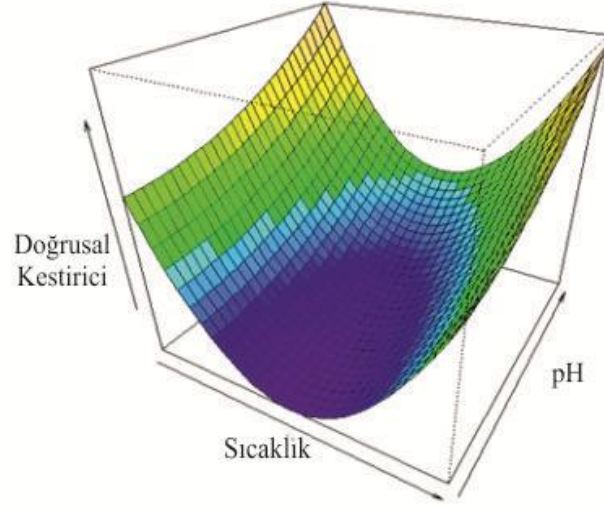
Şekil 5.50'de sunulan kontur grafiği, NaCl konsantrasyonu ve pH'ın S3 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki ortak etkisini göstermektedir.



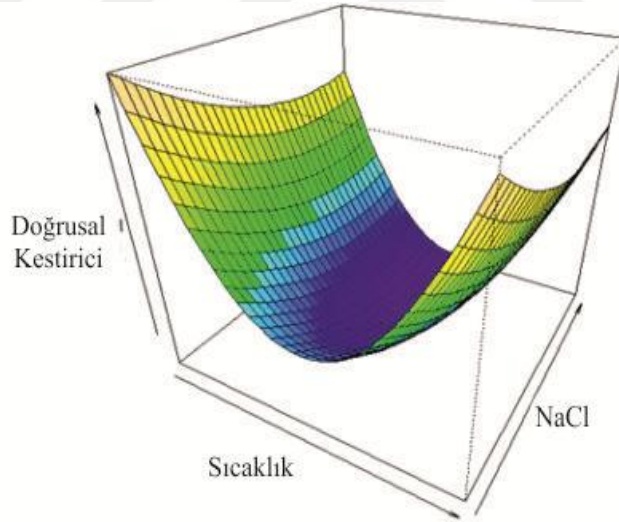
Şekil 5.50 NaCl ve pH'ın kontur grafiği

Kontur grafiklerine ek olarak, ikili parametre etkileşimleri, daha kapsamlı bir görsel analiz sağlamak amacıyla 3 boyutlu yüzey grafikleri ile de gösterilmiştir. 3 boyutlu

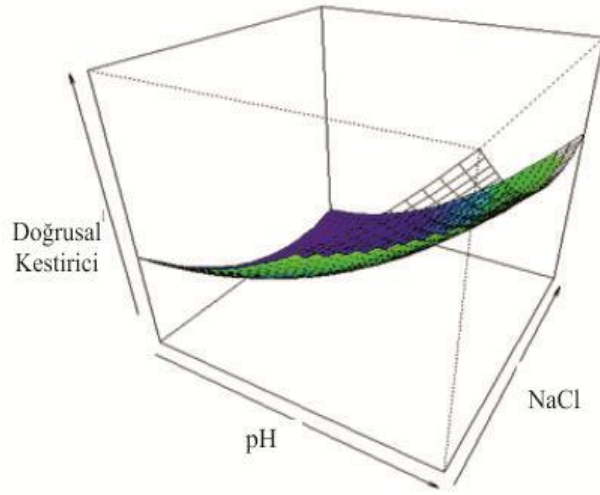
ikili etkileşimler sıcaklık-pH için Şekil 5.51, sıcaklık-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.52 ve pH-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.53’de verilmiştir.



Şekil 5.51 Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

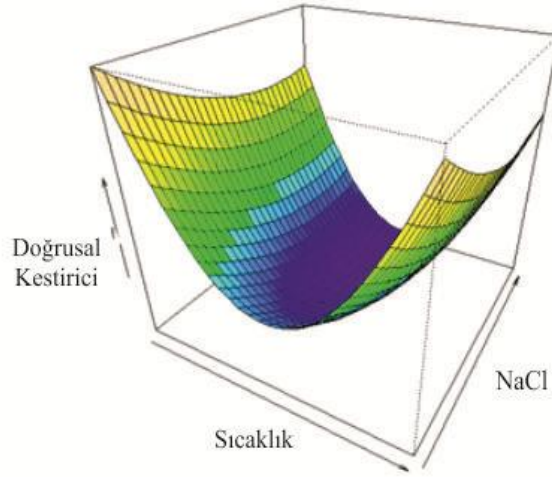


Şekil 5.52 Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

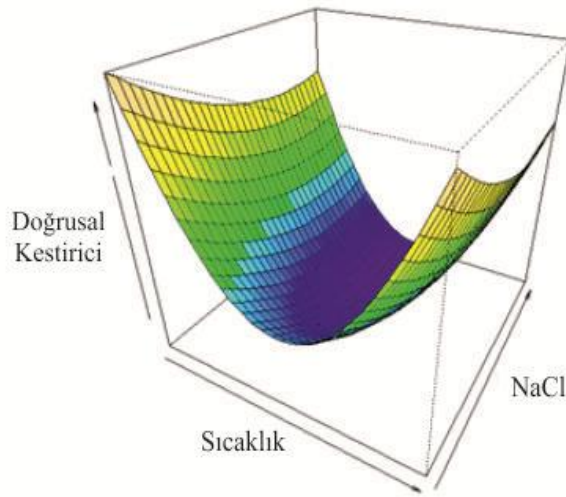


Şekil 5.53 pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

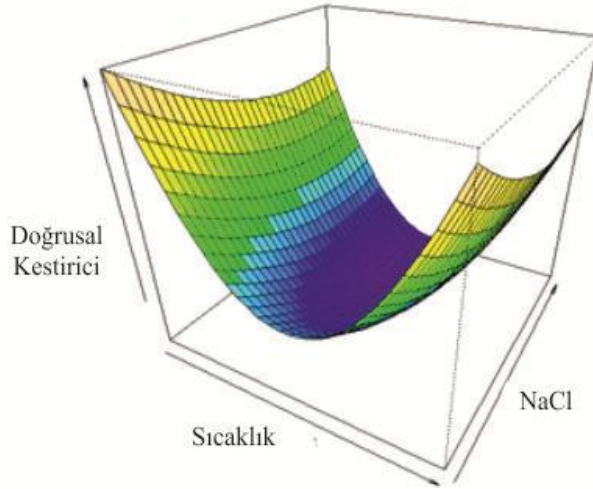
pH değeri 5 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.54’te, pH değeri 7 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.55’te ve pH değeri 9 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.56’da verilmiştir.



Şekil 5.54 pH=5 için Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

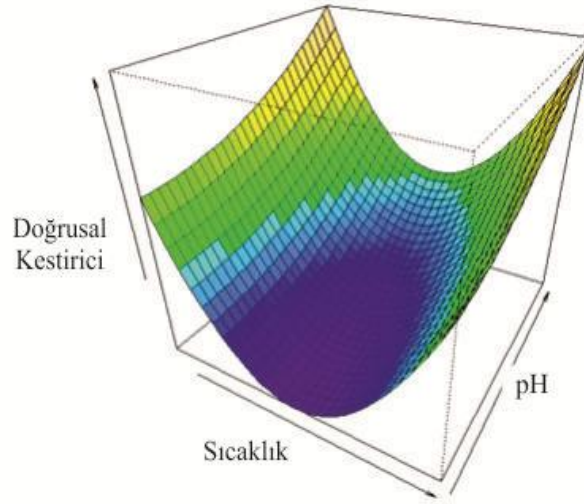


Şekil 5.55 pH=7 için Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği

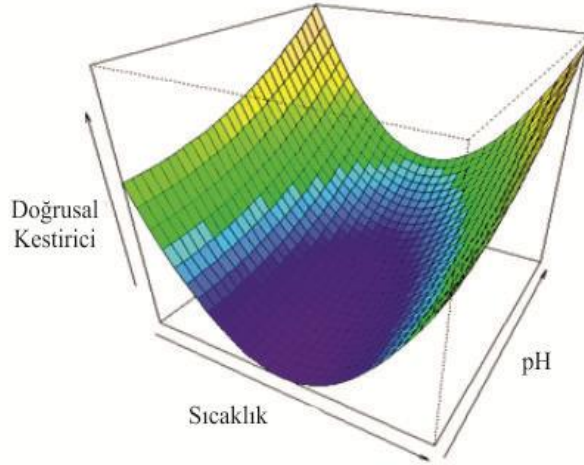


Şekil 5.56 pH=9 için Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği

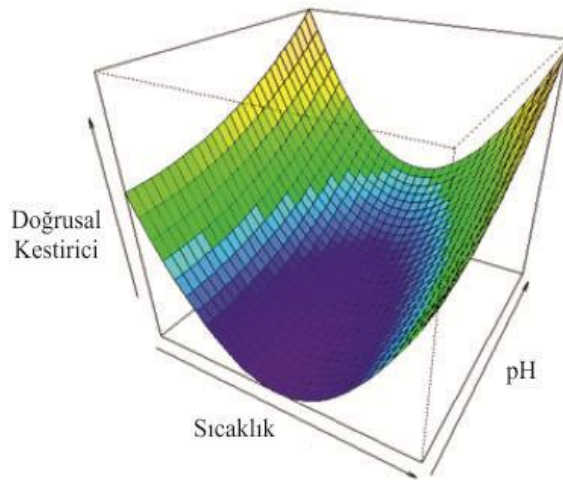
NaCl konsantrasyon %2 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.57'de, NaCl konsantrasyon %6 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.58'de ve NaCl konsantrasyon %10 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.59'da verilmiştir.



Şekil 5.57 NaCl=2 için Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

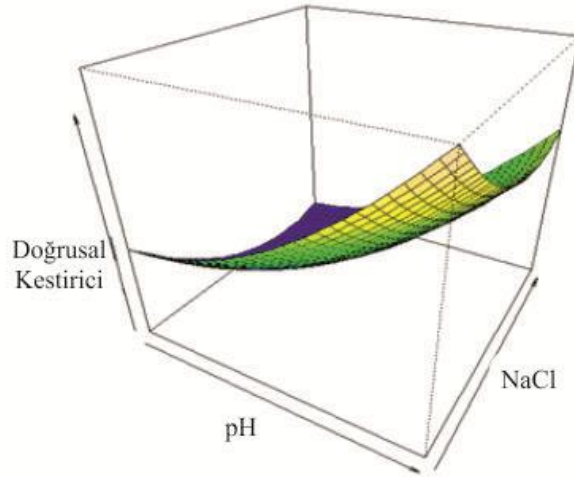


Şekil 5.58 NaCl=6 için Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

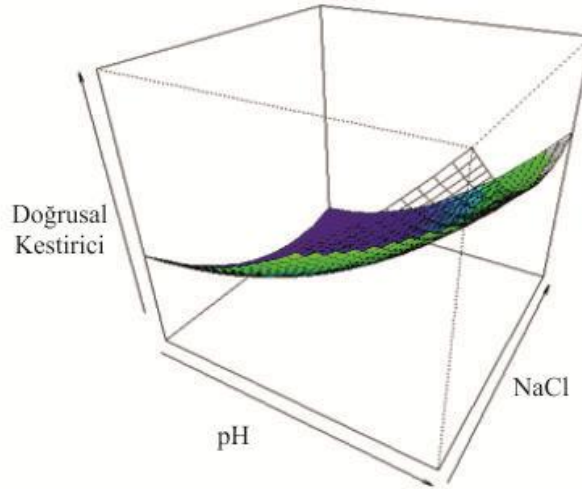


Şekil 5.59 NaCl=10 için Sıcaklık ve pH'ın 3 Boyutlu yüzey grafiği

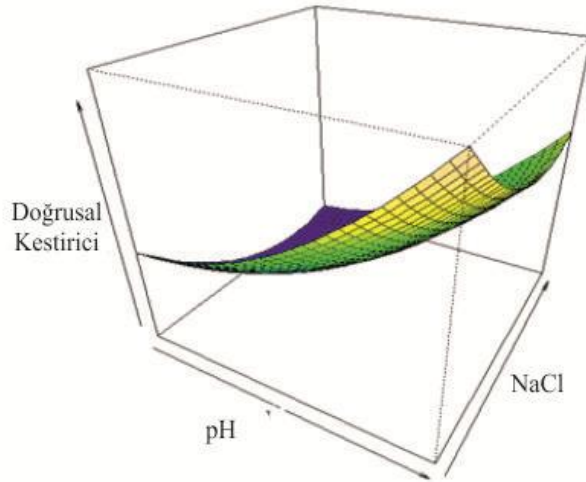
Sıcaklık 20°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.60'da, Sıcaklık 30°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.61'de ve Sıcaklık 40°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.62'de verilmiştir.



Şekil 5.60 20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



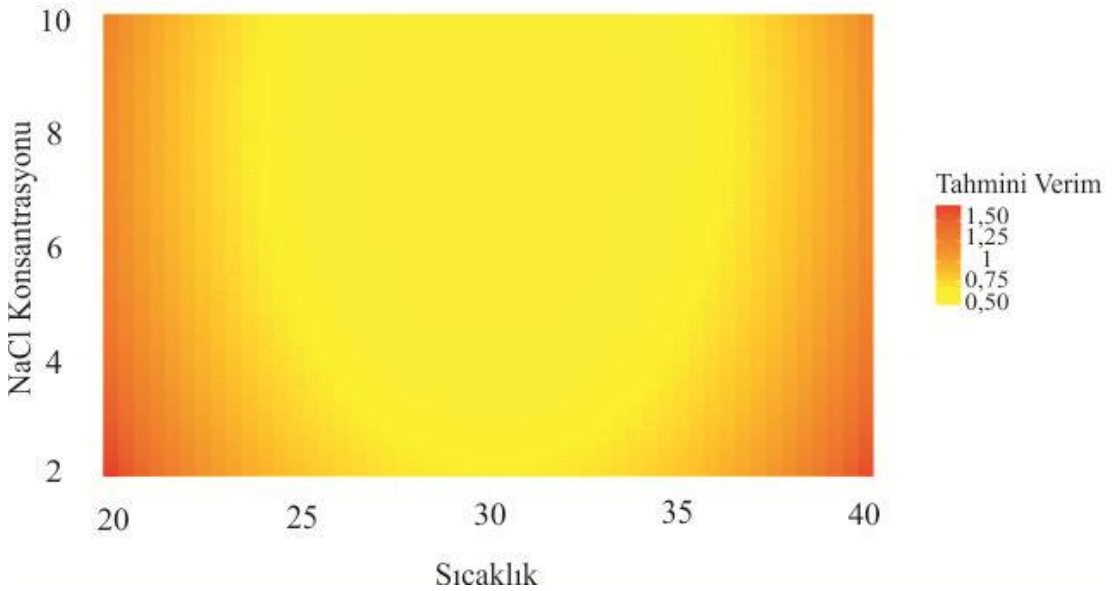
Şekil 5.61 30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



Şekil 5.62 40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

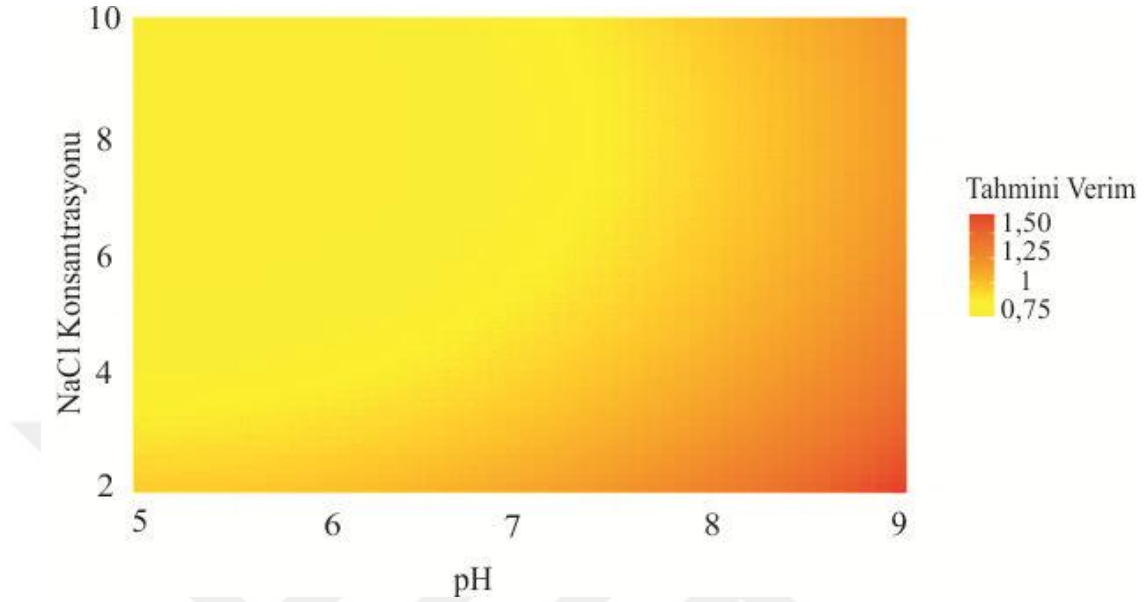
Elde edilen GAM model analizi, biyofilm oluşumu için en uygun koşulların; 20°C sıcaklık, %2 NaCl konsantrasyonu ve 9 pH değerlerinin bir araya gelmesiyle oluştuğunu göstermiştir. Modelin tahminlerine göre, bu ideal kombinasyon, yaklaşık 1,6920 absorbans değerine karşılık gelen yüksek bir biyofilm üretimi sağlayacaktır.

Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.63’de verilmiştir.



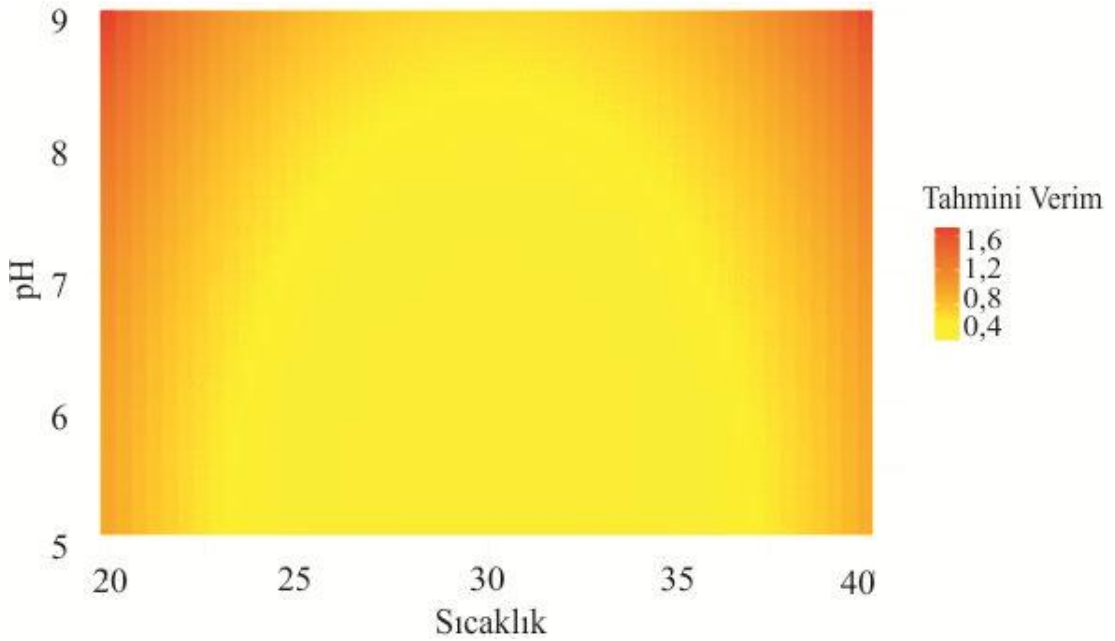
Şekil 5.63 Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.64’de verilmiştir.



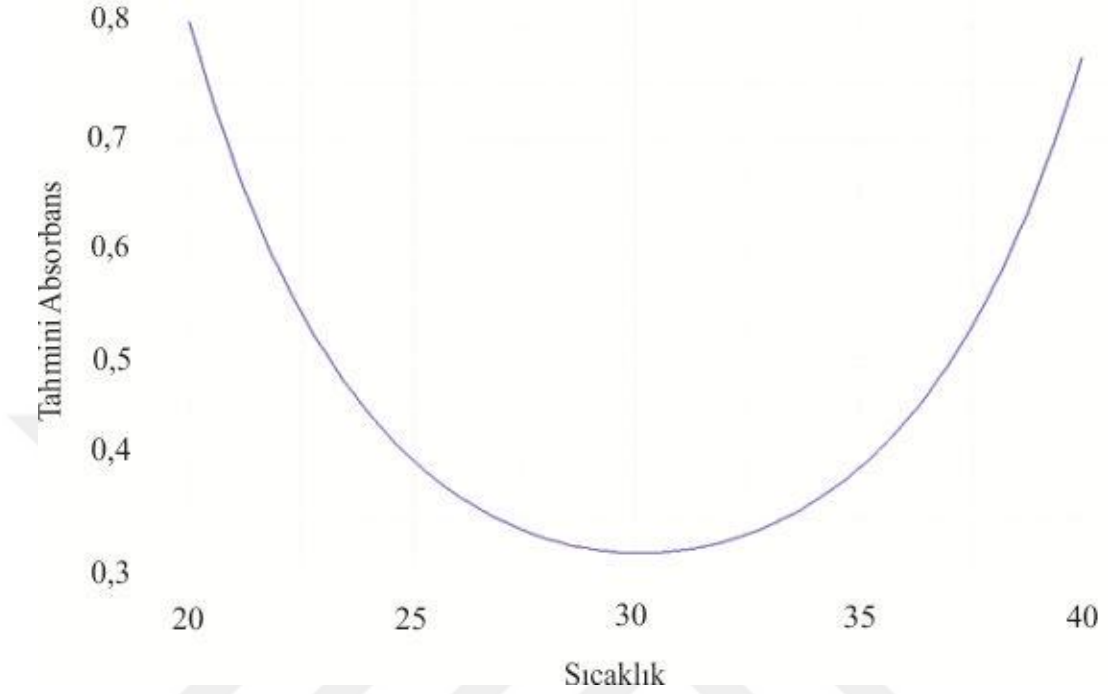
Şekil 5.64 Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği

Son olarak NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH’ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.65’de verilmiştir.



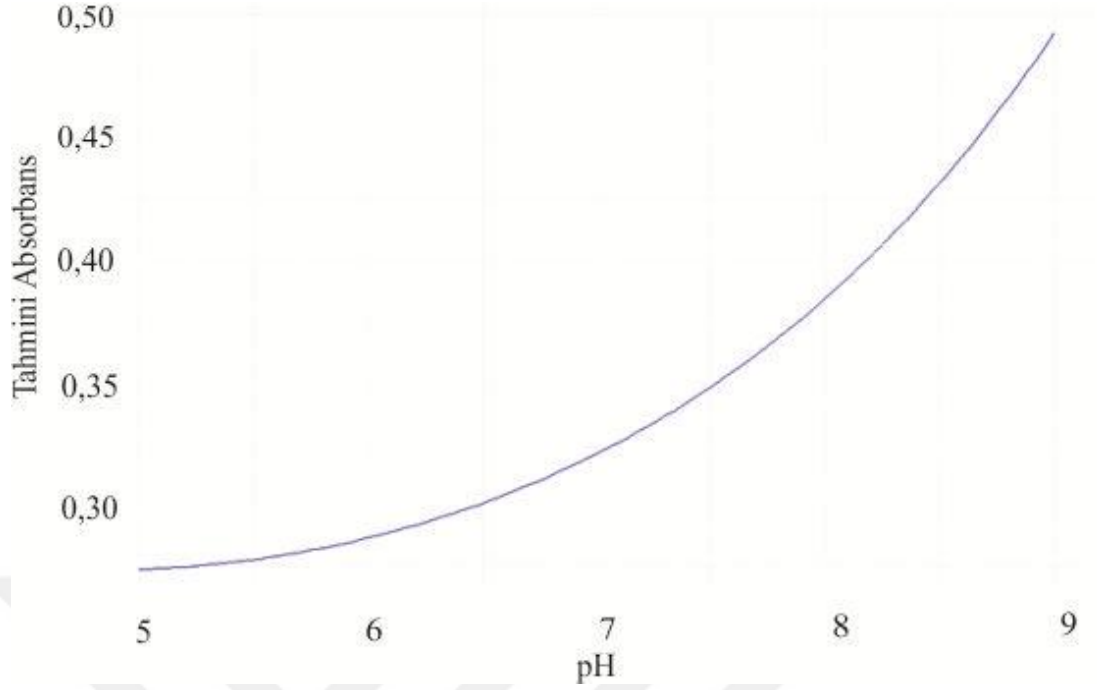
Şekil 5.65 NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH’ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Elde edilen GAM modeline göre pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.66'da verilmiştir.



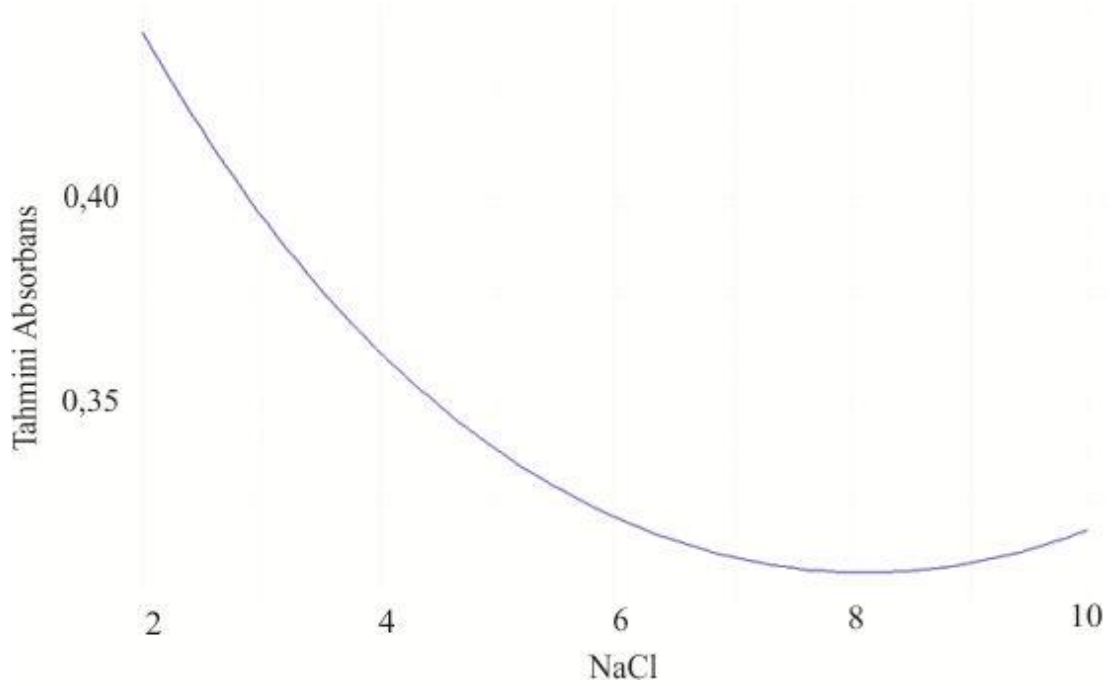
Şekil 5.66 pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.67'de verilmiştir.



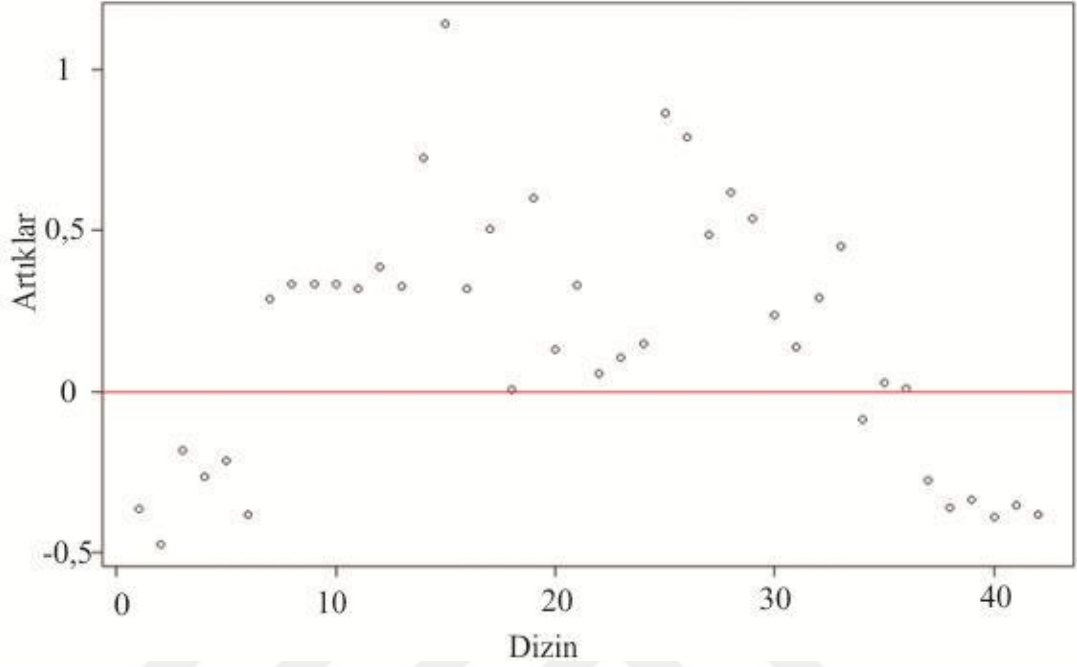
Şekil 5.67 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Son olarak elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.68'de verilmiştir.



Şekil 5.68 Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

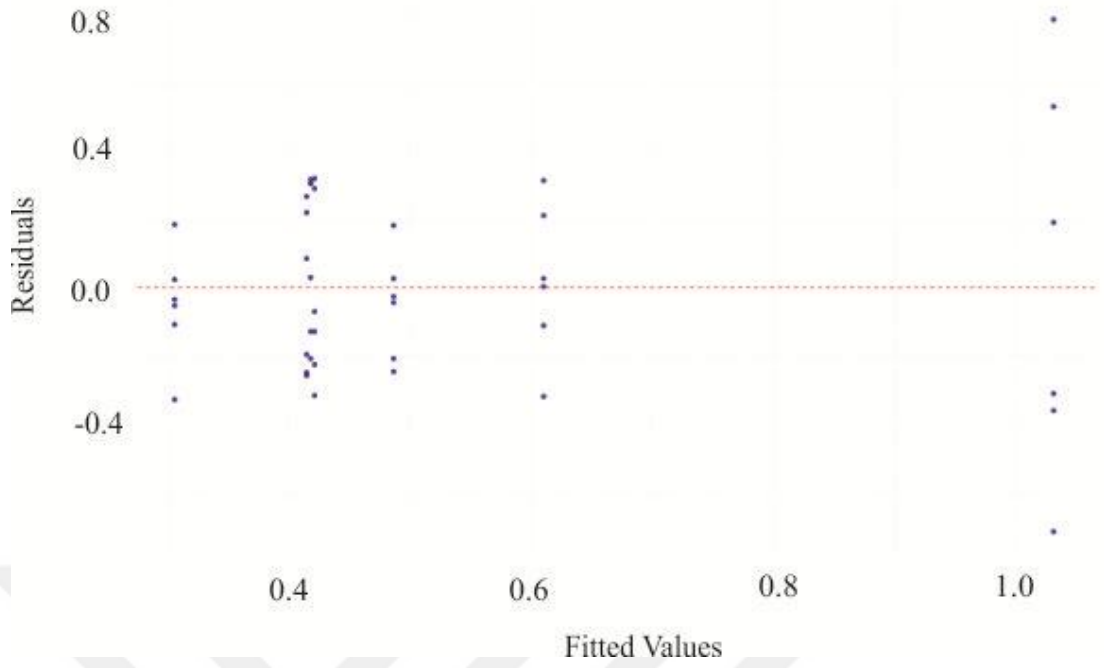
Bu etkileşimler için elde edilen artık değerler grafiği (residual grafiği) ise Şekil 5.69’da gösterilmektedir.



Şekil 5.69 S3 GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)

5.1.2.4 S4 suşu için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar

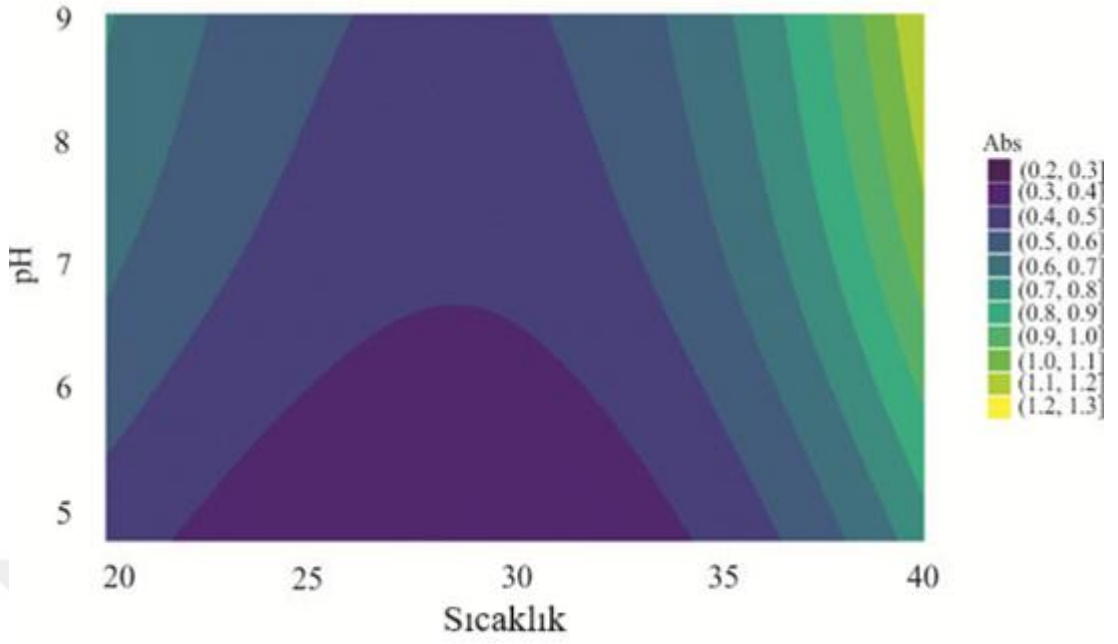
Genelleştirilmiş Aditif Modelinin (GAM) S4 suşu için uyum iyiliğini değerlendirmek amacıyla çizilen artık değerler grafiği (residual grafiği) Şekil 5.70’de sunulmuştur. Bu grafik, modelin hatalarının rastgele dağılıp dağılmadığını ve herhangi bir sistematik örüntü olup olmadığını görsel olarak göstermektedir.



Şekil 5.70 Artıklar ve tahmin edilen değerler

S4 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin ikili etkileşimleri Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) kullanılarak incelenmiştir.

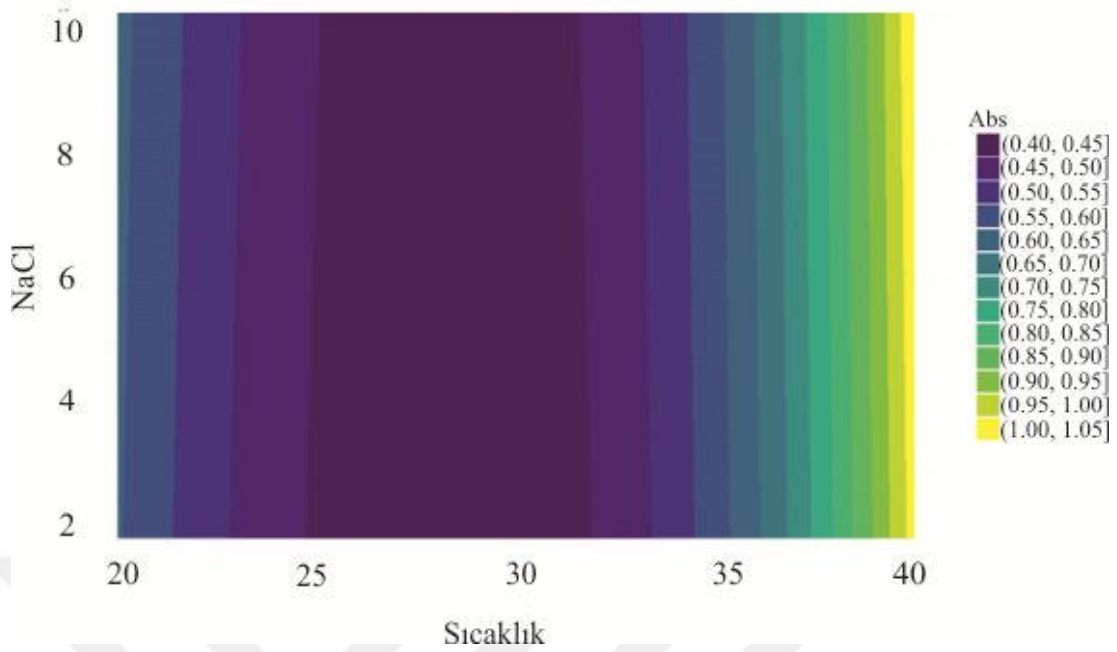
Şekil 5.71’de sunulan kontur grafiği, pH ve sıcaklığın S4 suşunun oluşturduğu biyofilm üzerindeki ortak etkisini görselleştirmektedir.



Şekil 5.71 Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği

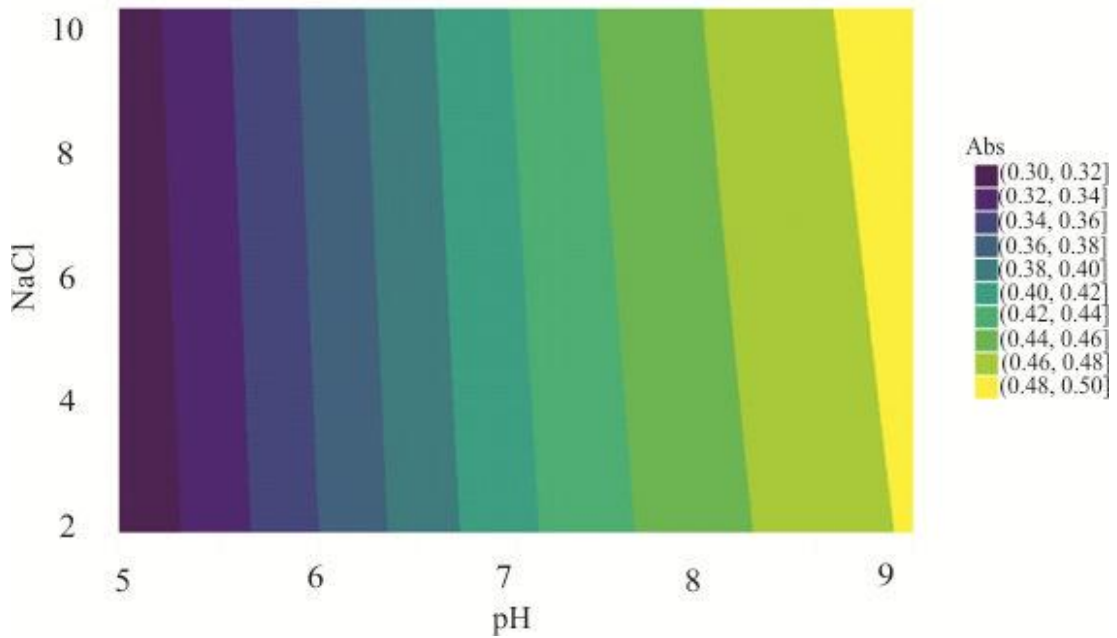
Şekil 5.71, farklı pH ve sıcaklık kombinasyonlarında suşun oluşturduğu biyofilm miktarının nasıl değiştiğini göstermektedir. Konturlar, belirli bir biyofilm miktarına sahip pH ve sıcaklık değerlerini birleştirerek, biyofilm koşulları için en uygun bölgeleri vurgulamaktadır.

Şekil 5.72'de gösterilen kontur grafiği, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun S4 suşunun oluşturduğu biyofilm miktarı üzerindeki etkisini incelemektedir.



Şekil 5.72 Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği

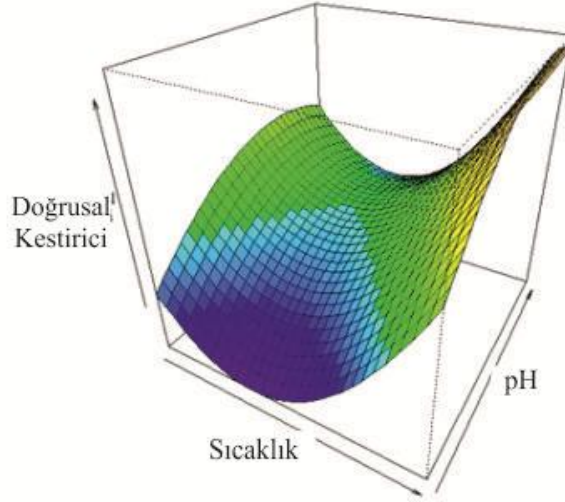
Şekil 5.73'de sunulan kontur grafiği, NaCl konsantrasyonu ve pH'ın S4 suşunun biyofilm üretimi üzerindeki ortak etkisini göstermektedir.



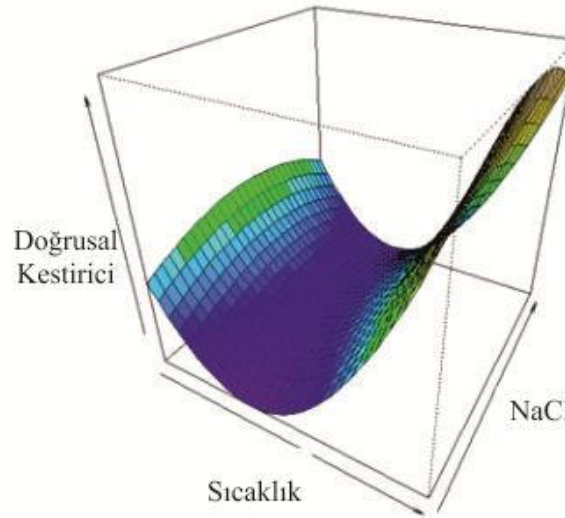
Şekil 5.73 pH ve NaCl'nin kontur grafiği

Kontur grafiklerine ek olarak, ikili parametre etkileşimleri, daha kapsamlı bir görsel analiz sağlamak amacıyla 3 boyutlu yüzey grafikleri ile de gösterilmiştir. 3 boyutlu

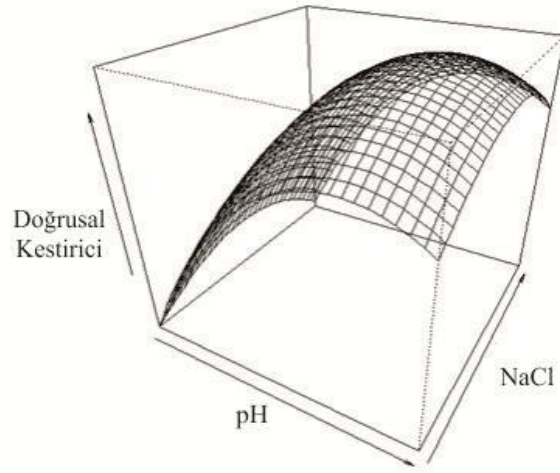
ikili etkileşimler sıcaklık-pH için Şekil 5.74, sıcaklık-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.75 ve pH-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.76’da verilmiştir.



Şekil 5.74 Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

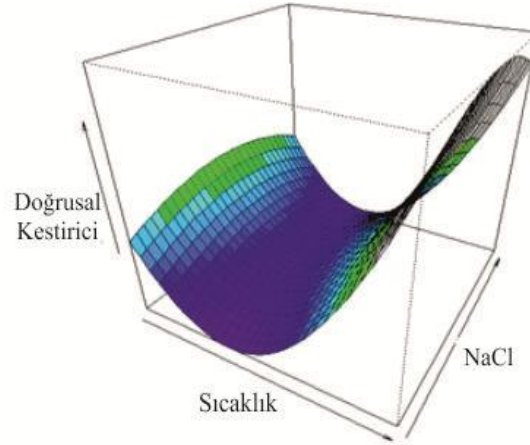


Şekil 5.75 Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

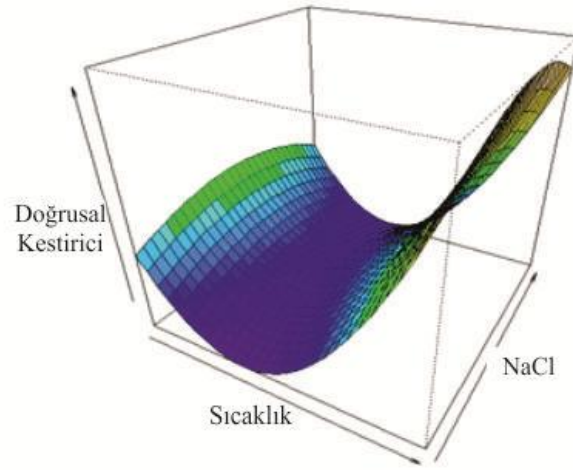


Şekil 5.76 pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

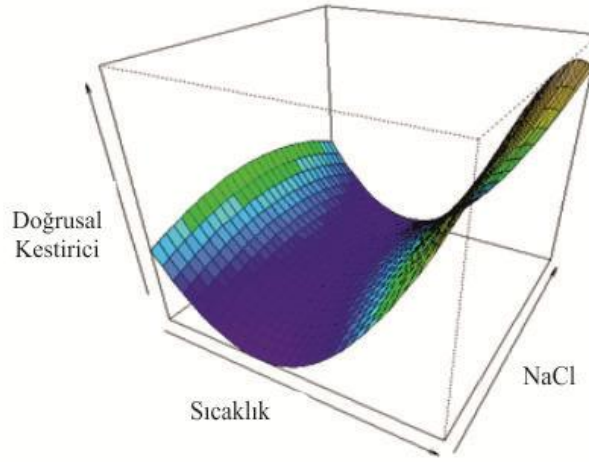
pH değeri 5 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.77’de, pH değeri 7 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.78’de ve pH değeri 9 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.79’da verilmiştir.



Şekil 5.77 pH=5’te Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

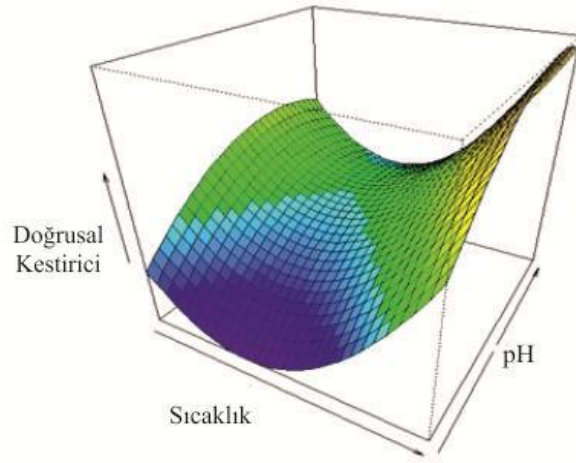


Şekil 5.78 pH=7’de Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

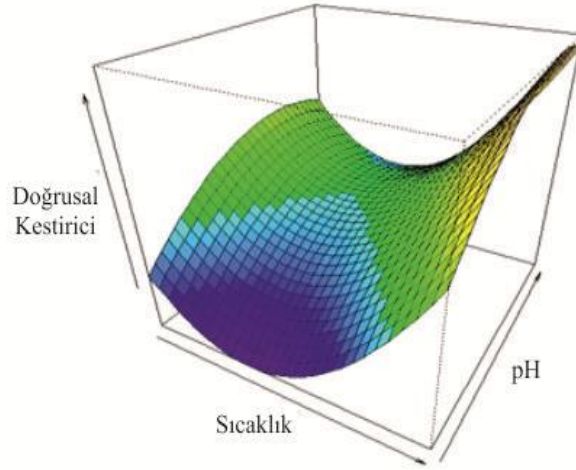


Şekil 5.79 pH=9’da Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

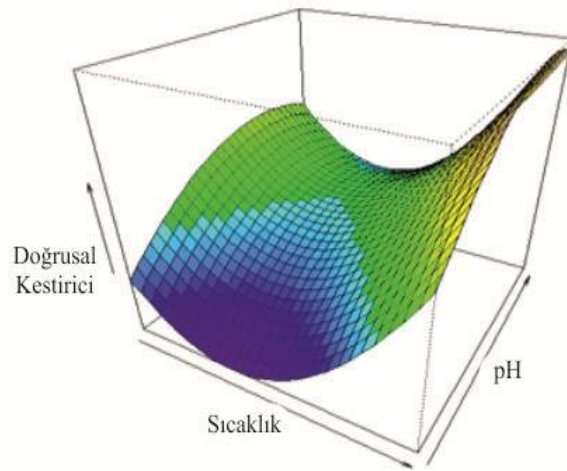
NaCl konsantrasyon %2 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.80’de, NaCl konsantrasyon %6 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.81’de ve NaCl konsantrasyon %10 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.82’de verilmiştir.



Şekil 5.80 NaCl=2’de Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

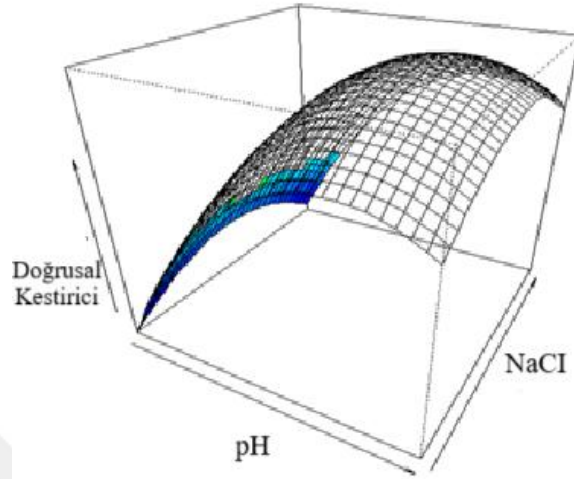


Şekil 5.81 NaCl=6’da Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

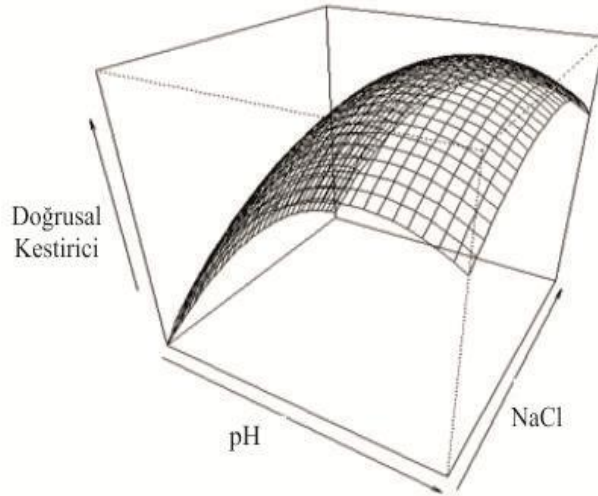


Şekil 5.82 NaCl=10’da Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

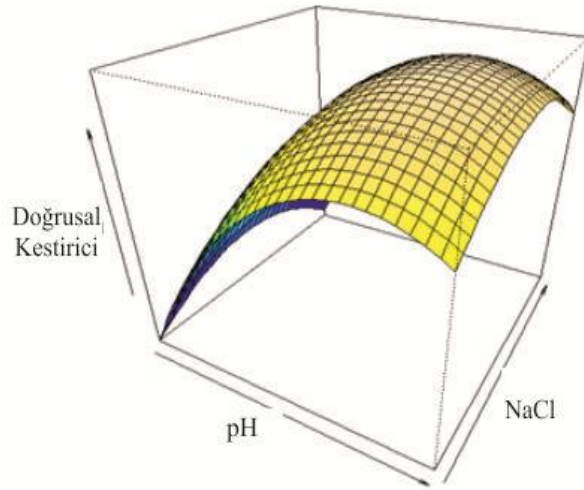
Sıcaklık 20°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.83’de, Sıcaklık 30°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.84’de ve Sıcaklık 40°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.85’de verilmiştir.



Şekil 5.83 20°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği



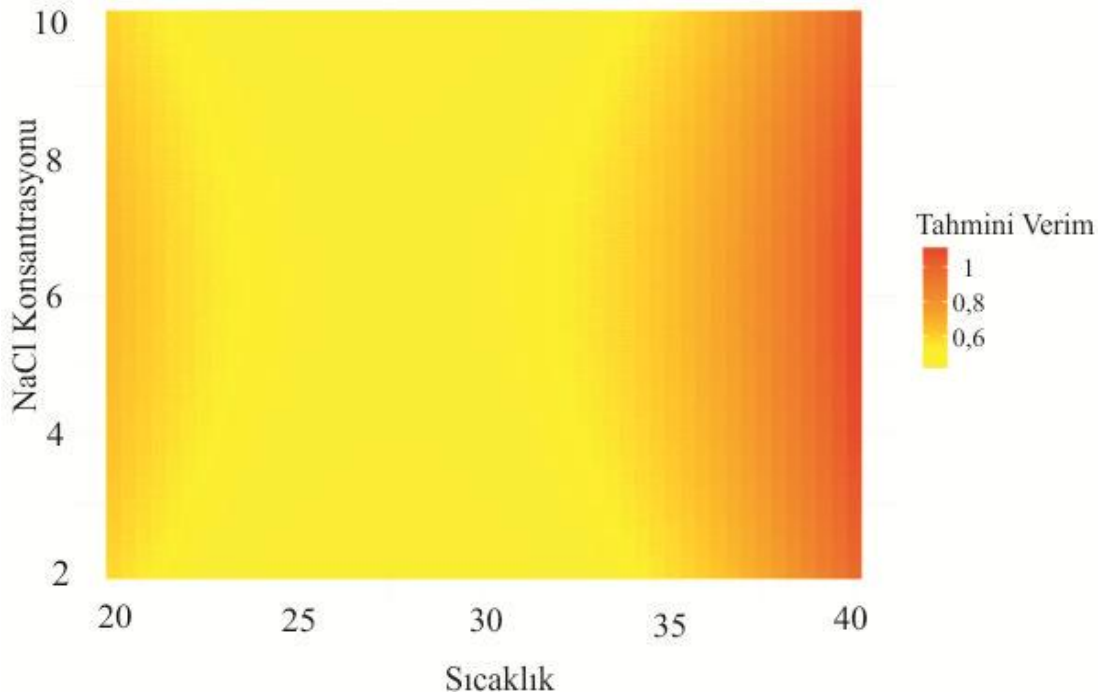
Şekil 5.84 30°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği



Şekil 5.85 40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

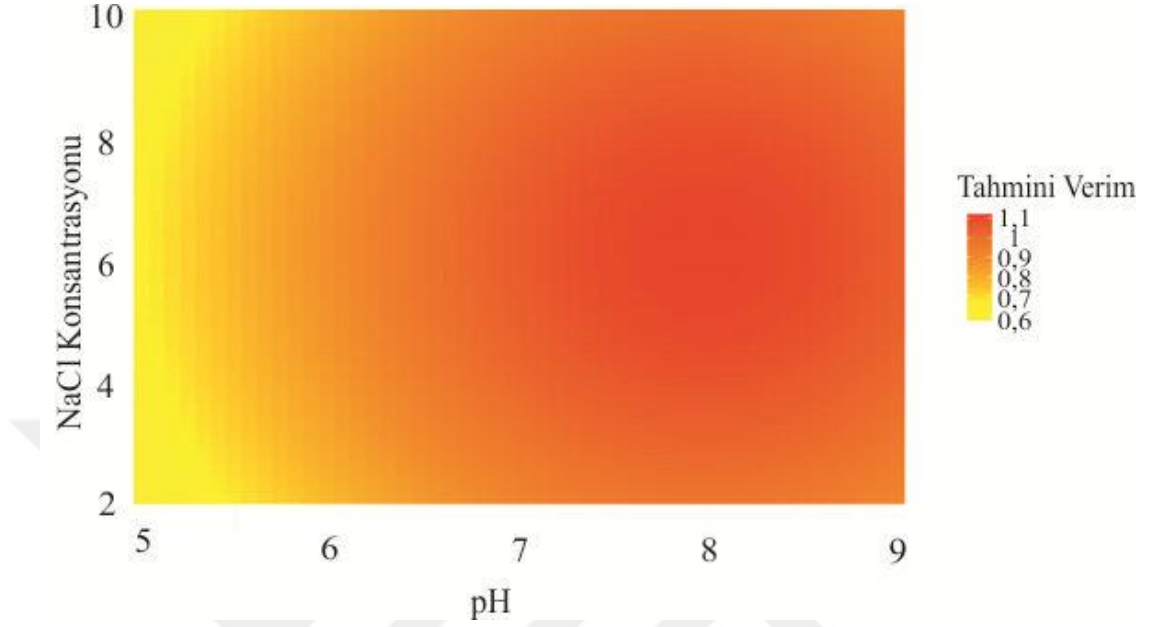
Elde edilen GAM model analizi, biyofilm oluşumu için en uygun koşulların; 40°C sıcaklık, %6,08 NaCl konsantrasyonu ve 8,02 pH değerlerinin bir araya gelmesiyle oluştuğunu göstermiştir. Modelin tahminlerine göre, bu ideal kombinasyon, yaklaşık 1,1176 absorbans değerine karşılık gelen yüksek bir biyofilm üretimi sağlayacaktır.

Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.86’da verilmiştir.



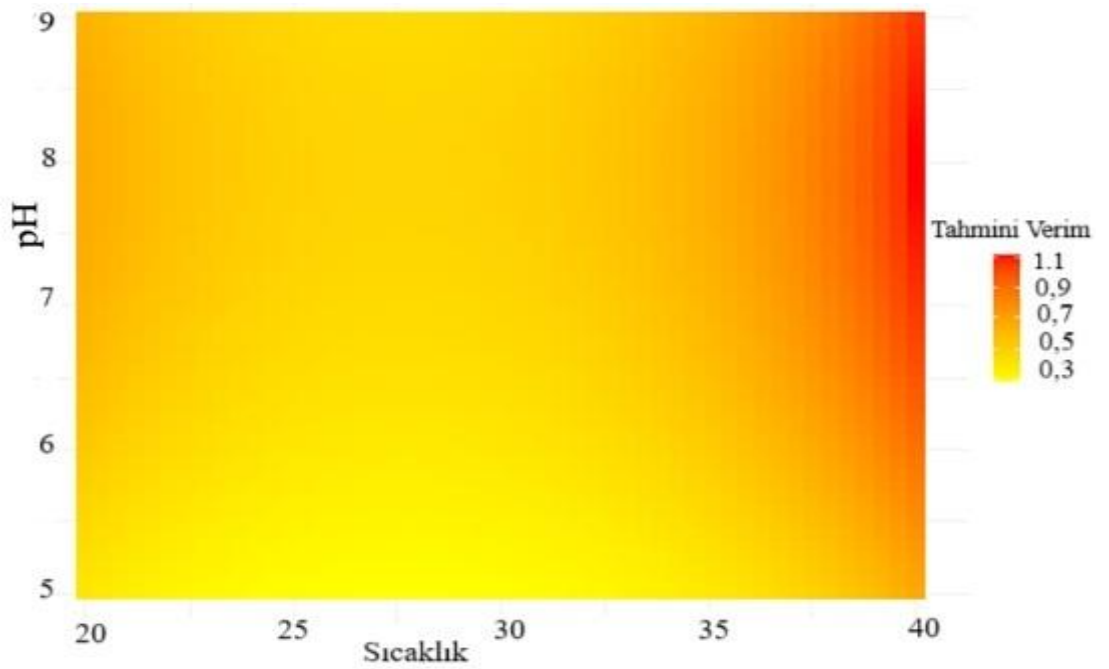
Şekil 5.86 Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.87’de verilmiştir.



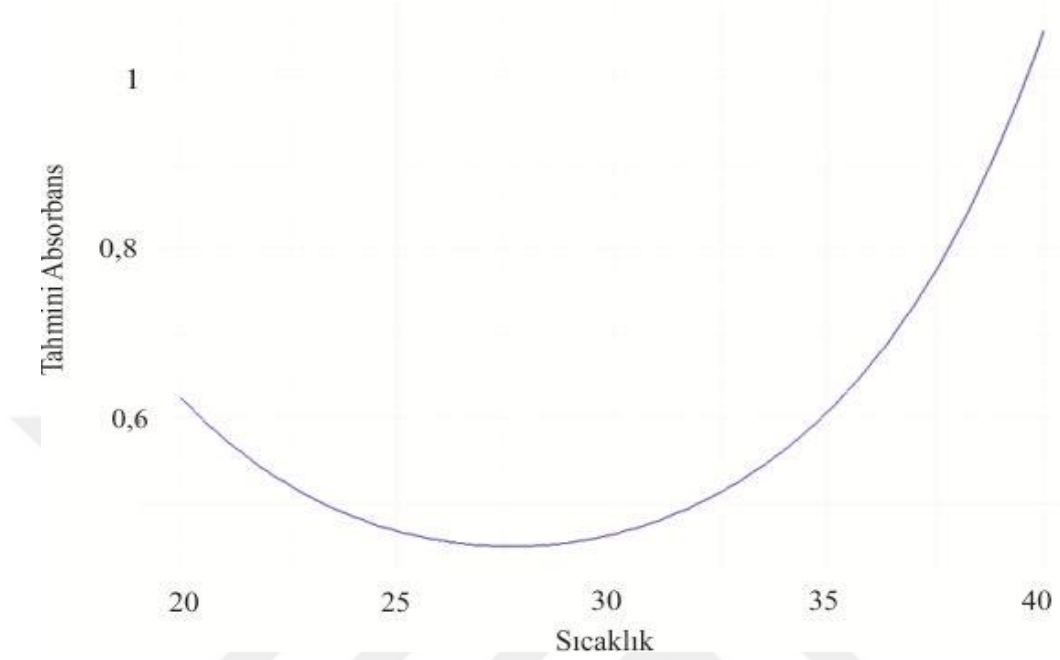
Şekil 5.87 Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği

Son olarak NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.88’de verilmiştir.



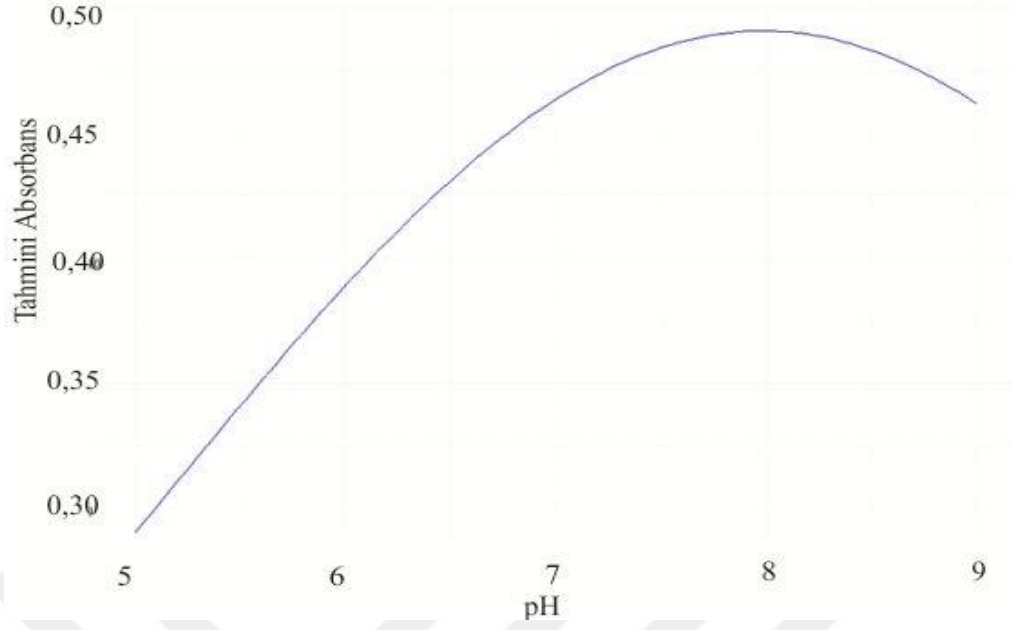
Şekil 5.88 NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Elde edilen GAM modeline göre pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.89’da verilmiştir.



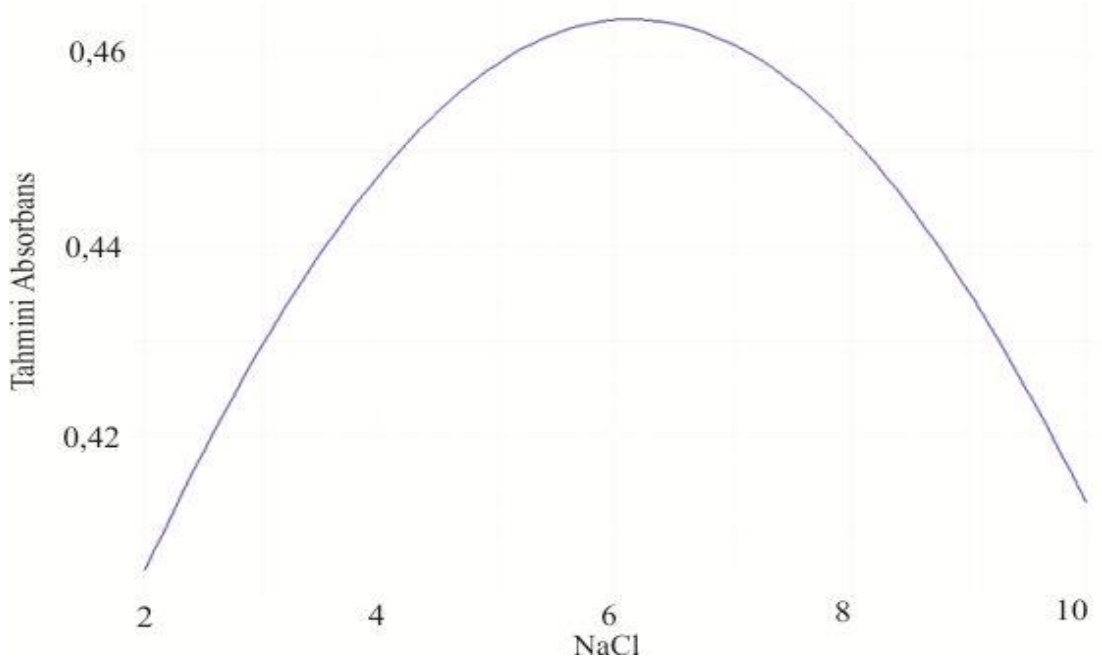
Şekil 5.89 pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH’ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.90’da verilmiştir.



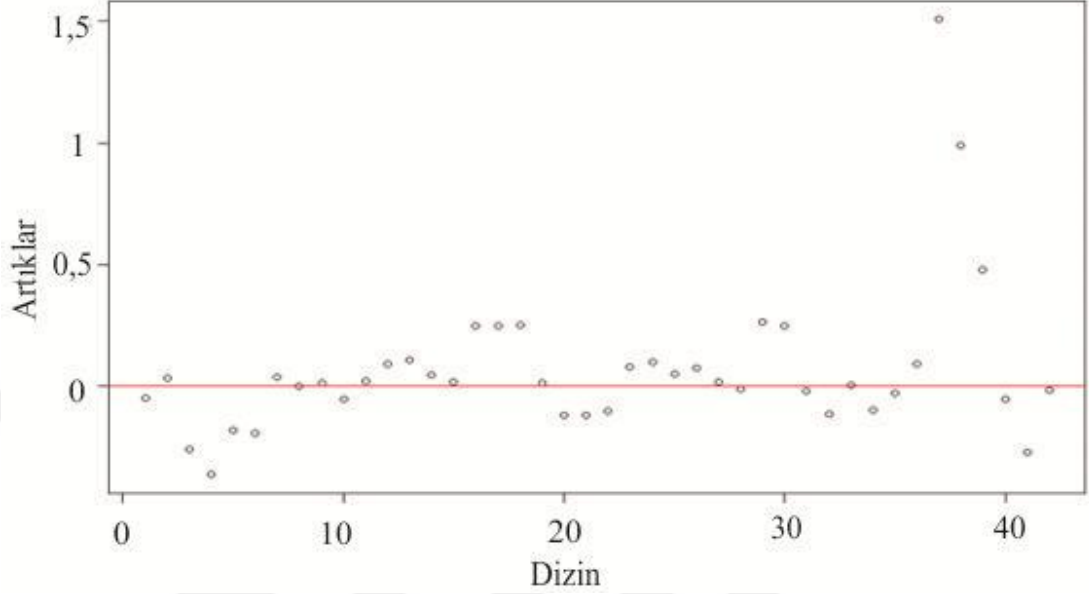
Şekil 5.90 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Son olarak elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.91'de verilmiştir.



Şekil 5.91 Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Bu etkileşimler için elde edilen artık değerler grafiği (residual grafiği) ise Şekil 5.92’de gösterilmektedir.



Şekil 5.92 GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)

5.2 Direnç Bazında Karşılaştırmalar

S. aureus biyofilm üretimi üzerinde sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu gibi çevresel faktörlerin etkilerini antibiyotik dirençleri bazında ayrıntılı bir şekilde incelemek amacıyla çeşitli regresyon modelleri kullanılmıştır.

Bu amaçla, doğrusal (linear), logaritmik, ters (inverse), kuadratik, kuadratik logaritmik, kübik, üstel ve doğrusal olmayan GAM (Genelleştirilmiş Aditif Model) gibi farklı regresyon modelleri denenmiştir.

5.2.1.1 Sefoksitine Göre Regresyon Modeli

5.2.1.1.1 Doğrusal (linear) regresyon modeli

Sefoksitin (-) için oluşturulan linear modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p>0,05$). Ayrıca modelin açıklama gücü oldukça düşüktür düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri -0,0247’dir ve negatiftir. Bu durum, modelin

absorbansdaki varyasyonu açıklamakta yetersiz kaldığını ve hatta rastgele bir modelden daha kötü performans gösterdiğini işaret etmektedir.

Sefoksitin (+) için elde edilen model sonuçlarına göre, yalnızca sıcaklık değişkeninin absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) pozitif bir etkisi bulunmaktadır. Bu, sıcaklık arttıkça absorbans değerinin de arttığı anlamına gelmektedir. pH ve NaCl değişkenlerinin tek başına absorbans üzerinde anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir. Etkileşim terimleri de, çoklu bağlantı (multicollinearity) sorunları nedeniyle değerlendirilememiştir. Ayrıca modelin açıklama gücü düşüktür, çünkü düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri 0,0460, bu da modelin absorbansdaki varyasyonun yalnızca %4,6'sını açıklayabildiğini göstermektedir.

5.2.1.1.2 Logaritmik regresyon modeli

Sefoksitin (-) ve Sefoksitin (+) için oluşturulan logaritmik modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbansın logaritması üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p>0,05$).

5.2.1.1.3 Ters (inverse) regresyon modeli

Sefoksitin (-) için oluşturulan ters (inverse) modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p>0,05$). Ayrıca modelin açıklama gücü oldukça düşüktür düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri -0,0316'dır ve negatiftir. Bu durum, modelin absorbansdaki varyasyonu açıklamakta yetersiz kaldığını ve hatta rastgele bir modelden daha kötü performans gösterdiğini işaret etmektedir.

Sefoksitin (+) için elde edilen model sonuçlarına göre, yalnızca pH değişkeninin absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) pozitif bir etkisi bulunmaktadır. Bu, sıcaklık arttıkça absorbans değerinin de arttığı anlamına gelmektedir. Sıcaklık ve NaCl değişkenlerinin tek başına absorbans üzerinde anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir. Etkileşim terimleri de, çoklu bağlantı (multicollinearity) sorunları nedeniyle değerlendirilememiştir. Ayrıca modelin açıklama gücü düşüktür,

çünkü düzeltilmiş R-kare (adjusted R²) değeri 0,0284, bu da modelin absorbandsdaki varyasyonun yalnızca %2,84'ünü açıklayabildiğini göstermektedir.

5.2.1.1.4 Kuadratik regresyon modeli

Sefoksitin (-) için oluşturulan kuadratik model sonuçlarına göre, sıcaklık, pH, NaCl ve bunların karelerinin tamamı absorbands üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilere sahiptir ($p < 0,001$). Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonun katsayıları pozitif iken, bu parametrelerin karelerinin katsayıları negatiftir. Bu durum, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonun absorbands üzerindeki etkilerinin doğrusal olmadığını, belirli bir noktadan sonra azalmaya başladığını gösterir. Modelin açıklama gücü önemli daha önceki modellere göre ölçüde artmıştır (düzeltilmiş R-kare (adjusted R²) değeri = 0,2951). Bu, modelin absorbandsdaki varyasyonun yaklaşık %30'unu açıklayabildiğini gösterir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır. Sonuç olarak, kuadratik model Sefoksitin (-) için absorbands değerini tahmin etmede önceki modellere göre daha başarılıdır.

Sefoksitin (+) için kuadratik model sonuçlarına göre, sıcaklık ve sıcaklığın karesi değişkenleri absorbands üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilere sahiptir ($p < 0,001$). Intercept değeri (modelin sabiti) de anlamlıdır ($p < 0,05$). Modele göre sıcaklığın katsayısı negatif iken, sıcaklığın karesinin katsayısı pozitiftir. Bu durum, sıcaklığın absorbands üzerindeki etkisinin doğrusal olmadığını ve U şeklinde bir ilişki olduğunu gösterir. Diğer değişkenler (pH, NaCl konsantrasyonu, pH'ın karesi ve NaCl konsantrasyonun karesi) absorbands üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir. Modelin açıklama gücü önceki modellere göre önemli ölçüde artmıştır (düzeltilmiş R-kare (adjusted R²) değeri = 0,4967). Bu, modelin absorbandsdaki varyasyonun yaklaşık %50'sini açıklayabildiğini gösterir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır. Sonuç olarak, kuadratik model Sefoksitin (+) için absorbands değerini tahmin etmede doğrusal modele göre daha başarılıdır ve özellikle sıcaklığın absorbands üzerindeki U şeklinde etkisini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, kuadratik modeller hem Sefoksitin (-), hem de Sefoksitin (+) için, önceki modellere göre daha iyi sonuçlar vermektedir. Özellikle sıcaklığın etkisi, kuadratik

terimler sayesinde daha iyi açıklanabilmektedir. Etkileşim terimlerinin çoklu bağlantı sorunları nedeniyle değerlendirilememesi her iki modelin de sınırlamasıdır.

5.2.1.1.5 Kuadratik logaritmik regresyon modeli

Sefoksitin (-) için oluşturulan kuadratik logaritmik model sonuçlarına göre, sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu, sıcaklığın karesi, pH'ın karesi ve NaCl konsantrasyonun karesi değişkenlerinin tamamı absorbansın logaritması üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilere sahiptir ($p < 0,05$). Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonun katsayıları pozitif iken; sıcaklığın karesi, pH'ın karesi ve NaCl konsantrasyonun karesinin katsayıları negatiftir. Bu durum, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonun absorbansın logaritması üzerindeki etkilerinin doğrusal olmadığını, belirli bir noktadan sonra azalmaya başladığını gösterir. Modelin açıklama gücü önceki modellere göre önemli ölçüde artmıştır (düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0,3776). Bu, modelin absorbansın logaritmasındaki varyasyonun yaklaşık %38'ini açıklayabildiğini gösterir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır. Logaritmik dönüşüm, modelin uyumunu iyileştirmiş gibi görünmektedir.

Sefoksitin (+) için oluşturulan kuadratik logaritmik model sonuçlarına göre, sıcaklık ve sıcaklığın karesi değişkenleri absorbansın logaritması üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilere sahiptir ($p < 0,001$). Intercept değeri (modelin sabiti) de sınıra yakın bir anlamlılık göstermektedir ($p = 0,0513$). Sıcaklığın katsayısı negatif iken, sıcaklığın karesinin katsayısı pozitifdir. Bu durum, sıcaklığın absorbansın logaritması üzerindeki etkisinin doğrusal olmadığını ve U şeklinde bir ilişki olduğunu gösterir. Diğer değişkenler (pH, NaCl konsantrasyonu, pH'ın karesi, NaCl konsantrasyonunun karesi) absorbansın logaritması üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir. Modelin açıklama gücü oldukça yüksektir (düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0.6561). Bu, modelin absorbansın logaritmasındaki varyasyonun yaklaşık %66'sını açıklayabildiğini gösterir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır.

Sonuç olarak, kuadratik logaritmik modeller hem Sefoksitin (-), hem de Sefoksitin (+) için, önceki modellere göre daha iyi sonuçlar vermektedir. Özellikle Sefoksitin (+) için açıklama gücü önemli ölçüde artmıştır. Logaritmik dönüşüm, modelin uyumunu iyileştirmiş ve kalıntıların dağılımını daha normal hale getirmiş gibi görünmektedir. Etkileşim terimlerinin çoklu bağlantı sorunları nedeniyle değerlendirilememesi her iki modelin de sınırlamasıdır.

5.2.1.1.6 Kübik regresyon modeli

Kübik model, kuadratik modelden farklı olarak ek bir açıklayıcı bilgi sağlamamıştır; her iki model de aynı sonuçları vermiştir.

5.2.1.1.7 Üstel regresyon modeli

Sefoksitin (-) için oluşturulan üstel model sonuçlarına göre, modeldeki hiçbir değişkenin absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p>0,05$). Bu durum, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonunun tek başına veya etkileşimli olarak Sefoksitin (-) için absorbansını anlamlı bir şekilde etkilemediğini göstermektedir. Modelin açıklama gücü oldukça düşüktür (düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = -0,0136), hatta düzeltilmiş R-kare değeri negatiftir. Bu durum, modelin absorbansdaki varyasyonu açıklamakta yetersiz kaldığını ve hatta rastgele bir modelden daha kötü performans gösterdiğini işaret etmektedir. Sonuç olarak, bu model Sefoksitin (-) için absorbans değerini tahmin etmek için uygun değildir. Etkileşim terimlerinin değerlendirilememesi de modelin sınırlamalarından biridir.

Sefoksitin (+) için oluşturulan üstel model sonuçlarına göre, pH değişkeninin absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif etkisi bulunmaktadır ($p<0,01$). Bu, pH arttıkça logaritmik absorbansın da arttığı anlamına gelmektedir. Intercept değeri (modelin sabiti) de oldukça anlamlıdır ($p<0,001$). Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu değişkenlerinin tek başına absorbans üzerinde anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir. Modelin açıklama gücü düşüktür (düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0,09235). Bu, modelin absorbansdaki varyasyonun yaklaşık %9'unu açıklayabildiğini göstermektedir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır. Sonuç olarak, bu model Sefoksitin (+) için

absorbans değerini tahmin etmek için kısmen uygundur, ancak pH dışındaki diğer değişkenlerin etkisi sınırlıdır.

5.2.1.1.8 Doğrusal olmayan GAM regresyon modeli

Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) sonuçlarına göre Sefoksitin (-) için sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu değişkenlerinin spline (bölünmüş polinom eğrisi) terimleri anlamlı bulunurken ($p < 0,05$), aynı zamanda sıcaklığın karesi, pH'ın karesi ve NaCl konsantrasyonunun karesi terimleri de anlamlı bulunmuştur. Bu durum, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonunun absorbansın logaritması üzerindeki etkilerinin doğrusal olmadığını ve hem doğrusal olmayan, hem de karesel bir ilişki olduğunu göstermektedir. Modelin açıklama gücü düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0,3780 olarak bulunmuştur, bu da modelin absorbansın logaritmasındaki varyasyonun yaklaşık %38'ini açıklayabildiğini gösterir.

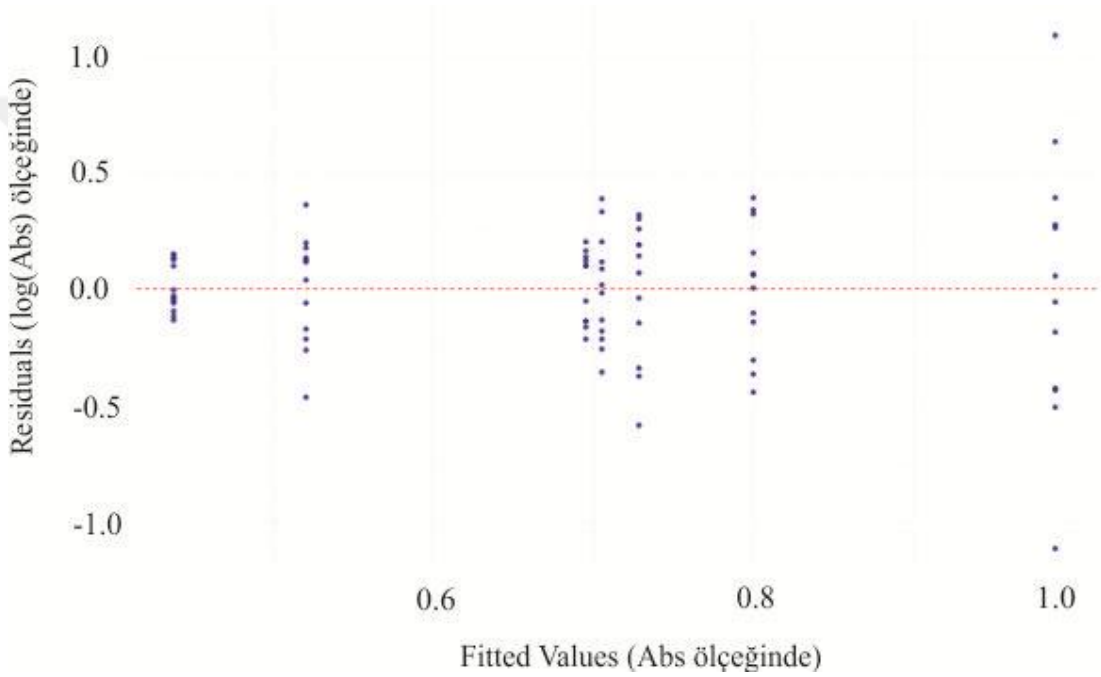
Sefoksitin (+) içinse, sadece sıcaklık değişkeninin spline (bölünmüş polinom eğrisi) terimi ve sıcaklığın karesi terimi anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). pH ve NaCl değişkenlerinin spline terimleri, pH'ın karesi ve NaCl konsantrasyonunun karesi terimleri anlamlı bulunmamıştır. Modelin açıklama gücü düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0,6560 olarak bulunmuştur, bu da modelin absorbansın logaritmasındaki varyasyonun yaklaşık %66'sını açıklayabildiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, GAM modelleri hem Sefoksitin (-), hem de Sefoksitin (+) için logaritmik absorbansa faktörlerin etkisini anlamlı bir şekilde açıklamaktadır. Özellikle Sefoksitin (+) için elde edilen daha yüksek açıklama gücü, GAM modelinin bu direnç durumu için absorbansı daha iyi yakaladığını göstermektedir. Bu analizde test edilen modeller arasında, GAM modeli en iyi performansı sergilemektedir. Bu nedenle, sefoksitin direncinde absorbansa faktörlerin etkilerini daha detaylı incelemek için GAM modeli tercih edilmiştir. Bu model, değişkenler arasındaki doğrusal olmayan ilişkileri yakalayabilmesi ve anlamlı değişkenleri belirleyebilmesi sayesinde daha güvenilir sonuçlar sunmaktadır.

5.2.1.1.9 Sefoksitin (-) için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar

Yukarıda detaylı bir şekilde açıklandığı üzere sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu gibi çevresel faktörlerin Sefoksitin (-) *S. aureus* biyofilmine etkisini açıklayabilmek için GAM modelinin kullanılmasına karar verilmiştir.

Genelleştirilmiş Aditif Modelinin (GAM) Sefoksitin (-) olanlar için uyum iyiliğini değerlendirmek amacıyla çizilen artık değerler grafiği (residual grafiği) Şekil 5.93'te sunulmuştur. Bu grafik, modelin hatalarının rastgele dağılıp dağılmadığını ve herhangi bir sistematik örüntü olup olmadığını görsel olarak göstermektedir.



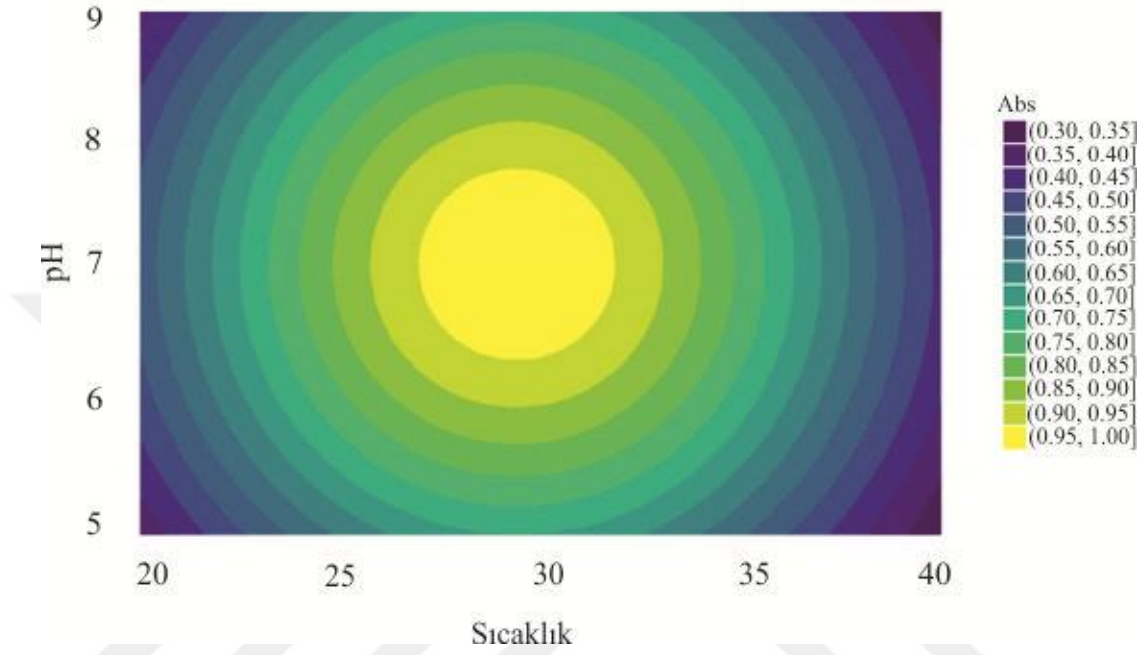
Şekil 5.93 Artıklar ve tahmin edilen değerler

Sefoksitin (-) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin ikili etkileşimleri Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) kullanılarak incelenmiştir.

Şekil 5.94'te sunulan kontur grafiği, pH ve sıcaklığın Sefoksitin (-) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm üzerindeki ortak etkisini görselleştirmektedir.

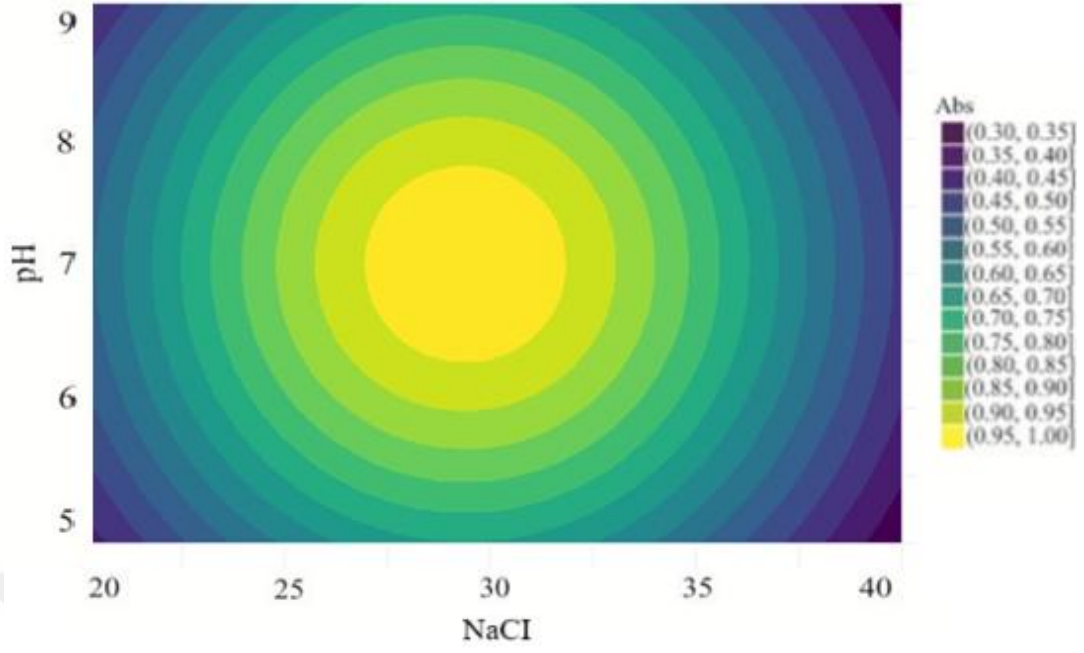
Şekil 5.94, farklı pH ve sıcaklık kombinasyonlarında suşun oluşturduğu biyofilm miktarının nasıl değiştiğini göstermektedir. Konturlar, belirli bir biyofilm miktarına

sahip pH ve sıcaklık değerlerini birleştirerek, biyofilm koşulları için en uygun bölgeleri vurgulamaktadır.



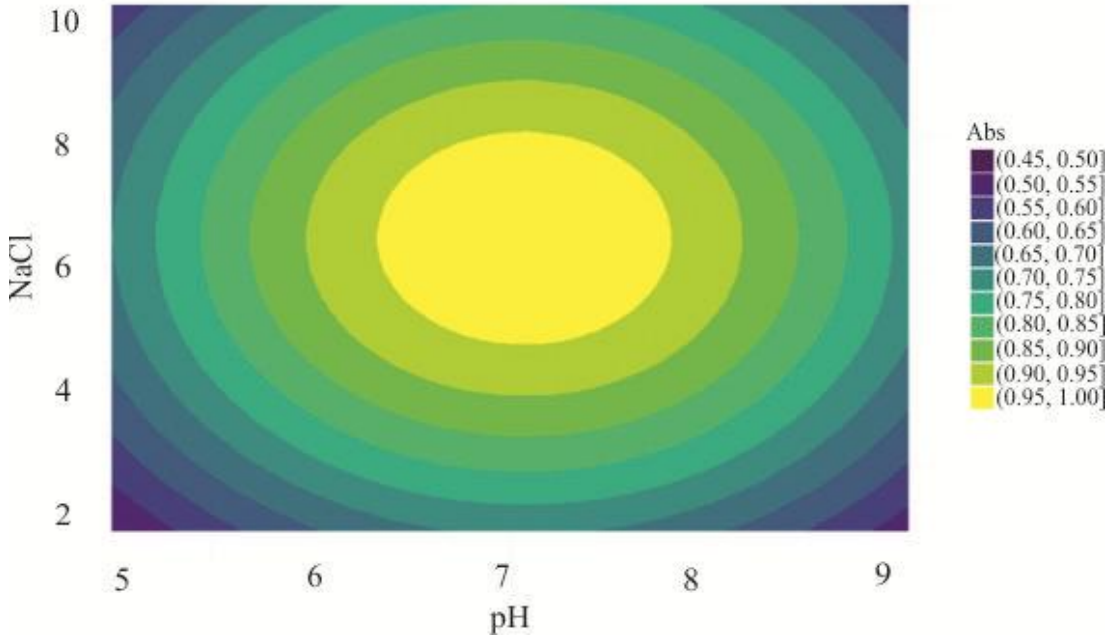
Şekil 5.94 Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği

Şekil 5.95'te gösterilen kontur grafiği, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun Sefoksitin (-) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm miktarı üzerindeki etkisini incelemektedir.



Şekil 5.95 Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği

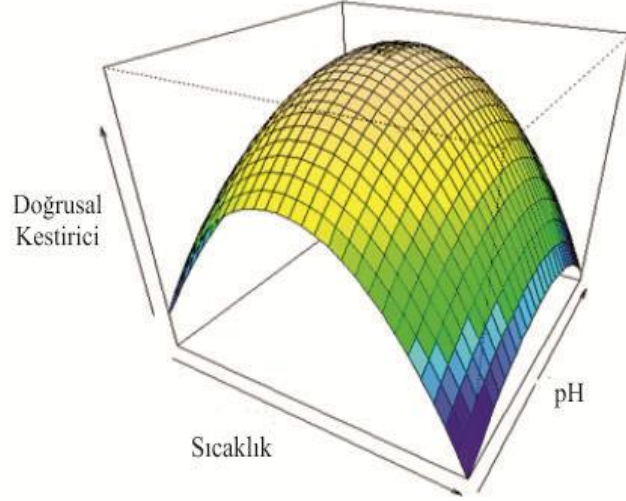
Şekil 5.96'da sunulan kontur grafiği, NaCl konsantrasyonu ve pH'ın Sefoksitin (-) *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki ortak etkisini göstermektedir.



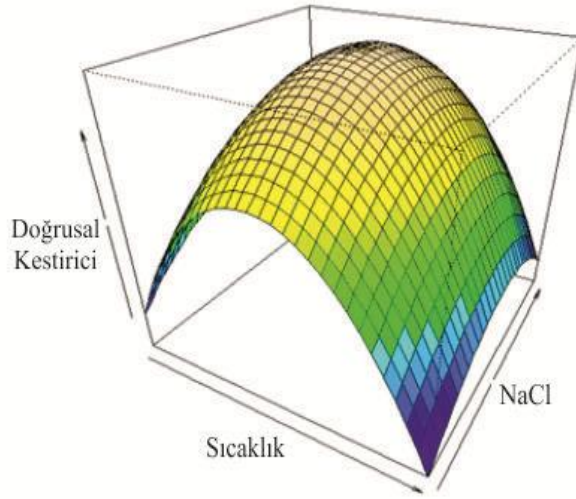
Şekil 5.96 pH ve NaCl'nin kontur grafiği

Kontur grafiklerine ek olarak, ikili parametre etkileşimleri, daha kapsamlı bir görsel analiz sağlamak amacıyla 3 boyutlu yüzey grafikleri ile de gösterilmiştir. 3 boyutlu

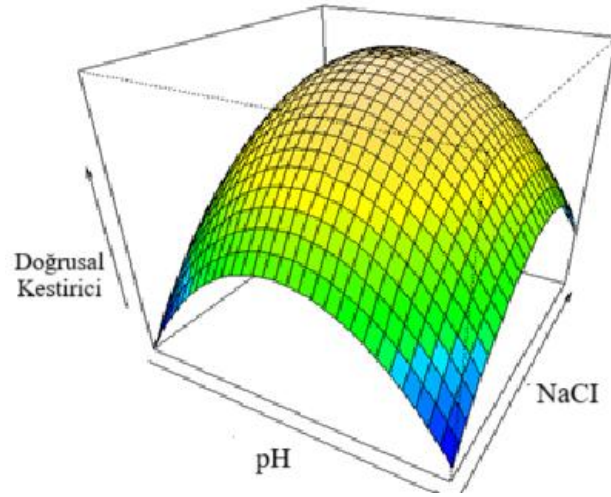
ikili etkileşimler sıcaklık-pH için Şekil 5.97, sıcaklık-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.98 ve pH-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.99’da verilmiştir.



Şekil 5.97 Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

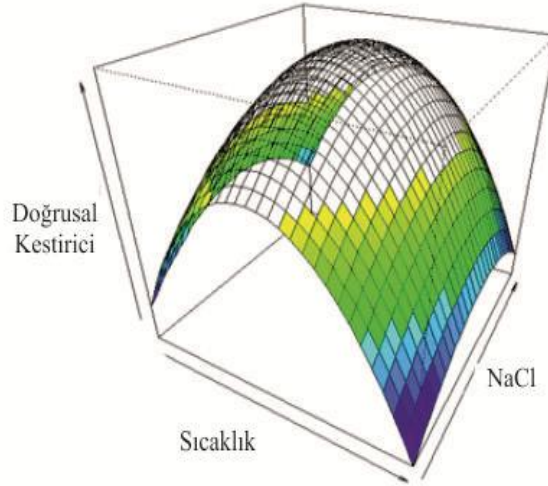


Şekil 5.98 Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

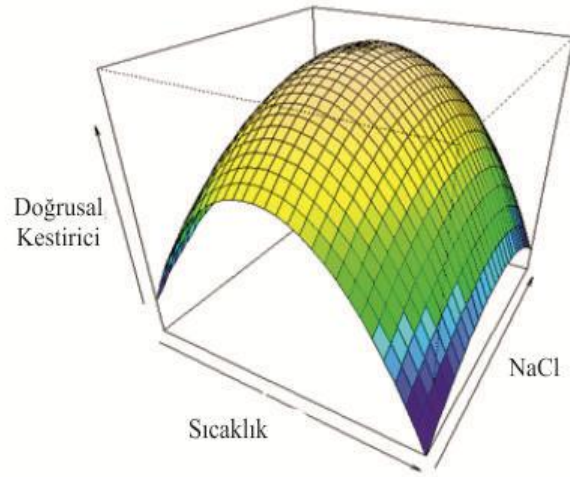


Şekil 5.99 pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

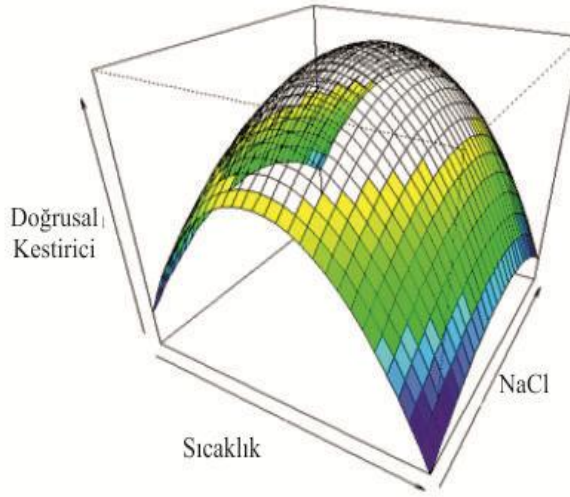
pH değeri 5 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.100’de, pH değeri 7 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.101’de ve pH değeri 9 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.102’de verilmiştir.



Şekil 5.100 pH=5’te Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

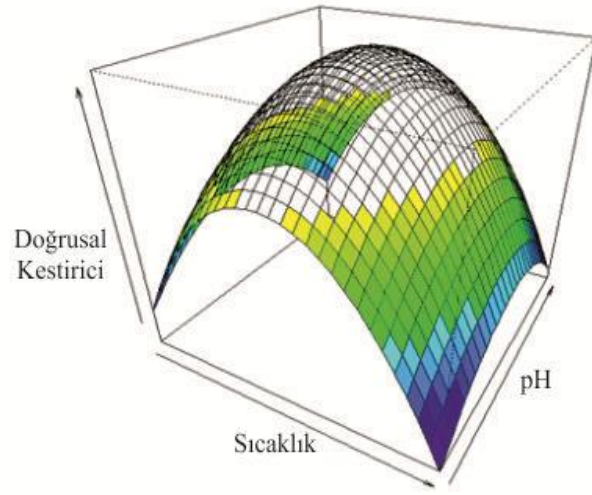


Şekil 5.101 pH=7’de Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

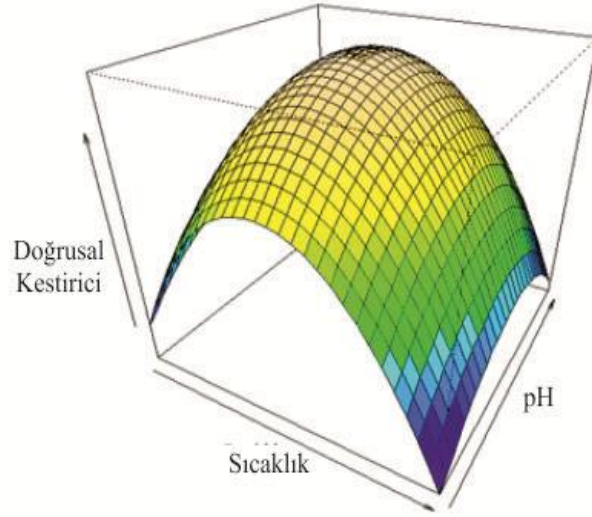


Şekil 5.102 pH=9’da Sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

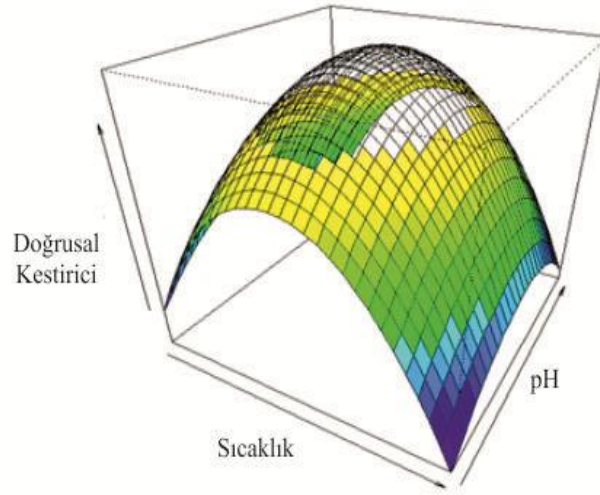
NaCl konsantrasyon %2 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.103’te, NaCl konsantrasyon %6 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.104’de ve NaCl konsantrasyon %10 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.105’de verilmiştir.



Şekil 5.103 NaCl=2’de Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

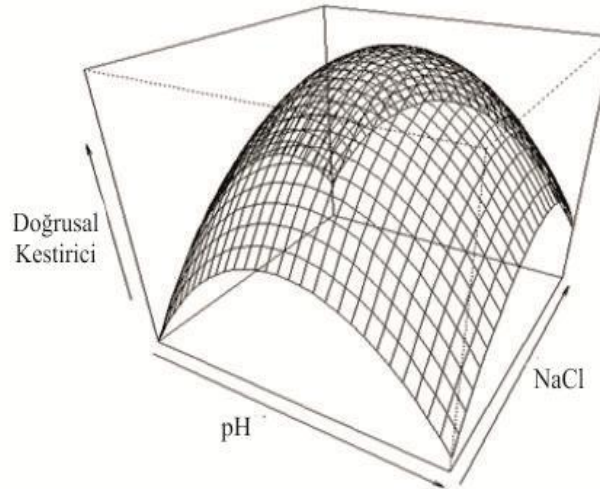


Şekil 5.104 NaCl=6’da Sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

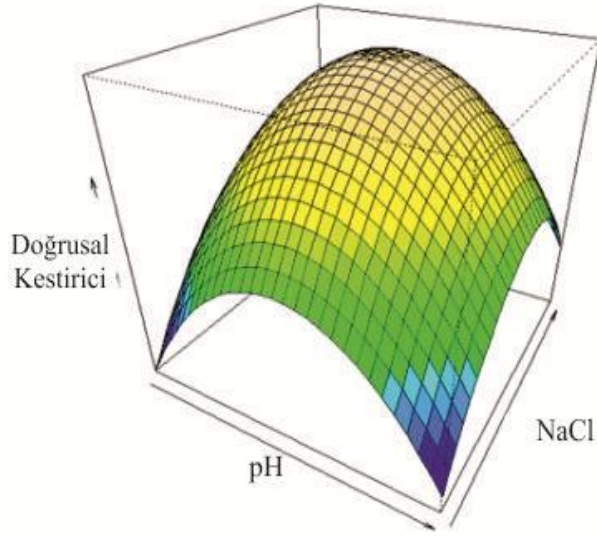


Şekil 5.105 NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

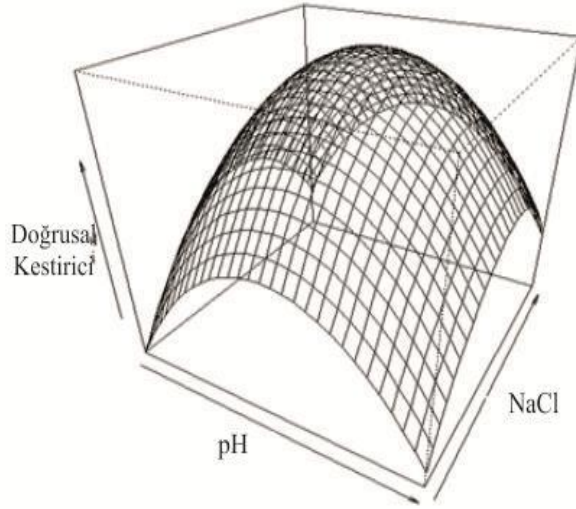
Sıcaklık 20°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.106'da, Sıcaklık 30°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.107'de ve Sıcaklık 40°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.108'de verilmiştir.



Şekil 5.106 20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



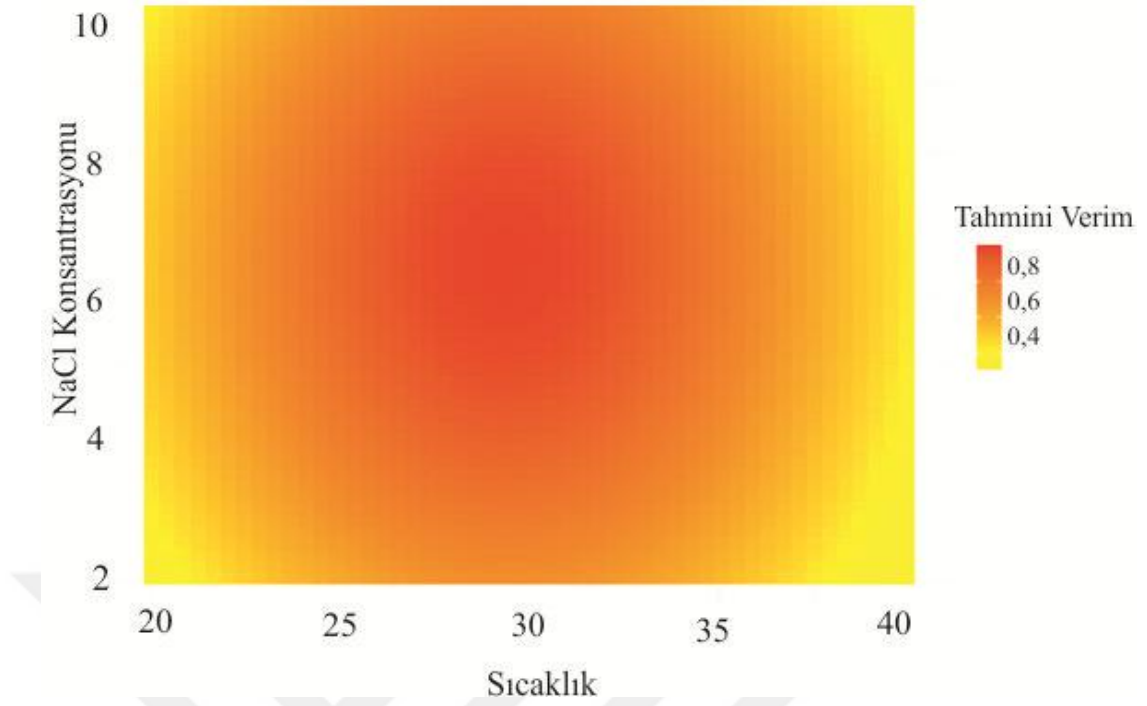
Şekil 5.107 30°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği



Şekil 5.108 40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

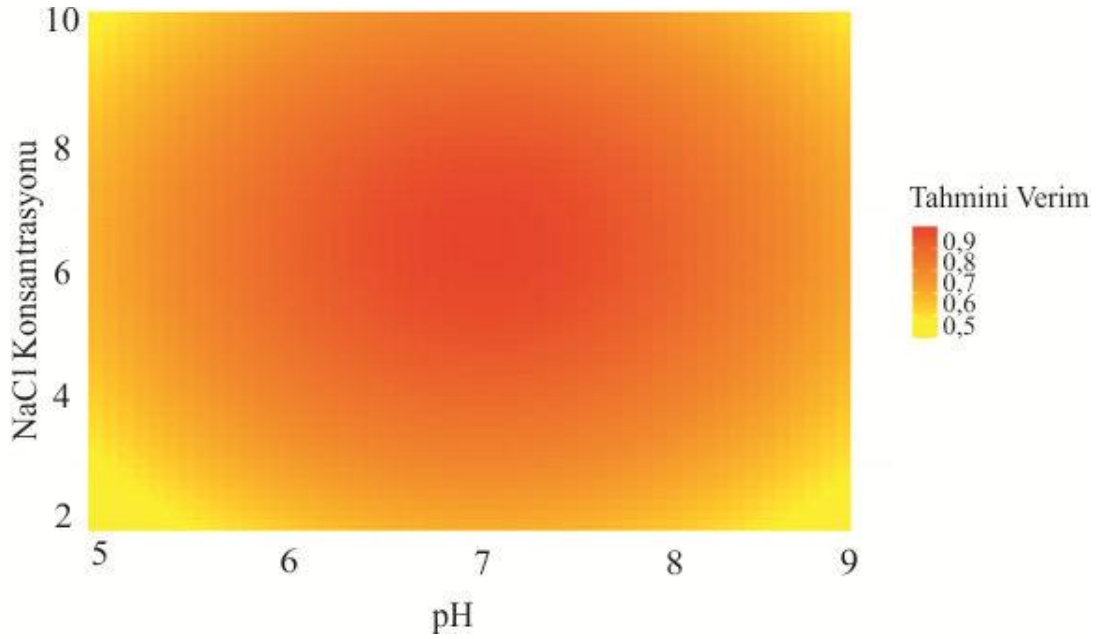
Elde edilen GAM model analizi, biyofilm oluşumu için en uygun koşulların; 29,39°C sıcaklık, %6,41 NaCl konsantrasyonu ve 7,04 pH değerlerinin bir araya gelmesiyle oluştuğunu göstermiştir. Modelin tahminlerine göre, bu ideal kombinasyon, yaklaşık 0,9960 absorbans değerine karşılık gelen yüksek bir biyofilm üretimi sağlayacaktır.

Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.109’da verilmiştir.



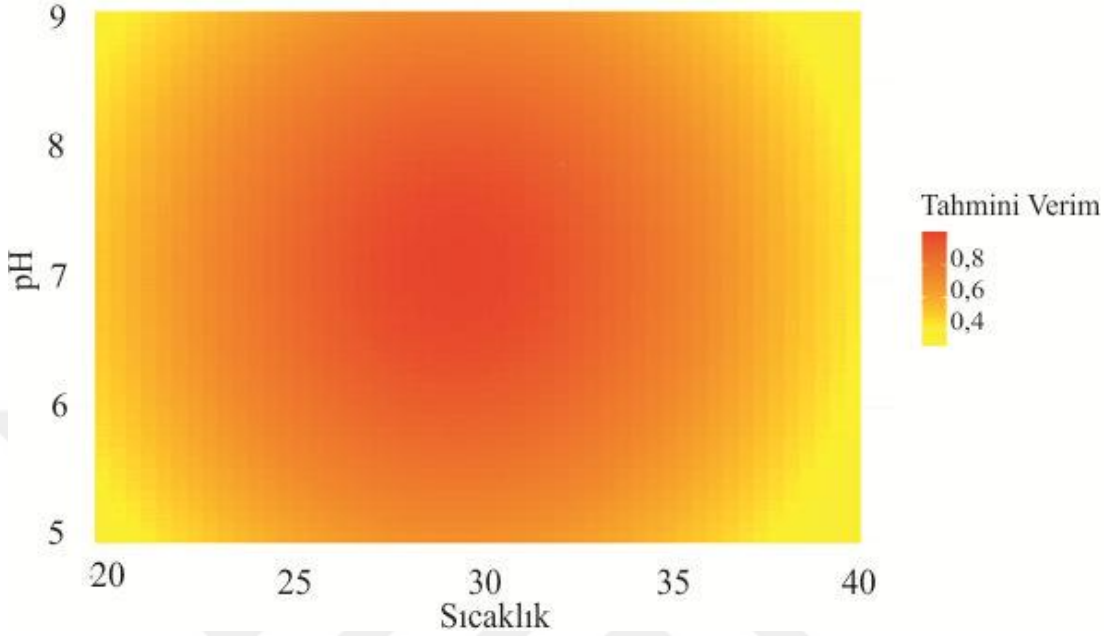
Şekil 5.109 Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.110’da verilmiştir.



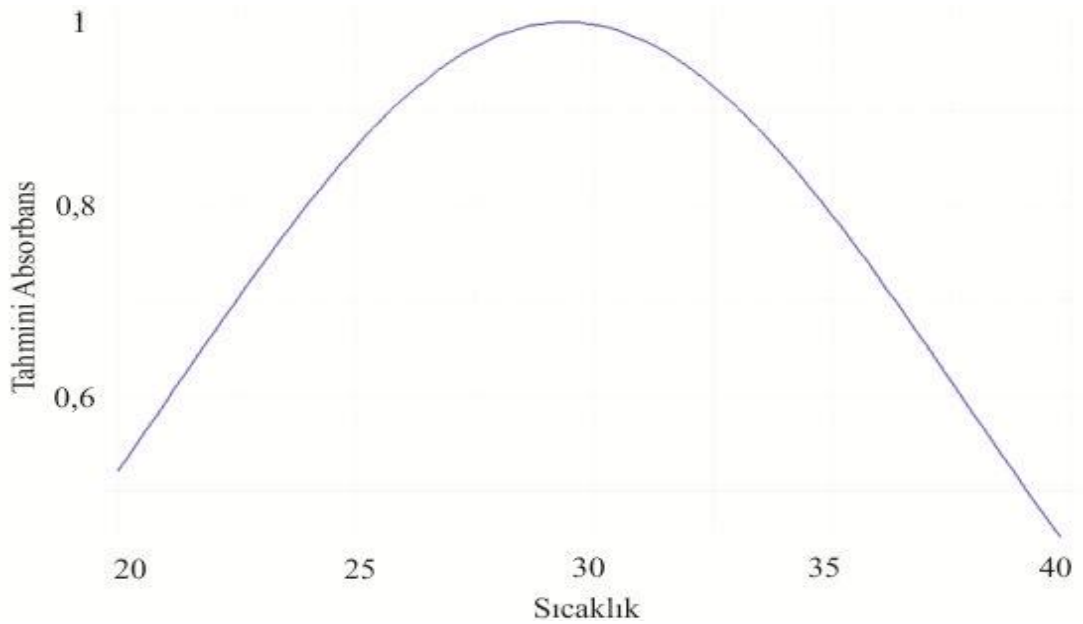
Şekil 5.110 Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği

Son olarak NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.111'de verilmiştir.



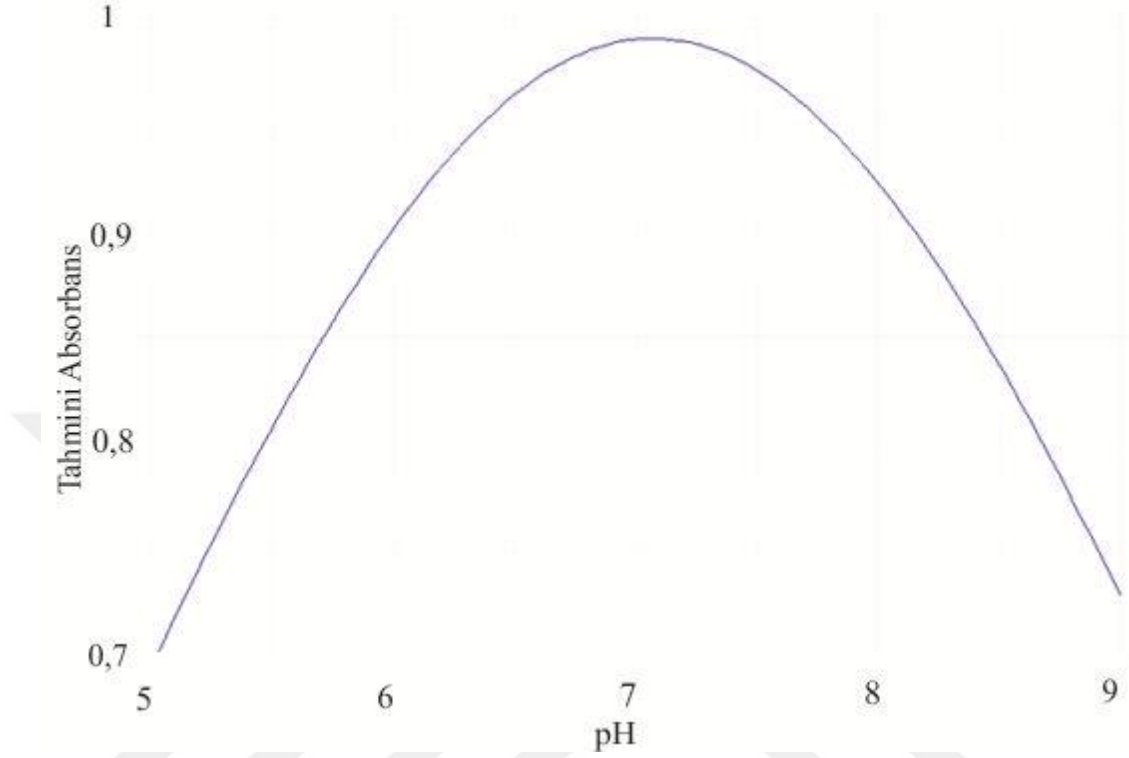
Şekil 5.111 NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Elde edilen GAM modeline göre pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.112'de verilmiştir.



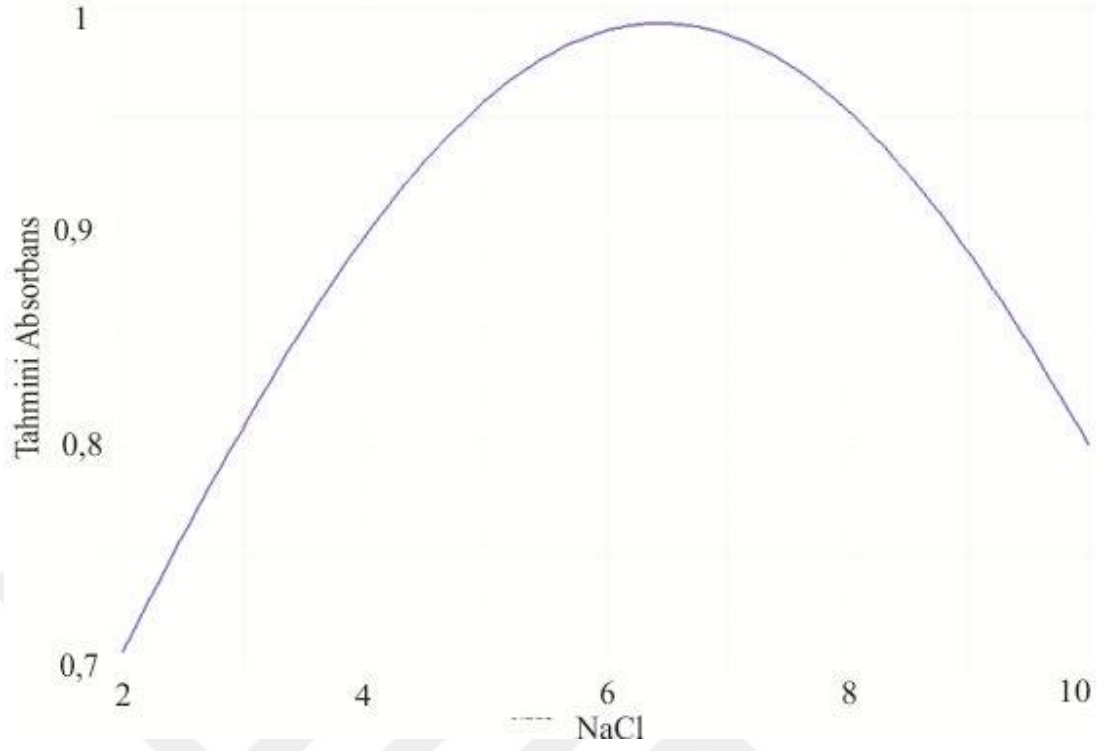
Şekil 5.112 pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.113'de verilmiştir.



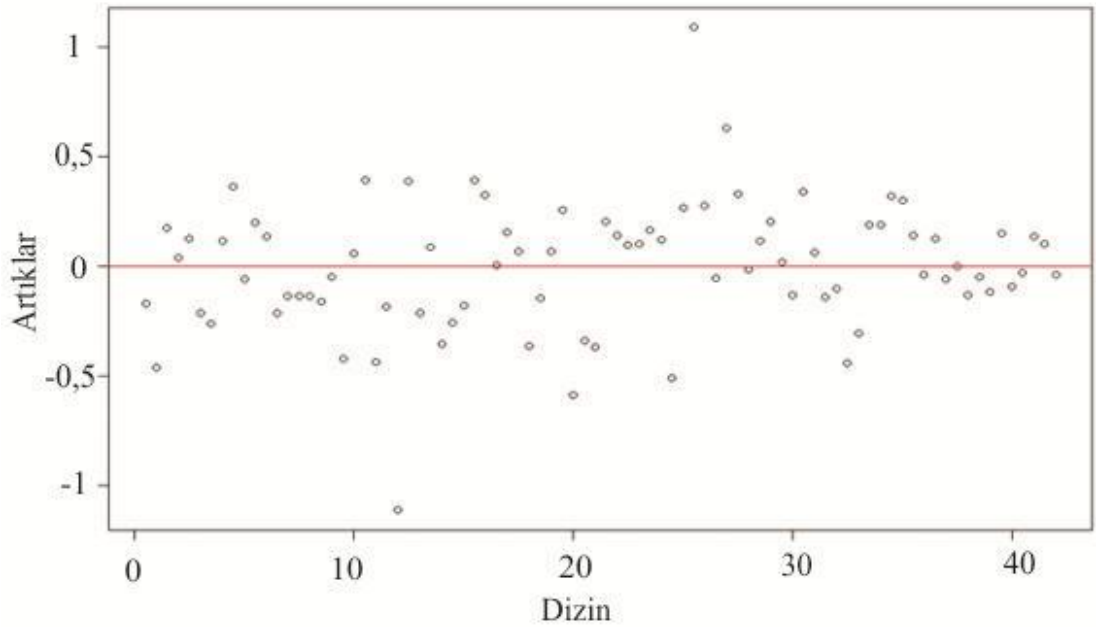
Şekil 5.113 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Son olarak elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.114'de verilmiştir.



Şekil 5.114 Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi

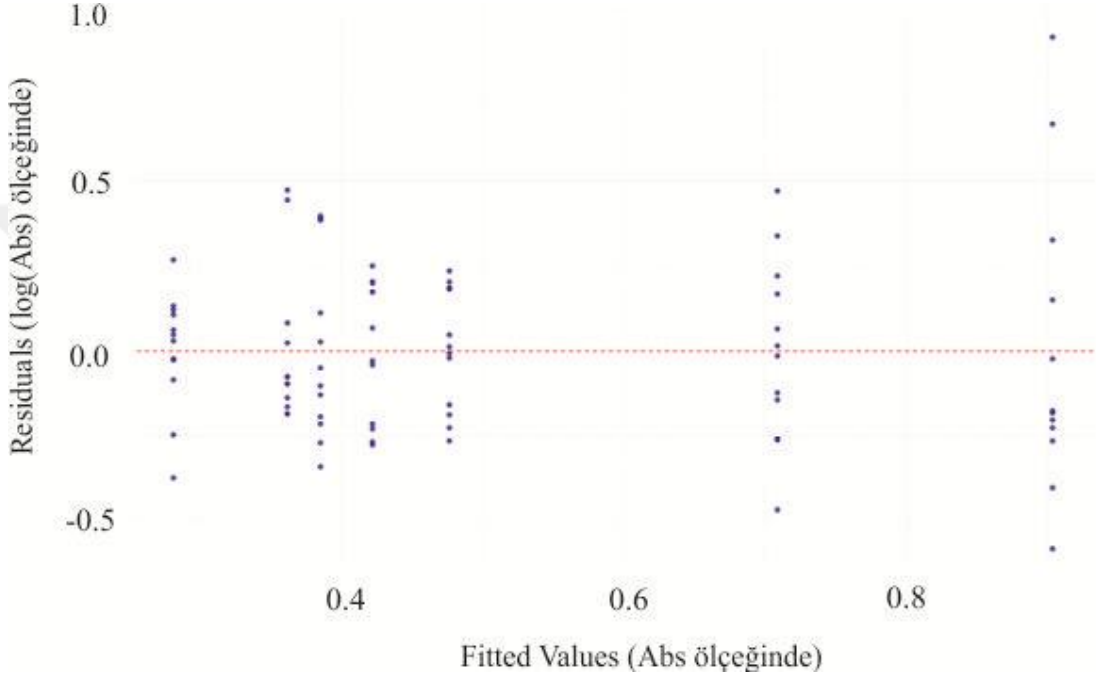
Bu etkileşim için elde edilen residual grafiği ise Şekil 5.115'de gösterilmektedir.



Şekil 5.115 Sefoksitin (-) *S. aureus* suşlarına uygulanan GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)

5.2.1.1.10 Sefoksitin (+) için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar

Genelleştirilmiş Aditif Modelinin (GAM) Sefoksitin (+) olanlar için uyum iyiliğini değerlendirmek amacıyla çizilen artık değerler grafiği (residual grafiği) Şekil 5.116'da sunulmuştur. Bu grafik, modelin hatalarının rastgele dağılıp dağılmadığını ve herhangi bir sistematik örüntü olup olmadığını görsel olarak göstermektedir.

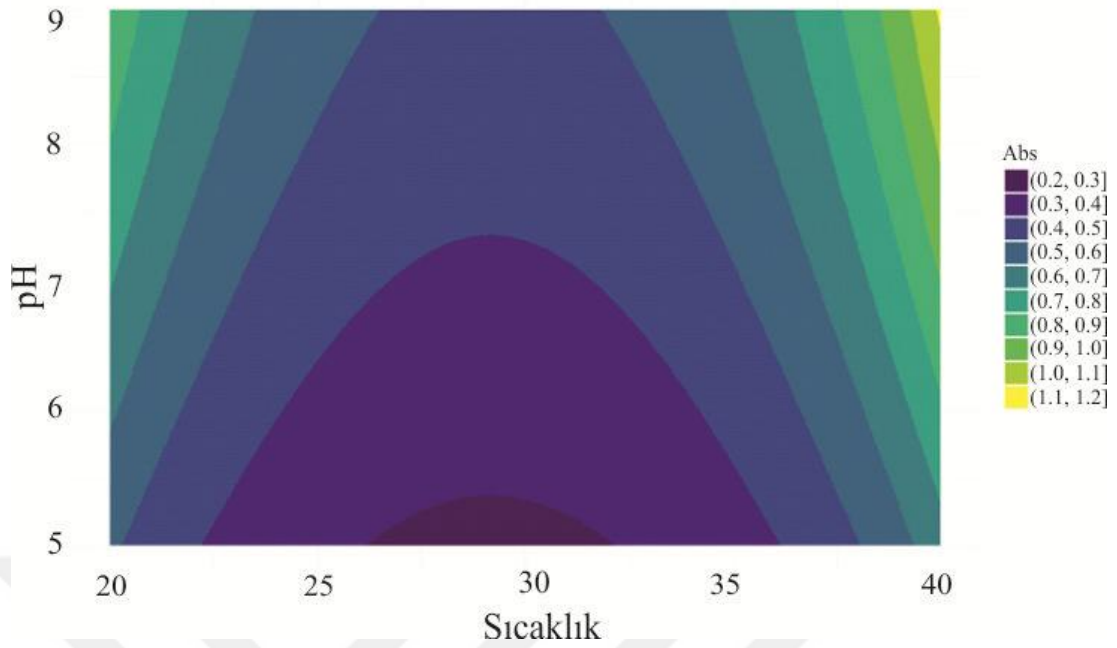


Şekil 5.116 Artıklar ve tahmin edilen değerler

Sefoksitin (+) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin ikili etkileşimleri Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) kullanılarak incelenmiştir.

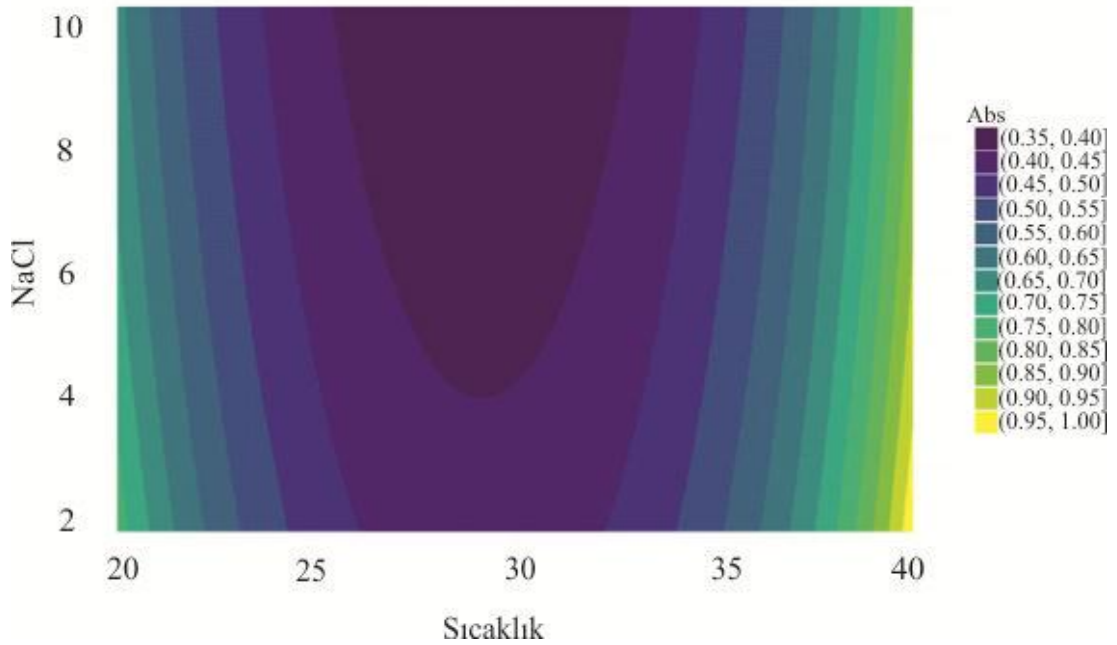
Şekil 5.117'de sunulan kontur grafiği, pH ve sıcaklığın Sefoksitin (+) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm üzerindeki ortak etkisini görselleştirmektedir.

Şekil 5.117, farklı pH ve sıcaklık kombinasyonlarında suşun oluşturduğu biyofilm miktarının nasıl değiştiğini göstermektedir. Konturlar, belirli bir biyofilm miktarına sahip pH ve sıcaklık değerlerini birleştirerek, biyofilm koşulları için en uygun bölgeleri vurgulamaktadır.



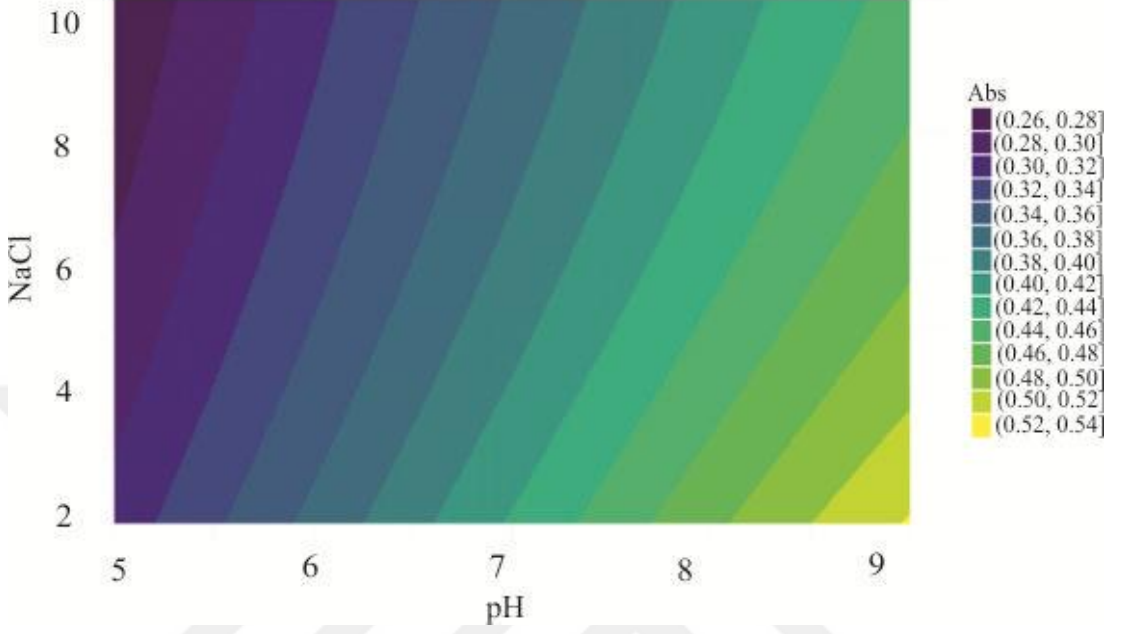
Şekil 5.117 Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği

Şekil 5.118'de gösterilen kontur grafiği, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun Sefoksitin (+) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm miktarı üzerindeki etkisini incelemektedir.



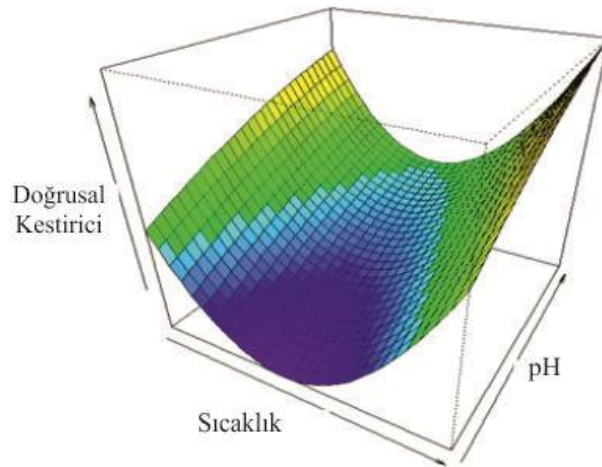
Şekil 5.118 Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği

Şekil 5.119’da sunulan kontur grafiği, NaCl konsantrasyonu ve pH’ın Sefoksitin (+) *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki ortak etkisini göstermektedir.

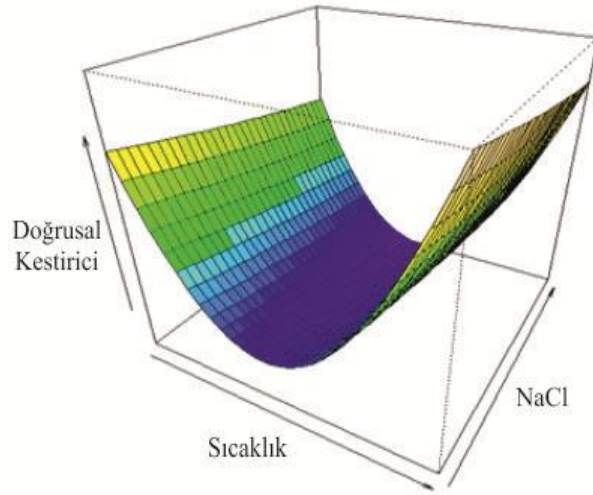


Şekil 5.119 pH ve NaCl’nin kontur grafiği

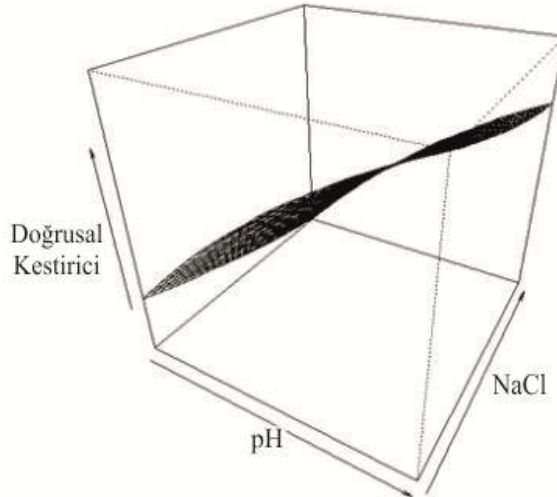
Kontur grafiklerine ek olarak, ikili parametre etkileşimleri, daha kapsamlı bir görsel analiz sağlamak amacıyla 3 boyutlu yüzey grafikleri ile de gösterilmiştir. 3 boyutlu ikili etkileşimler sıcaklık-pH için Şekil 5.120, sıcaklık-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.121 ve pH-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.122’de verilmiştir.



Şekil 5.120 Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

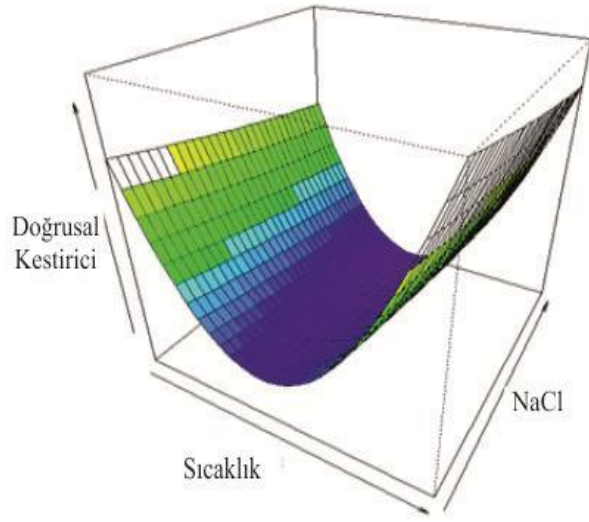


Şekil 5.121 Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

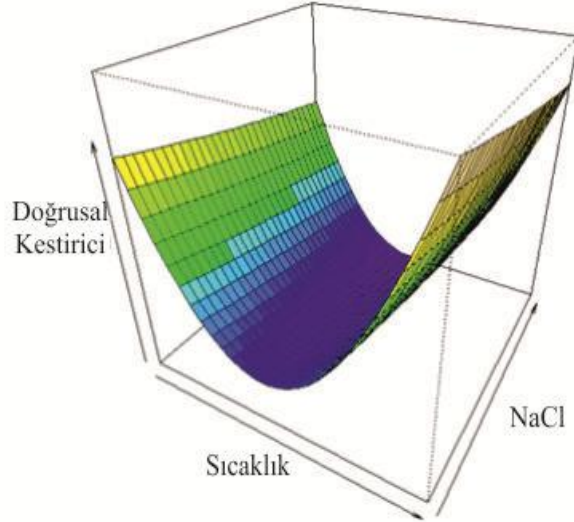


Şekil 5.122 pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

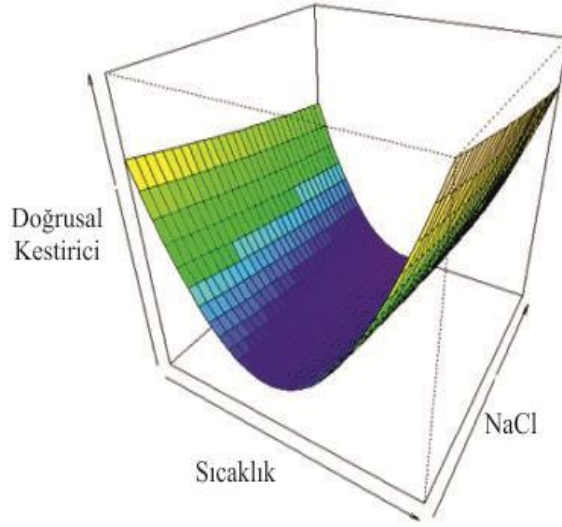
pH değeri 5 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.123’de, pH değeri 7 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.124’te ve pH değeri 9 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.125’de verilmiştir.



Şekil 5.123 pH=5'te Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği

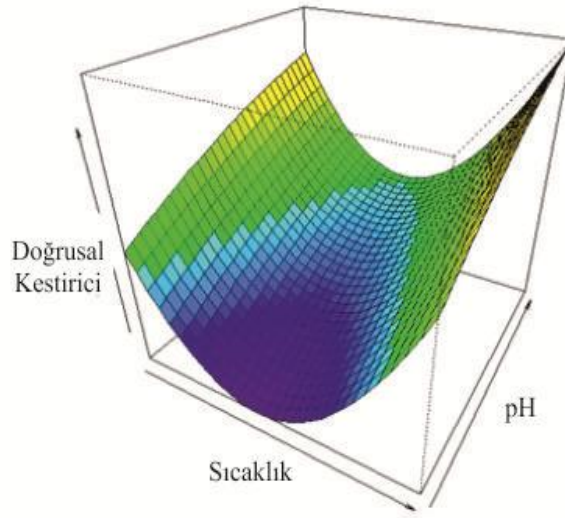


Şekil 5.124 pH=7'de Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği

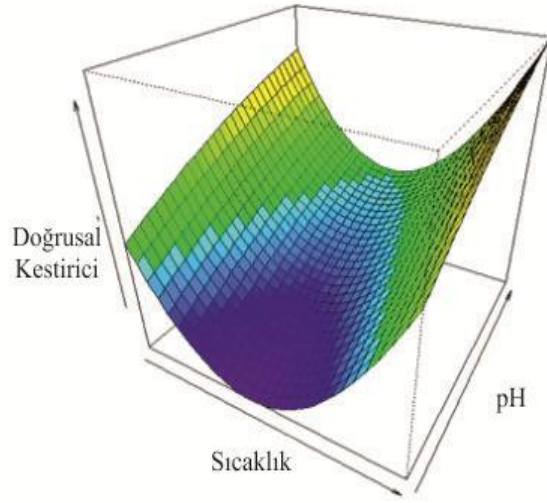


Şekil 5.125 pH=9'da Sıcaklık ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği

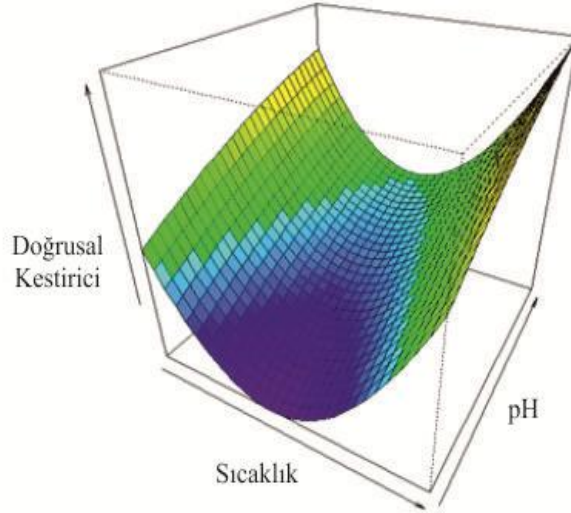
NaCl konsantrasyon %2 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.126'da, NaCl konsantrasyon %6 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.127'de ve NaCl konsantrasyon %10 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.128'de verilmiştir.



Şekil 5.126 NaCl=2'de Sıcaklık ve pH'ın 3 yüzey grafiği

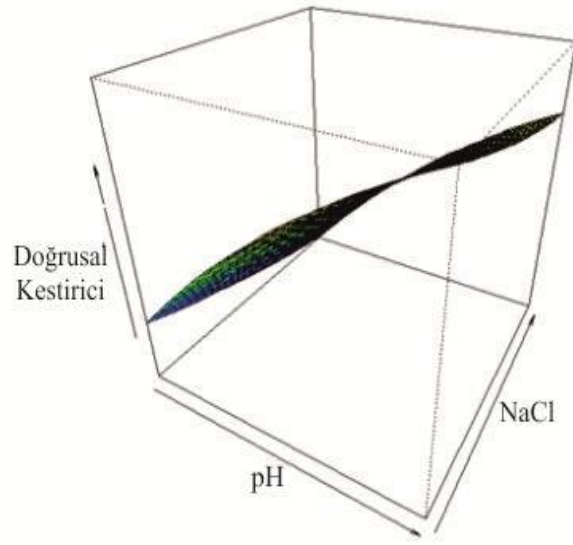


Şekil 5.127 NaCl=6'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

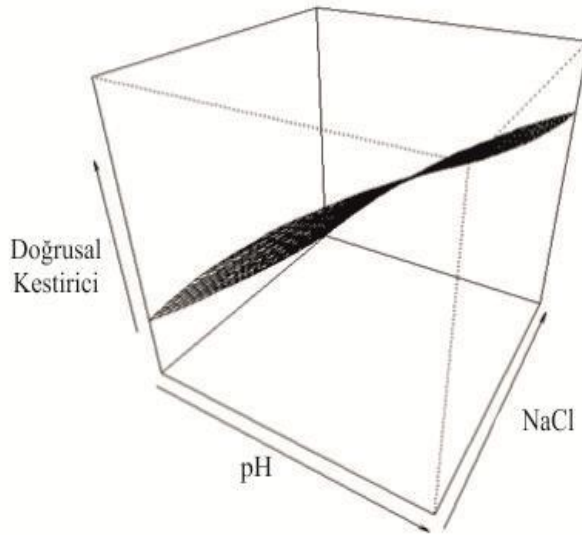


Şekil 5.128 NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

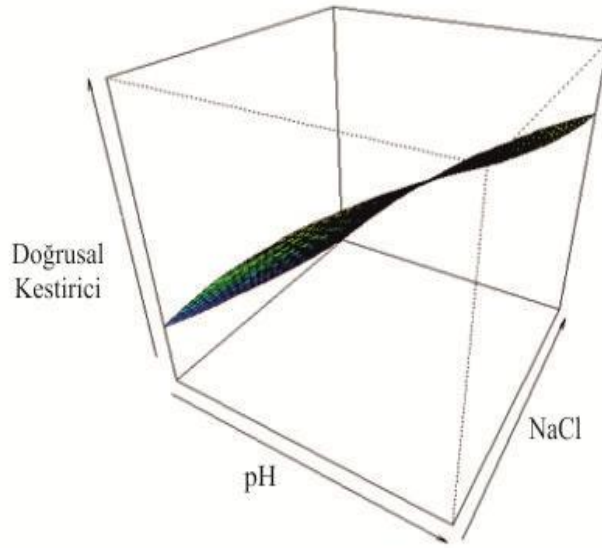
Sıcaklık 20°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.129'da, Sıcaklık 30°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.130'da ve Sıcaklık 40°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.131'de verilmiştir.



Şekil 5.129 20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



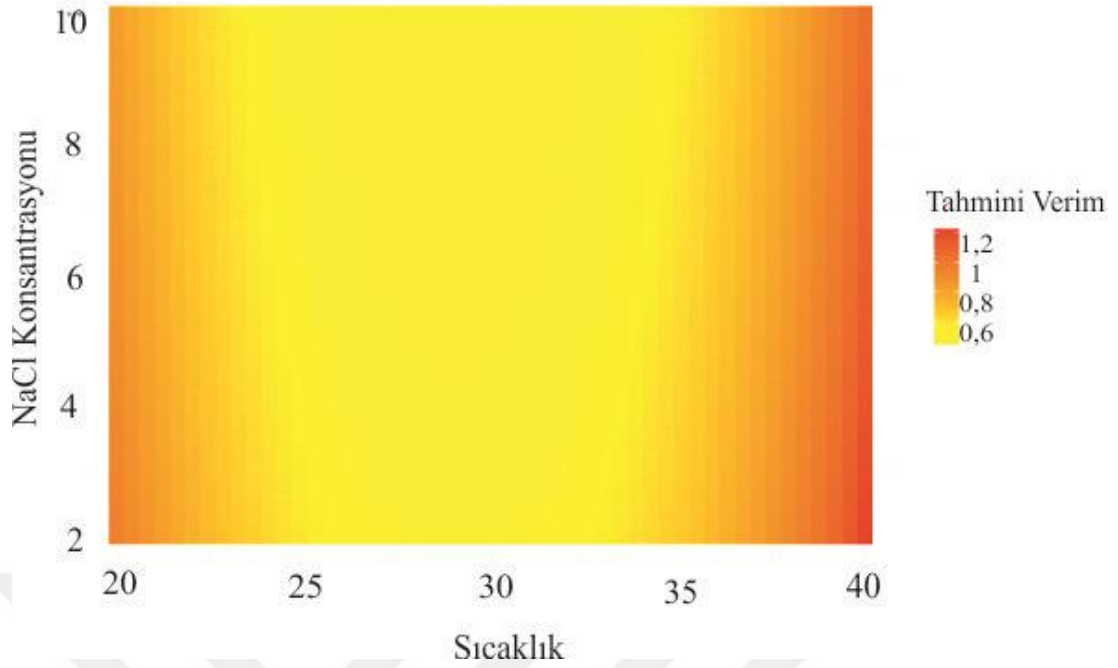
Şekil 5.130 30°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



Şekil 5.131 40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

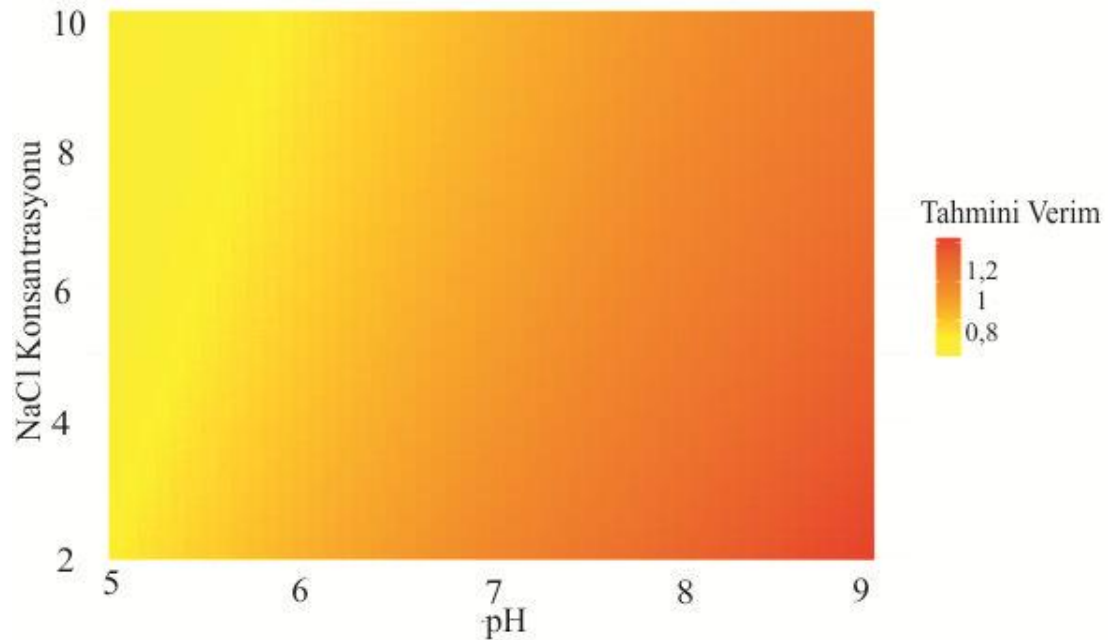
Elde edilen GAM model analizi, biyofilm oluşumu için en uygun koşulların; 40°C sıcaklık, %2 NaCl konsantrasyonu ve 9 pH değerlerinin bir araya gelmesiyle oluştuğunu göstermiştir. Modelin tahminlerine göre, bu ideal kombinasyon, yaklaşık 1,2216 absorbans değerine karşılık gelen yüksek bir biyofilm üretimi sağlayacaktır.

Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.132’de verilmiştir.



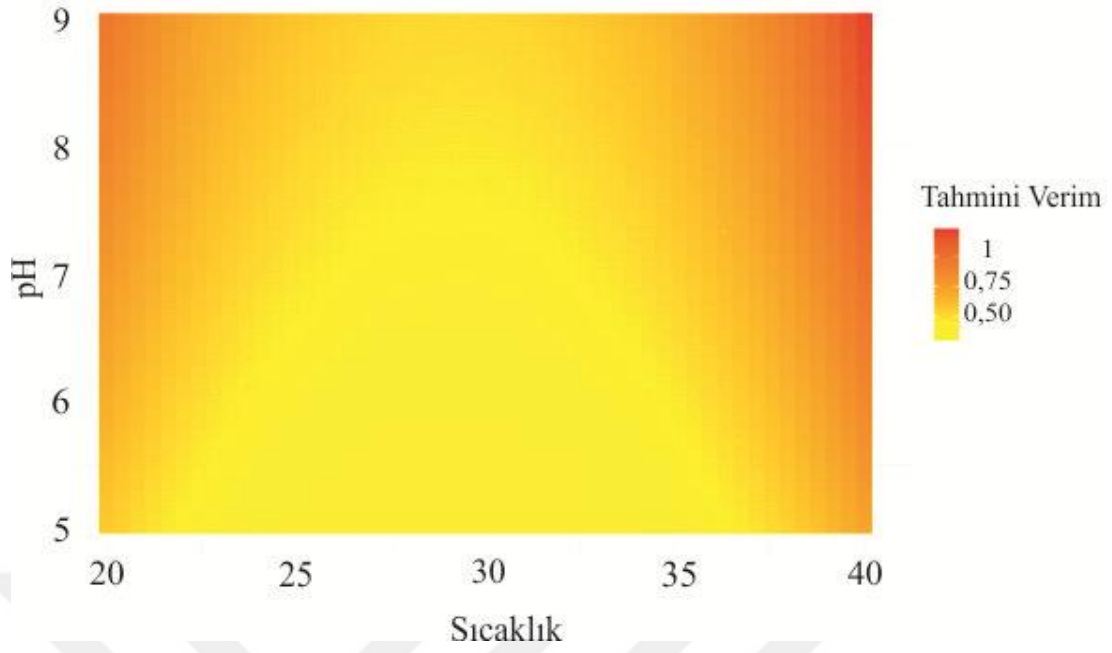
Şekil 5.132 Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.133’de verilmiştir.



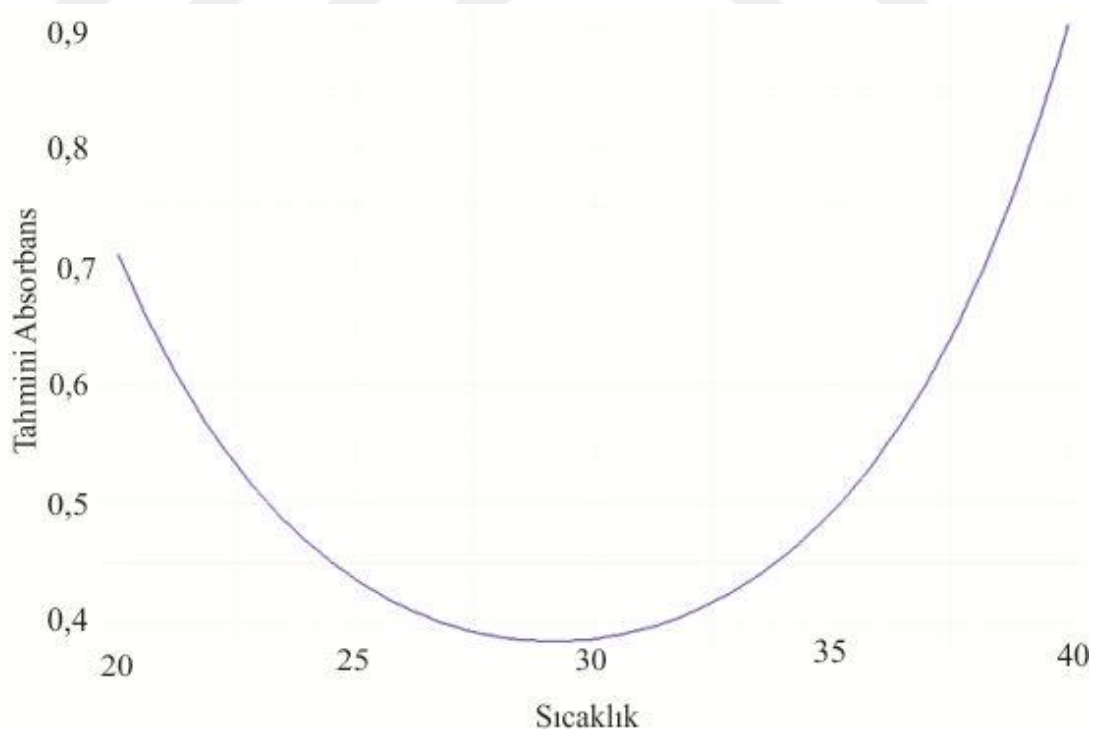
Şekil 5.133 Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği

Son olarak NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH’ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.134’te verilmiştir.



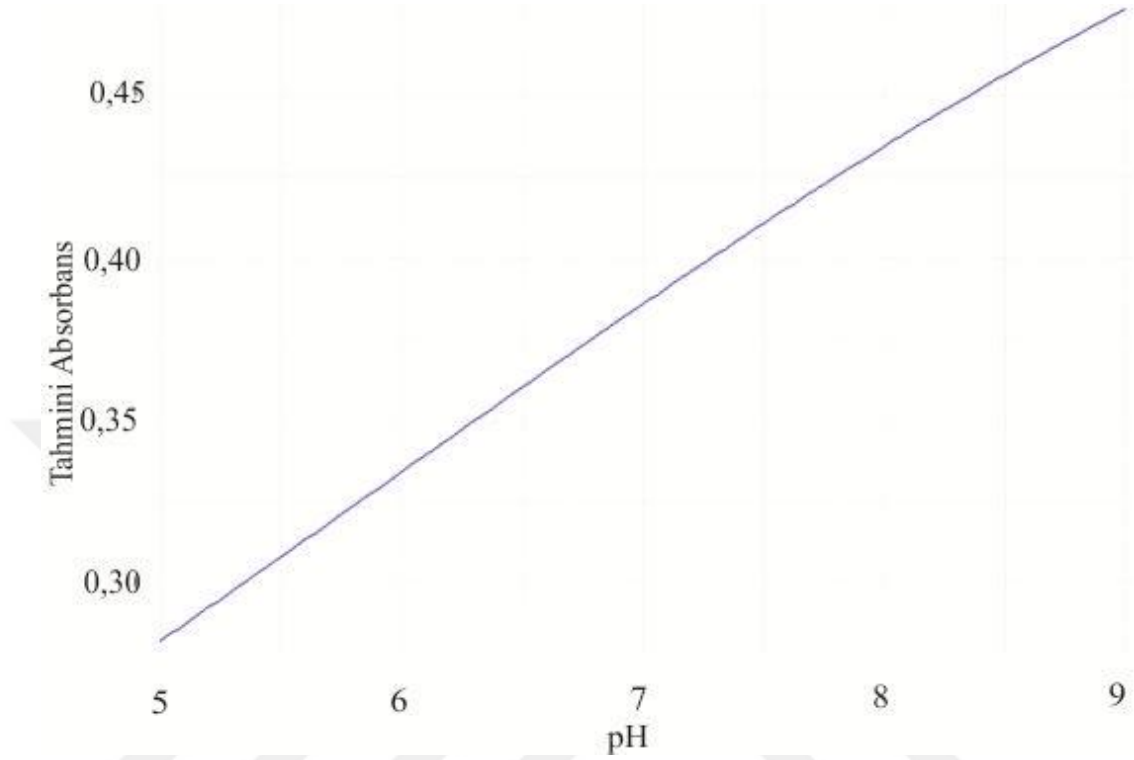
Şekil 5.134 NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Elde edilen GAM modeline göre pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.135'te verilmiştir.



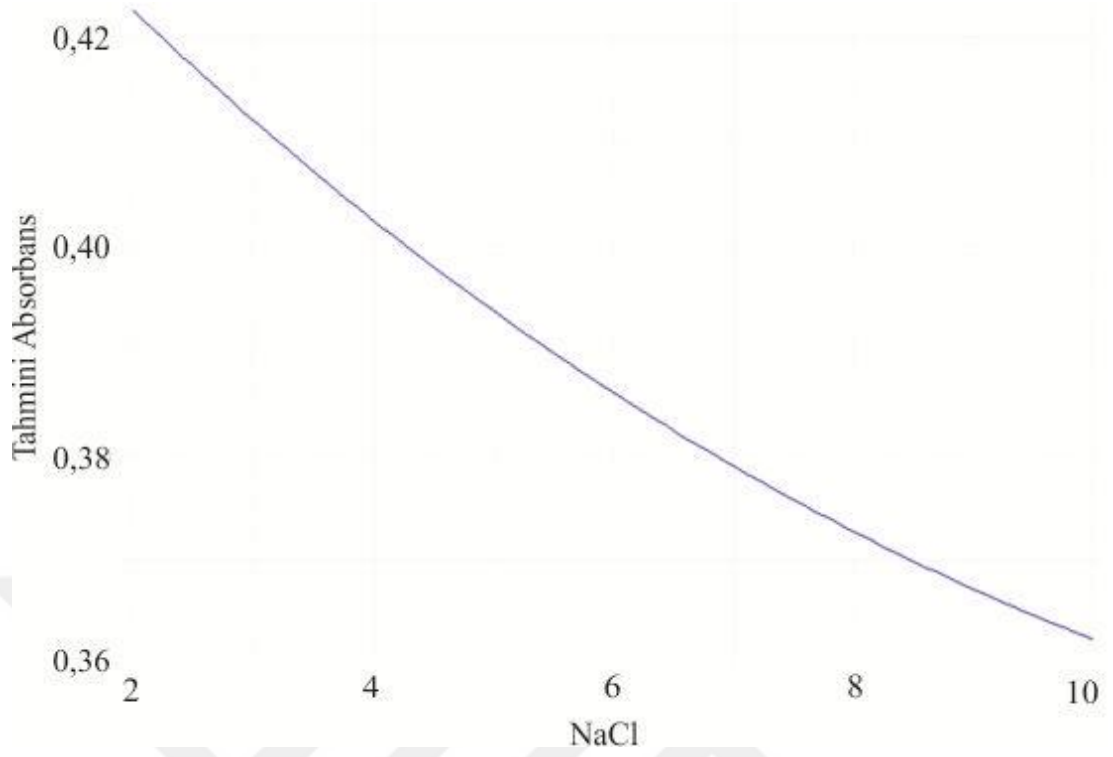
Şekil 5.135 pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.136'da verilmiştir.



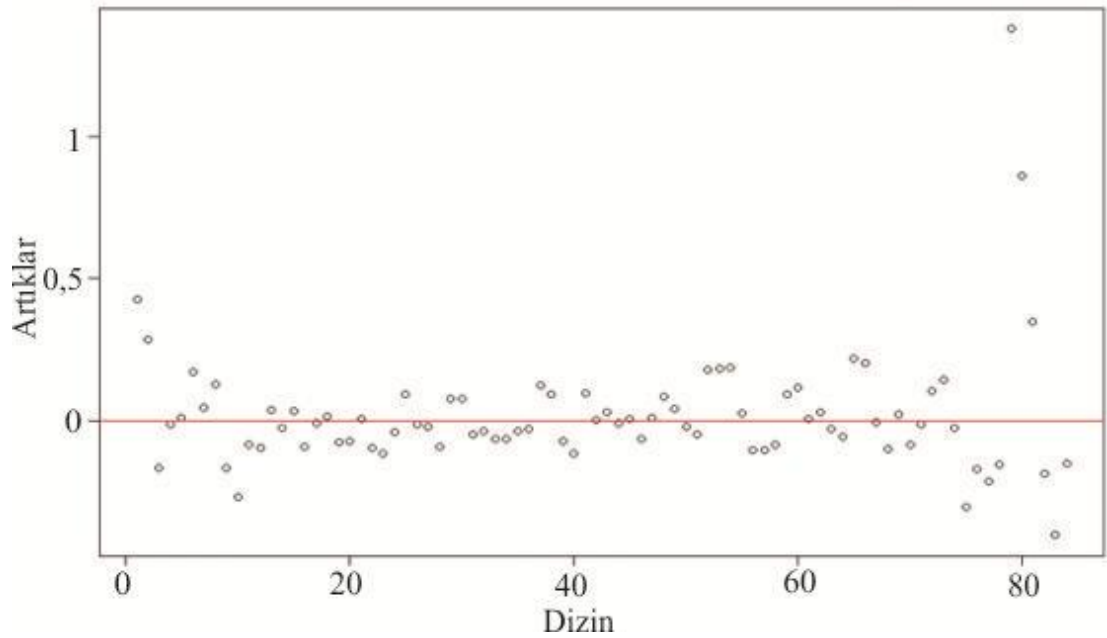
Şekil 5.136 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Son olarak elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.137'de verilmiştir.



Şekil 5.137 Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorban değeri üzerine etkisi

Bu etkileşim için elde edilen residual grafiği ise Şekil 5.138'de gösterilmektedir.



Şekil 5.138 Sefoksitin (+) *S. aureus* suşlarına uygulanan GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)

5.2.1.2 Oksasiline göre regresyon modeli

Sefoksitin (-) olan suşlar aynı zamanda Oksasilin “S” olduğu için ve Sefoksitin (+) olan suşlar aynı zamanda Oksasilin “R” olduğu için elde edilen sonuçlar Sefoksitin ile aynıdır.

5.2.1.3 Levoflaksasine göre regresyon modeli

5.2.1.3.1 Doğrusal (linear) regresyon modeli

Levoflaksasin (I) için oluşturulan linear modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbands üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p>0,05$). Ayrıca modelin açıklama gücü oldukça düşüktür, düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri -0,0129’dur ve negatiftir. Bu durum, modelin absorbandsdaki varyasyonu açıklamakta yetersiz kaldığını göstermektedir.

Levoflaksasin (R) için elde edilen model sonuçlarına göre, yalnızca sıcaklık değişkeninin absorbands üzerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) pozitif bir etkisi bulunmaktadır. Bu, sıcaklık arttıkça absorbands değerinin de arttığı anlamına gelmektedir. pH ve NaCl değişkenlerinin tek başına absorbands üzerinde anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir. Etkileşim terimleri de, çoklu bağlantı (multicollinearity) sorunları nedeniyle değerlendirilememiştir. Ayrıca modelin açıklama gücü düşüktür, çünkü düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri 0,1137’dir, bu da modelin absorbandsdaki varyasyonun yalnızca %11,37’sini açıklayabildiğini göstermektedir.

5.2.1.3.2 Logaritmik regresyon modeli

Levoflaksasin (I) için oluşturulan logaritmik modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbands üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p>0,05$). Ayrıca modelin açıklama gücü oldukça düşüktür, düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri -0,0130’dur ve negatiftir. Bu durum, modelin absorbandsdaki varyasyonu açıklamakta yetersiz kaldığını göstermektedir.

Levoflaksasin (R) için elde edilen model sonuçlarına göre, yalnızca sıcaklık değişkeninin absorbans üzerinde istatistiksel olarak sınırdan anlamlı ($p < 0,05$) pozitif bir etkisi bulunmaktadır. Bu, sıcaklık arttıkça absorbans değerinin de arttığı anlamına gelmektedir. pH ve NaCl değişkenlerinin tek başına absorbans üzerinde anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir. Etkileşim terimleri de, çoklu bağlantı (multicollinearity) sorunları nedeniyle değerlendirilememiştir. Ayrıca modelin açıklama gücü düşüktür, çünkü düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri 0,0626'dır, bu da modelin absorbansdaki varyasyonun yalnızca %6,26'sını açıklayabildiğini göstermektedir.

5.2.1.3.3 Ters (inverse) regresyon modeli

Levoflaksasin (I) ve Levoflaksasin (R) için oluşturulan ters (inverse) modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbansın üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p > 0,05$).

5.2.1.3.4 Kuadratik regresyon modeli

Levoflaksasin (I) için oluşturulan kuadratik model sonuçlarına göre, sıcaklık, pH, NaCl ve bunların karelerinin tamamı absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilere sahiptir ($p < 0,05$). Sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonun katsayıları pozitif iken, bu parametrelerin karelerinin katsayıları negatiftir. Bu durum, sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonun absorbans üzerindeki etkilerinin doğrusal olmadığını, belirli bir noktadan sonra azalmaya başladığını gösterir. Modelin açıklama gücü düşüktür (düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0,0394). Bu, modelin absorbansdaki varyasyonun yalnızca %3,94'ünü açıklayabildiğini gösterir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır.

Levoflaksasin (R) için kuadratik model sonuçlarına göre, sıcaklık ve sıcaklığın karesi değişkenleri absorbans üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilere sahiptir ($p < 0,05$). Modele göre sıcaklığın katsayısı negatif iken, sıcaklığın karesinin katsayısı pozitifdir. Bu durum, sıcaklığın absorbans üzerindeki etkisinin doğrusal olmadığını ve U şeklinde bir ilişki olduğunu gösterir. Diğer değişkenler (pH, NaCl konsantrasyonu, pH'ın karesi ve NaCl konsantrasyonun karesi) absorbans üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir. Modelin açıklama gücü önceki modellere göre önemli ölçüde artmıştır (düzeltilmiş R-

kare (adjusted R^2) değeri = 0,4747). Bu, modelin absorbandsaki varyasyonun yaklaşık %48'ini açıklayabildiğini gösterir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır. Sonuç olarak, kuadratik model Levoflaksasin (R) için absorbands değerini tahmin etmede diğer modellere göre daha başarılıdır ve özellikle sıcaklığın absorbands üzerindeki U şeklinde etkisini ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, kuadratik model özellikle Levoflaksasin (R) için, önceki modellere göre daha iyi sonuçlar vermektedir. Özellikle sıcaklığın etkisi, kuadratik terimler sayesinde daha iyi açıklanabilmektedir. Etkileşim terimlerinin çoklu bağlantı sorunları nedeniyle değerlendirilememesi modelin sınırlamasıdır.

5.2.1.3.5 Kuadratik logaritmik regresyon modeli

Levoflaksasin (I) için oluşturulan kuadratik logaritmik modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbandsın üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Levoflaksasin (R) için kuadratik logaritmik model sonuçlarına göre, sıcaklık ve sıcaklığın karesi değişkenleri absorbands üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkilere sahiptir ($p < 0,05$). Modele göre sıcaklığın katsayısı negatif iken, sıcaklığın karesinin katsayısı pozitifdir. Bu durum, sıcaklığın absorbands üzerindeki etkisinin doğrusal olmadığını ve U şeklinde bir ilişki olduğunu gösterir. Diğer değişkenler (pH, NaCl konsantrasyonu, pH'ın karesi ve NaCl konsantrasyonun karesi) absorbands üzerinde anlamlı bir etkiye sahip değildir. Modelin açıklama gücü önceki modellere göre önemli ölçüde artmıştır (düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0,5939). Bu, modelin absorbandsdaki varyasyonun yaklaşık %60'ını açıklayabildiğini gösterir. Etkileşim terimleri çoklu bağlantı sorunları nedeniyle yine hesaplanamamıştır. Sonuç olarak, kuadratik logaritmik model Levoflaksasin (R) için absorbands değerini tahmin etmede doğrusal modellere göre daha başarılıdır ve özellikle sıcaklığın absorbands üzerindeki U şeklinde etkisini ortaya koymaktadır.

5.2.1.3.6 Kübik regresyon modeli

Kübik model, kuadratik modelden farklı olarak ek bir açıklayıcı bilgi sağlamamıştır; her iki model de aynı sonuçları vermiştir.

5.2.1.3.7 Üstel regresyon modeli

Levoflaksasin (I) için oluşturulan üstel regresyon modeldeki hiçbir değişkenin (sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu) absorbansın üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamıştır ($p>0,05$).

Levoflaksasin (R) için üstel regresyon model sonuçlarına göre, sıcaklık absorbans üzerinde istatistiksel olarak sınırda anlamlı etkiye sahiptir ($p<0,05$). Ayrıca modelin açıklama gücü düşüktür, çünkü düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri 0,0960'dır, bu da modelin absorbansdaki varyasyonun yalnızca %9,60'ını açıklayabildiğini göstermektedir.

5.2.1.3.8 Doğrusal olmayan GAM regresyon modeli

Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) sonuçlarına göre Levoflaksasin (I) için sıcaklık, pH ve NaCl konsantrasyonu değişkenlerinin spline (bölünmüş polinom eğrisi) terimleri ve sıcaklığın karesi, pH'nın karesi ve NaCl konsantrasyonunun karesi terimleri de anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

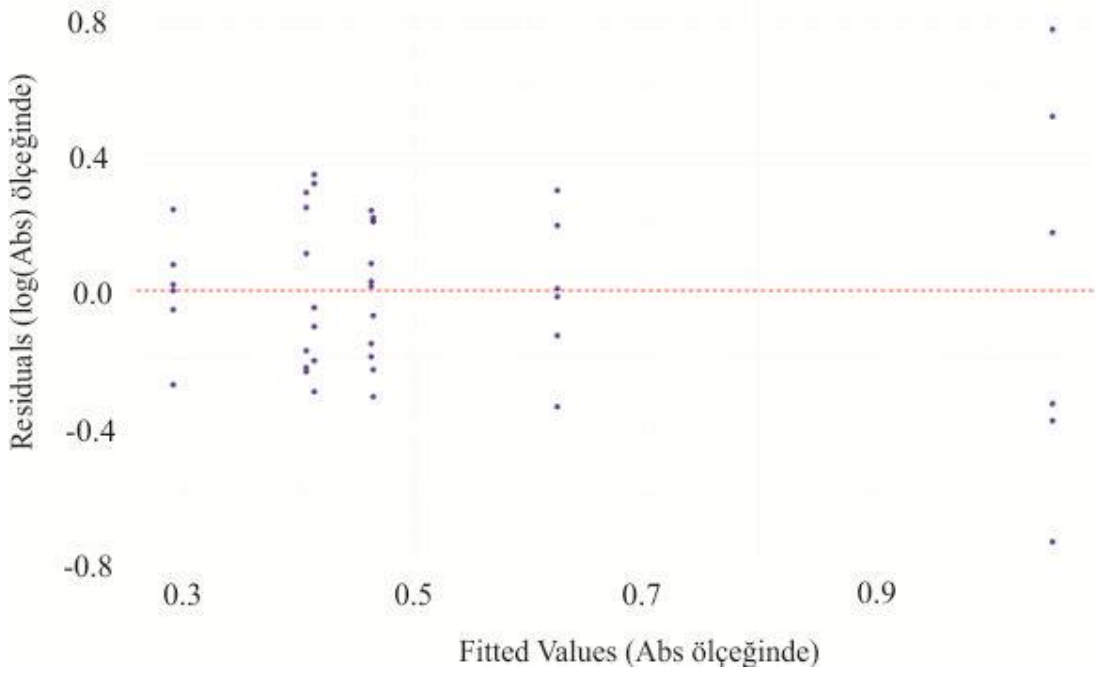
Levoflaksasin (R) içinse, sadece sıcaklık değişkeninin spline (bölünmüş polinom eğrisi) terimi ve sıcaklığın karesi terimi anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). pH ve NaCl değişkenlerinin spline terimleri, pH'nın karesi ve NaCl konsantrasyonunun karesi terimleri anlamlı bulunmamıştır. Modelin açıklama gücü düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değeri = 0,5940 olarak bulunmuştur, bu da modelin absorbansın logaritmasındaki varyasyonun yaklaşık %60'ını açıklayabildiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, denenen bütün modellerin düzeltilmiş R-kare (adjusted R^2) değerlerine göre Levoflaksasin (I) için uygun herhangi bir model bulunamamıştır. Levoflaksasin (R) için elde edilen yüksek açıklama gücü, GAM modelinin bu direnç durumu için absorbansı daha iyi yakaladığını göstermektedir. Bu analizde test edilen modeller arasında, GAM modeli en iyi performansı sergilemektedir. Bu nedenle, levoflaksasin

direncinde absorbansa faktörlerin etkilerini daha detaylı incelemek için GAM modeli tercih edilmiştir. Bu model, değişkenler arasındaki doğrusal olmayan ilişkileri yakalayabilmesi ve anlamlı değişkenleri belirleyebilmesi sayesinde daha güvenilir sonuçlar sunmaktadır.

5.2.1.3.9 Levoflaksasin (R) için GAM modeli ile elde edilen sonuçlar

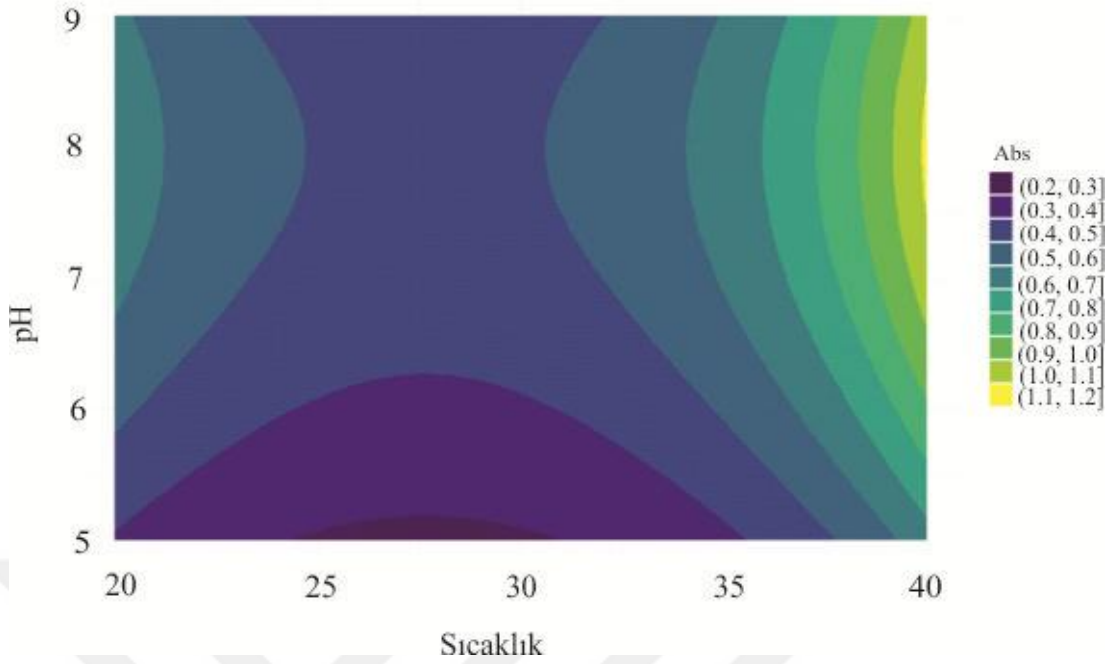
Genelleştirilmiş Aditif Modelinin (GAM) Levoflaksasin (R) olanlar için uyum iyiliğini değerlendirmek amacıyla çizilen artık değerler grafiği (residual grafiği) Şekil 5.139’da sunulmuştur. Bu grafik, modelin hatalarının rastgele dağılıp dağılmadığını ve herhangi bir sistematik örüntü olup olmadığını görsel olarak göstermektedir.



Şekil 5.139 Artıklar ve tahmin edilen değerler

Levoflaksasin (R) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu gibi faktörlerin ikili etkileşimleri Genelleştirilmiş Aditif Model (GAM) kullanılarak incelenmiştir.

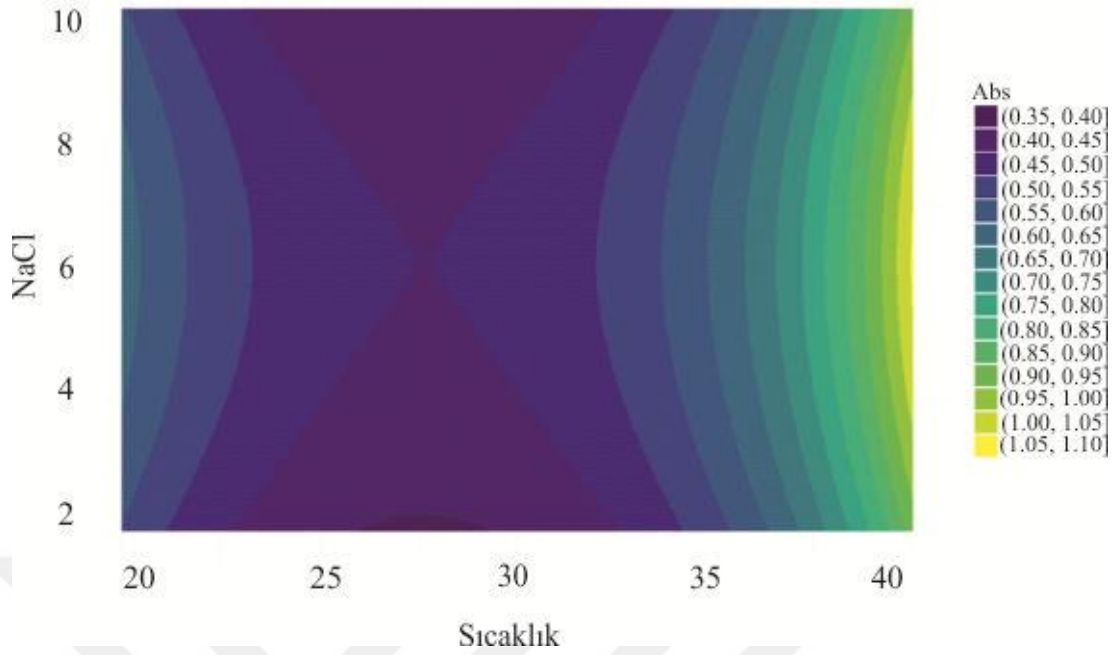
Şekil 5.140’da sunulan kontur grafiği, pH ve sıcaklığın Levoflaksasin (R) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm üzerindeki ortak etkisini görselleştirmektedir.



Şekil 5.140 Sıcaklık ve pH'ın kontur grafiği

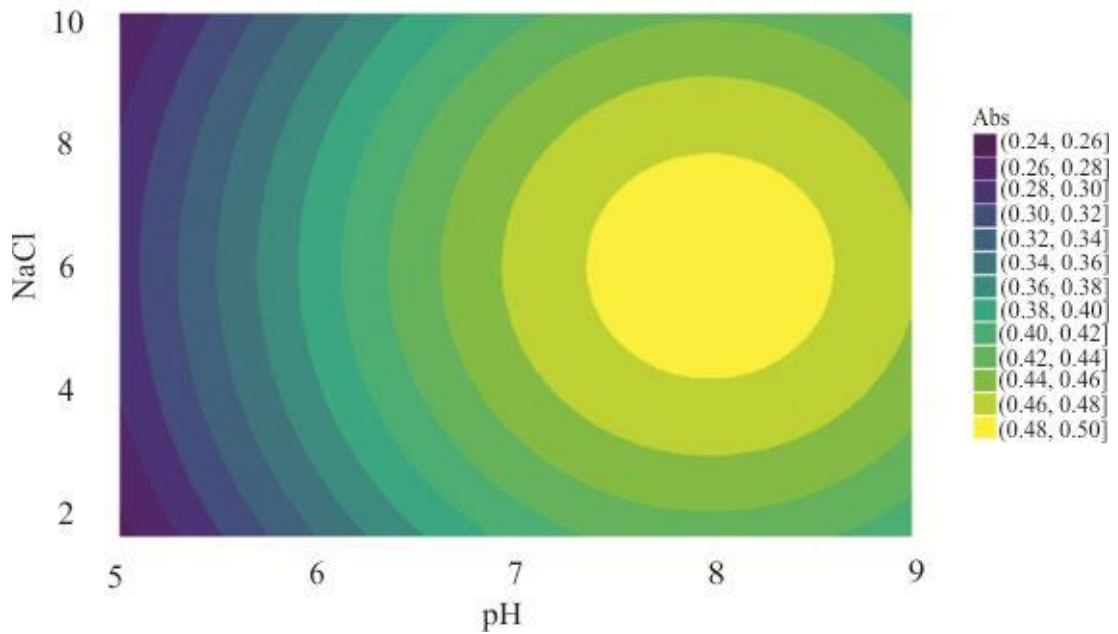
Şekil 5.140, farklı pH ve sıcaklık kombinasyonlarında suşun oluşturduğu biyofilm miktarının nasıl değiştiğini göstermektedir. Konturlar, belirli bir biyofilm miktarına sahip pH ve sıcaklık değerlerini birleştirerek, biyofilm koşulları için en uygun bölgeleri vurgulamaktadır.

Şekil 5.141'de gösterilen kontur grafiği, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun Levoflaksasin (R) *S. aureus* suşlarının oluşturduğu biyofilm miktarı üzerindeki etkisini incelemektedir.



Şekil 5.141 Sıcaklık ve NaCl'nin kontur grafiği

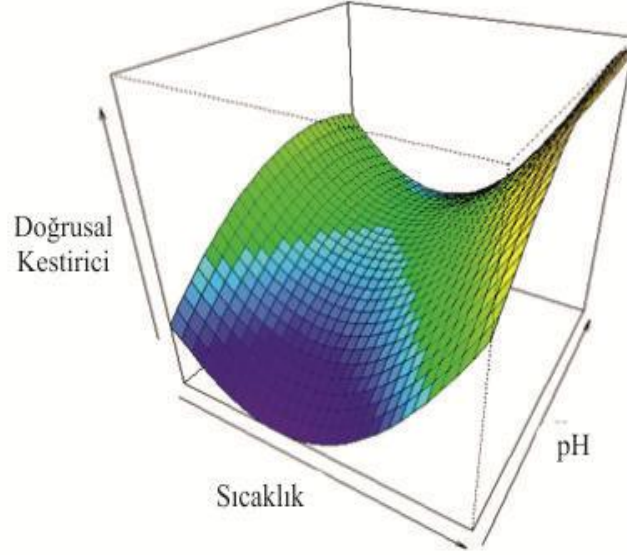
Şekil 5.142'de sunulan kontur grafiği, NaCl konsantrasyonu ve pH'nın Levoflaksasin (R) *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimi üzerindeki ortak etkisini göstermektedir.



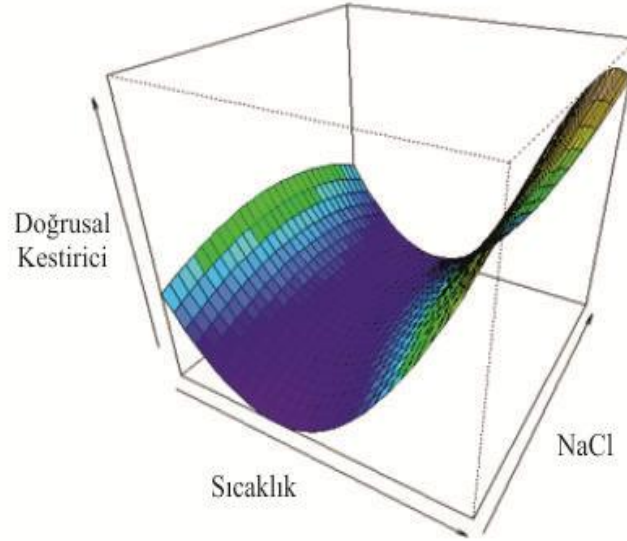
Şekil 5.142 pH ve NaCl'nin kontur grafiği

Kontur grafiklerine ek olarak, ikili parametre etkileşimleri, daha kapsamlı bir görsel analiz sağlamak amacıyla 3 boyutlu yüzey grafikleri ile de gösterilmiştir. 3 boyutlu

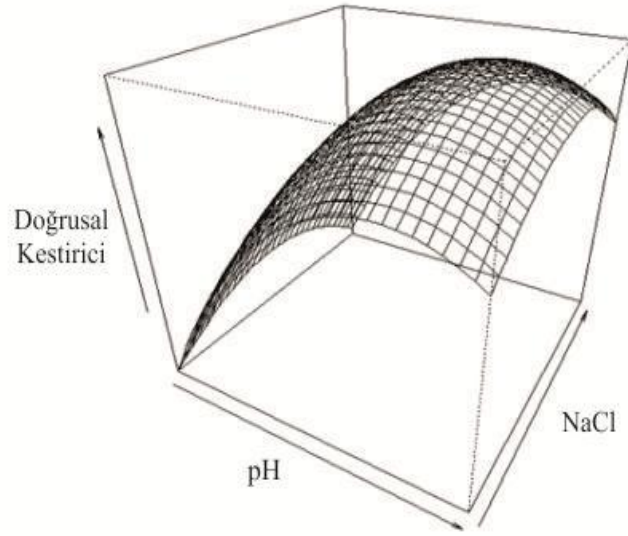
ikili etkileşimler sıcaklık-pH için Şekil 5.143, sıcaklık-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.144 ve pH-NaCl konsantrasyonu için Şekil 5.145’de verilmiştir.



Şekil 5.143 Sıcaklık ve pH etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

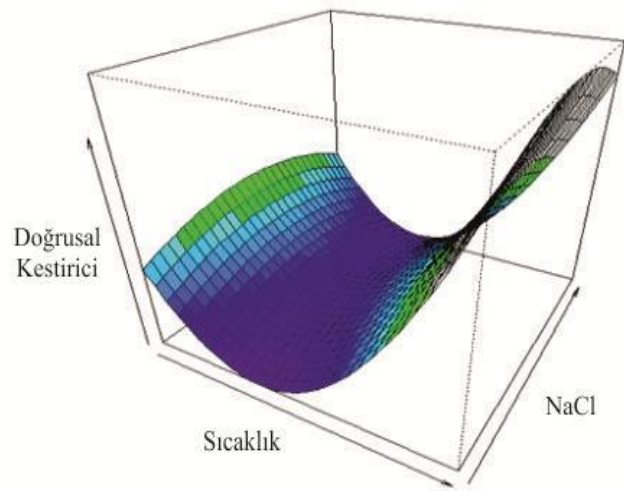


Şekil 5.144 Sıcaklık ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

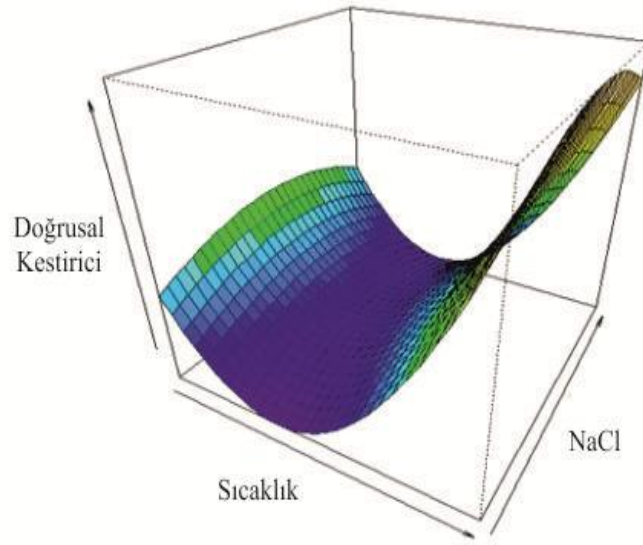


Şekil 5.145 pH ve NaCl etkileşiminin 3 boyutlu yüzey grafiği

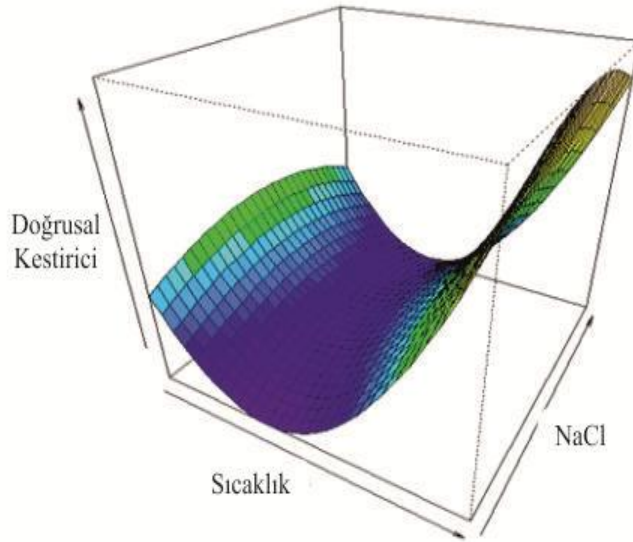
pH değeri 5 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.146’da, pH değeri 7 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.147’de ve pH değeri 9 iken sıcaklık ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.148’de verilmiştir.



Şekil 5.146 pH=5’te sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

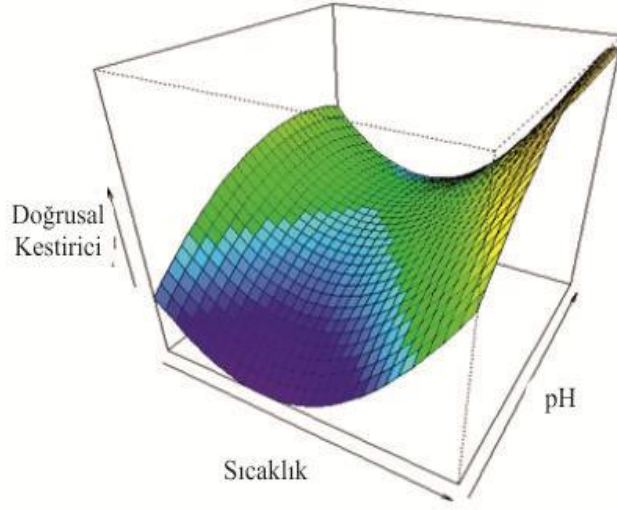


Şekil 5.147 pH=7’de sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

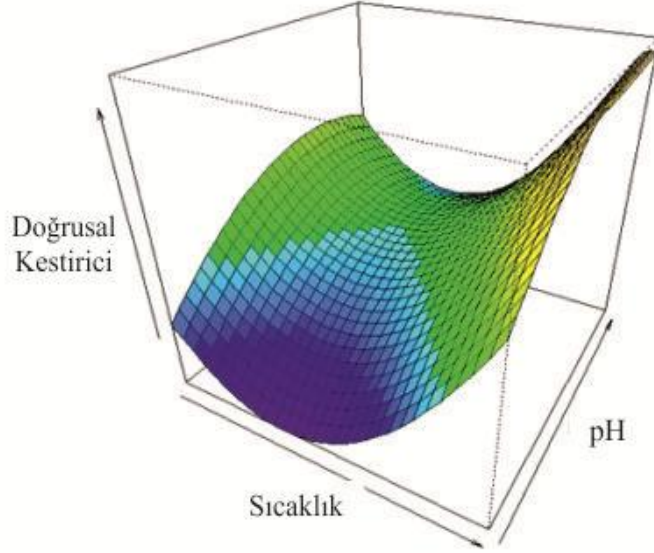


Şekil 5.148 pH=9’da sıcaklık ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

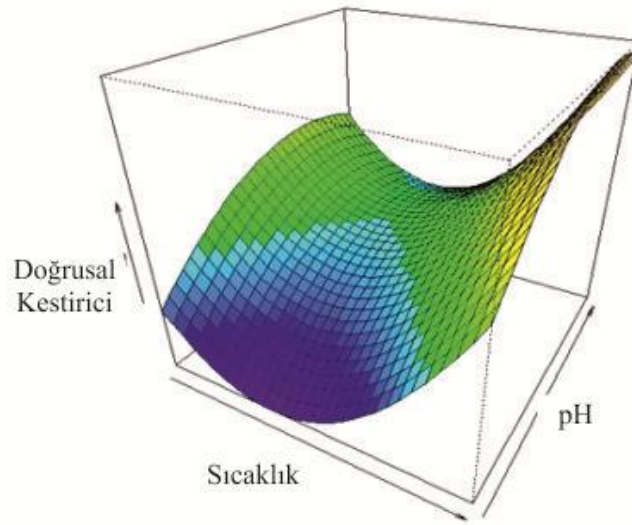
NaCl konsantrasyon %2 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.149’da, NaCl konsantrasyon %6 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.150’de ve NaCl konsantrasyon %10 iken sıcaklık ve pH ilişkisi Şekil 5.151’de verilmiştir.



Şekil 5.149 NaCl=2’de sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

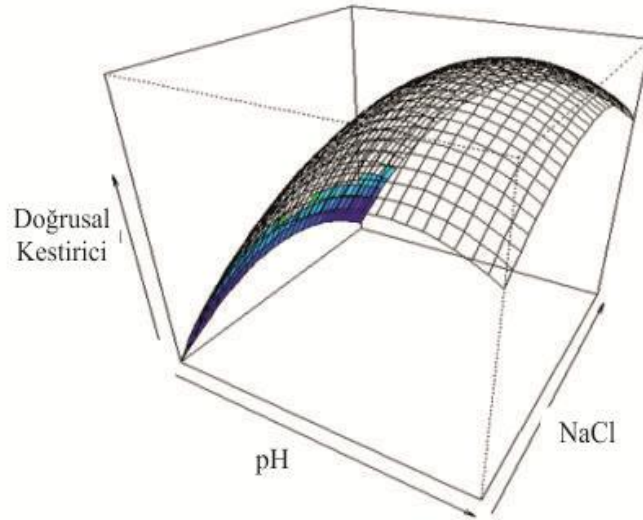


Şekil 5.150 NaCl=6’da sıcaklık ve pH’ın 3 boyutlu yüzey grafiği

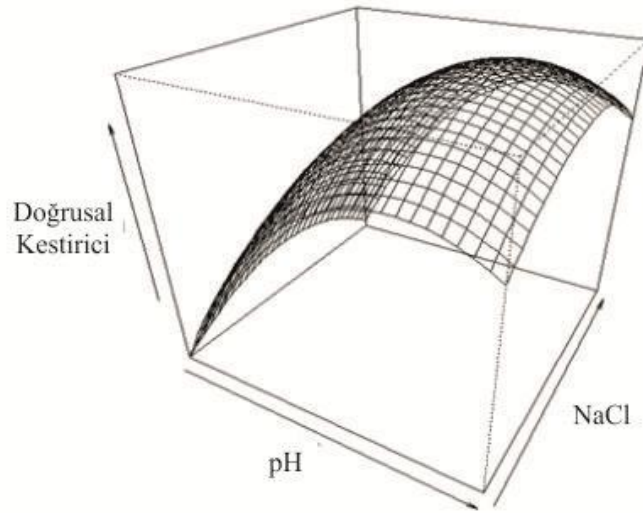


Şekil 5.151 NaCl=10'da Sıcaklık ve pH'ın 3 boyutlu yüzey grafiği

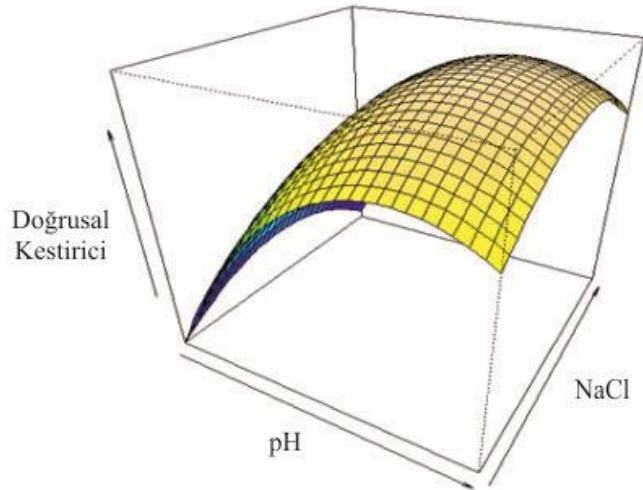
Sıcaklık 20°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.152'de, Sıcaklık 30°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.153'de ve Sıcaklık 40°C iken pH ve NaCl konsantrasyon ilişkisi Şekil 5.154'de verilmiştir.



Şekil 5.152 20°C'de pH ve NaCl'nin 3 boyutlu yüzey grafiği



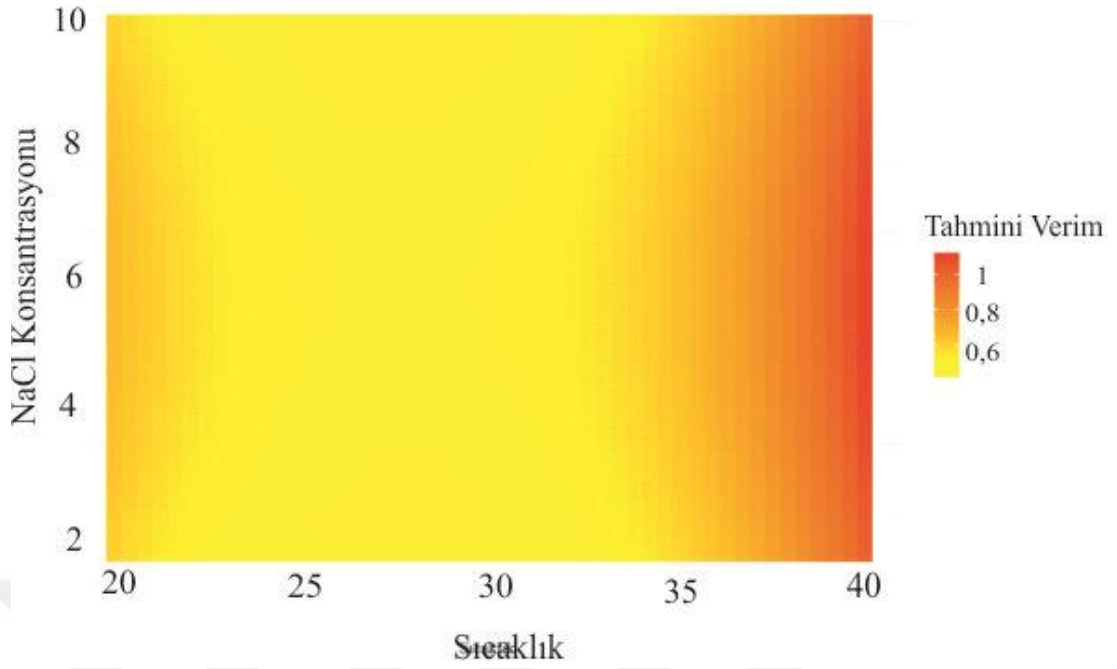
Şekil 5.153 30°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği



Şekil 5.154 40°C’de pH ve NaCl’nin 3 boyutlu yüzey grafiği

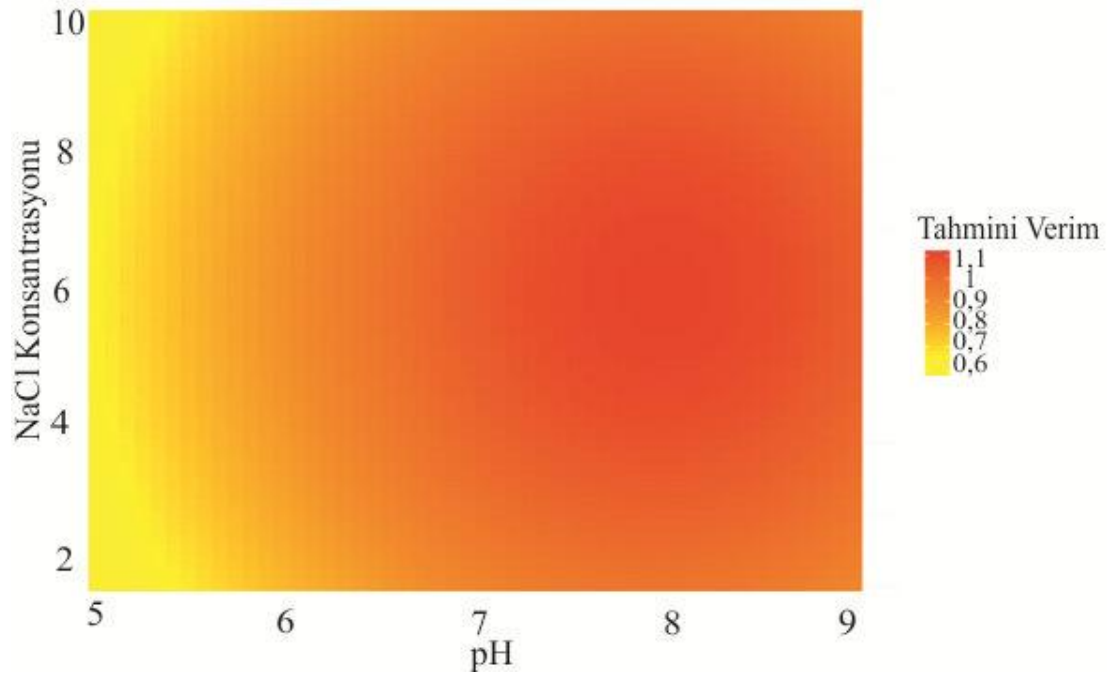
Elde edilen GAM model analizi, biyofilm oluşumu için en uygun koşulların; 40°C sıcaklık, %6,08 NaCl konsantrasyonu ve 8,02 pH değerlerinin bir araya gelmesiyle oluştuğunu göstermiştir. Modelin tahminlerine göre, bu ideal kombinasyon, yaklaşık 1,1176 absorbans değerine karşılık gelen yüksek bir biyofilm üretimi sağlayacaktır.

Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.155’de verilmiştir.



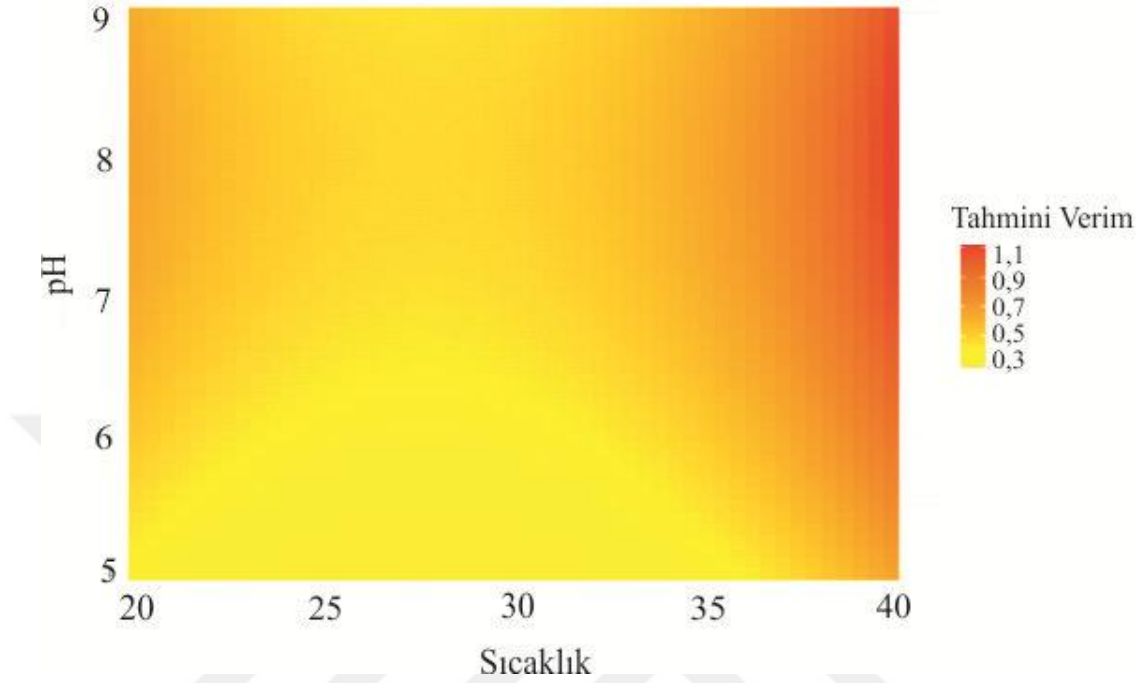
Şekil 5.155 Optimal pH durumunda sıcaklık ve NaCl konsantrasyonunun absorbanza etkisini gösteren ısı grafiği

Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.156'da verilmiştir.



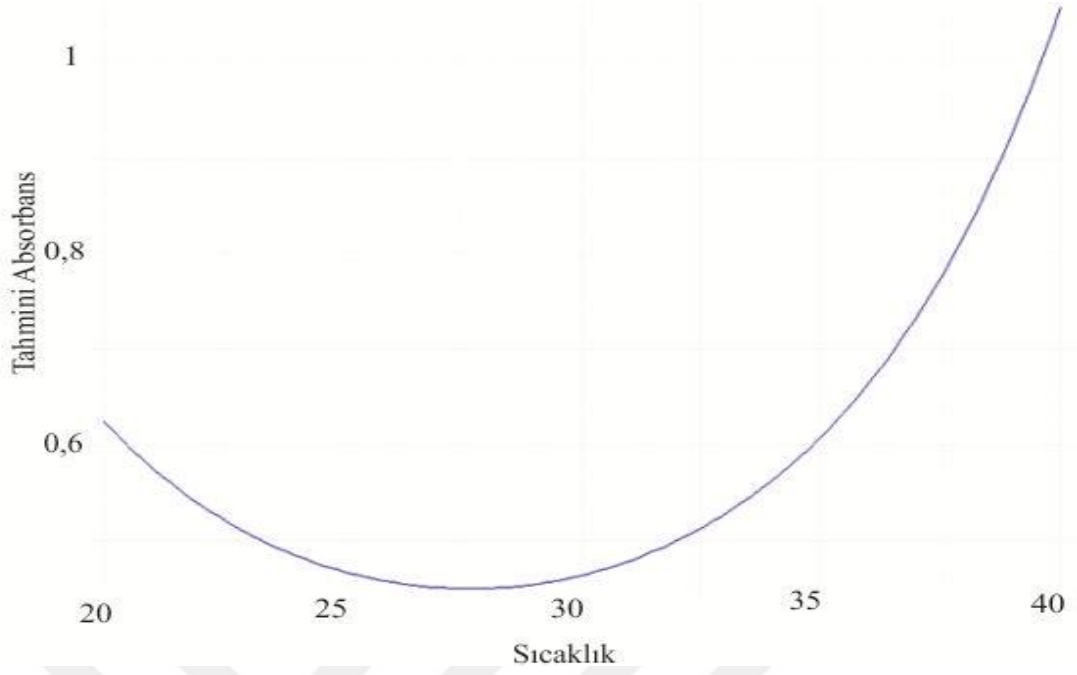
Şekil 5.156 Optimal sıcaklık durumunda pH ve NaCl konsantrasyonuna etkisini gösteren ısı grafiği

Son olarak NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği Şekil 5.157'de verilmiştir.



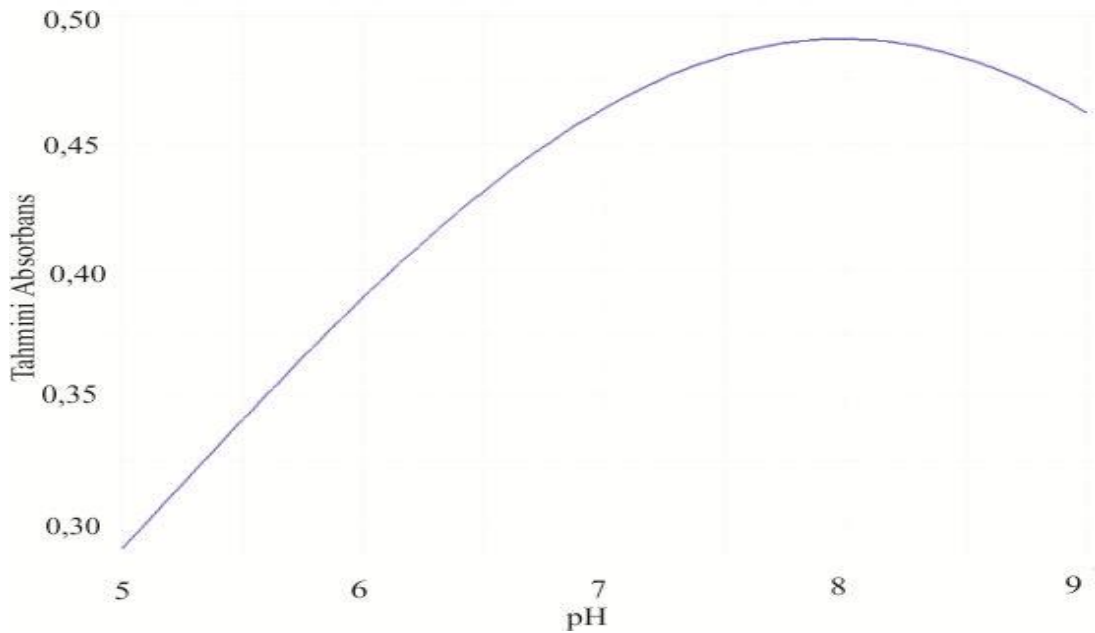
Şekil 5.157 NaCl konsantrasyonunun optimal olduğu durumda sıcaklık ve pH'ın absorbansa etkisini gösteren ısı grafiği

Elde edilen GAM modeline göre pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.158'de verilmiştir.



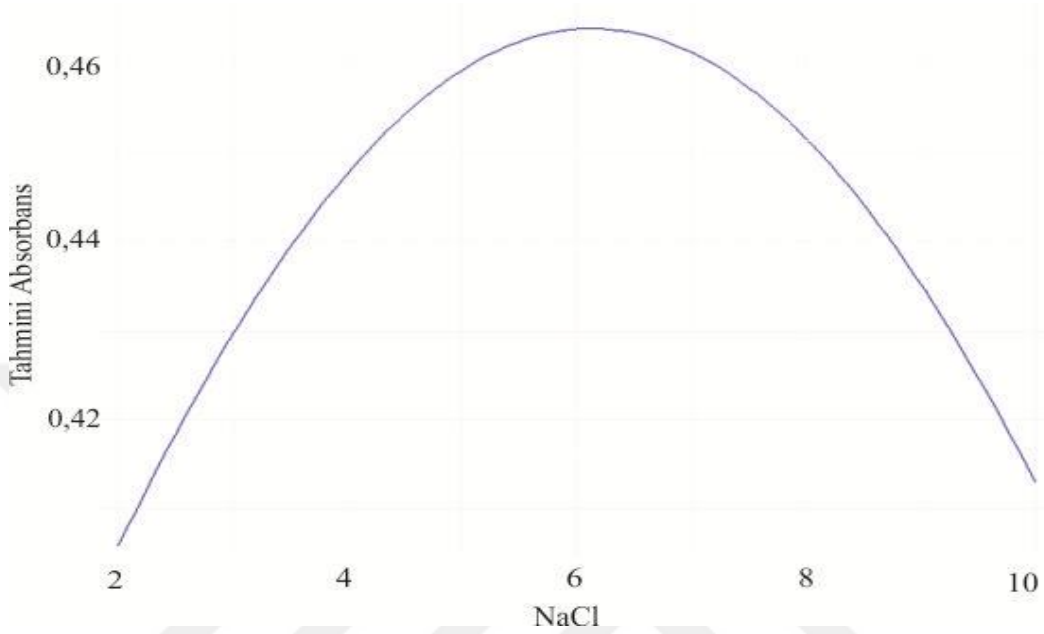
Şekil 5.158 pH ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda sıcaklığın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi Şekil 5.159'da verilmiştir.



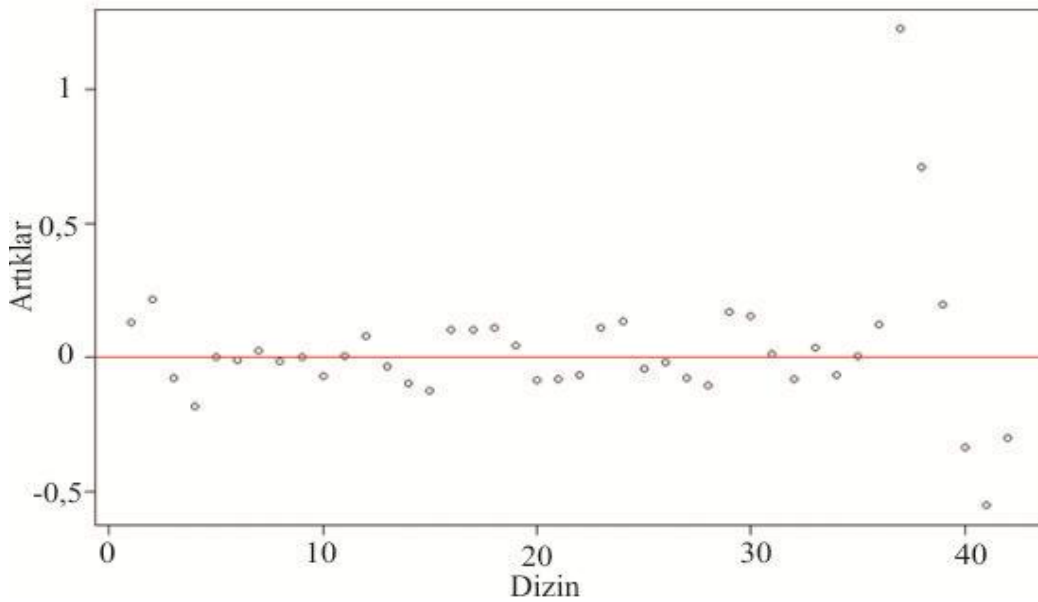
Şekil 5.159 Sıcaklık ve NaCl konsantrasyonu sabit tutulduğunda pH'ın tahmin edilen absorbans değeri üzerine etkisi

Son olarak elde edilen GAM modeline göre sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi Şekil 5.160'da verilmiştir.



Şekil 5.160 Sıcaklık ve pH konsantrasyonu sabit tutulduğunda NaCl'nin tahmin edilen absorbens değeri üzerine etkisi

Bu etkileşim için elde edilen residual grafiği ise Şekil 5.161'de gösterilmektedir.



Şekil 5.161 Levoflaksasin (R) *S. aureus* suşlarına uygulanan GAM modeli için artık değerler grafiği (residual grafiği)

5.2.1.4 Tetrasikline göre regresyon modeli

Tetrasiklin direnci için doğrusal (linear), logaritmik, ters (inverse), kuadratik, kuadratik logaritmik, kübik, üstel ve doğrusal olmayan GAM (Genelleştirilmiş Aditif Model) gibi farklı regresyon modelleri denenmiştir. Ancak, hem Tetrasiklin (S), hem de Tetrasiklin (R) için uygun bir model bulunamamıştır.



6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, farklı direnç profillerine sahip *S. aureus* suşlarının biyofilm oluşturma kapasiteleri ve bu kapasiteyi etkileyen çevresel faktörler ile antibiyotik direnç profilleri arasındaki ilişki incelenmiştir. S1 ve S2 olarak kodlanan iki bakteri suşu MSSA, S3 ve S4 olarak kodlanan iki bakteri suşu MRSA olarak tanımlanan suşlardır.

İzole edilen bakterilerin biyofilm oluşturduğu en uygun glikoz konsantrasyonunu belirlemek amacıyla %0, %0.5, %1, %1.5 ve %2 olmak üzere beş farklı konsantrasyon test edilmiş; en yüksek absorbans değerinin %1.5 glikoz konsantrasyonunda elde edildiği saptanmıştır. Ardından, biyofilm oluşumu üzerindeki çevresel faktörlerin; spesifik olarak sıcaklık (20, 30, 40°C), pH (5, 7, 9) ve NaCl konsantrasyonunun (%2, %6, %10) etkileri incelenmiştir. Bu parametrelerin yedi farklı kombinasyonu (FD), test edilmiş olup, tüm bakteri suşlarının en yüksek biyofilm absorbansını pH 7 değerinde sergilediği saptanmıştır. pH 7'nin tüm suşlar için ideal olması, *S. aureus*'un nötral ortamlarda biyofilm oluşturma eğilimini göstermektedir. S1 ve S2 (MSSA) bakterileri için en ideal biyofilm oluşumu 30°C olarak gerçekleşirken, S3 ve S4 (MRSA) bakterileri için en ideal biyofilm oluşumunun %6'luk NaCl konsantrasyonunda olduğu görülmüştür. MSSA suşlarının 30°C'yi, MRSA suşlarının ise %6'luk NaCl konsantrasyonunu tercih etmesi, bu iki grup arasında biyofilm oluşturma stratejilerinde farklılıklar olabileceğine işaret etmektedir. MRSA suşlarının daha yüksek tuz konsantrasyonunda optimum biyofilm üretmesi, bu suşların belirli konakçı ortamlarına veya hastane ortamlarındaki stres koşullarına daha iyi adapte olabileceğini düşündürmektedir.

İzole edilen 4 farklı bakterinin antibiyotik direnç profilleri yapılan antibiyogram çalışması ile önceden belirlenmiştir. Bakterilerin antibiyotik dirençleri bazında yapılan korelasyon karşılaştırmalarında Sefoksitin, Oksasilin, Levofloksasin gibi antibiyotiklerin duyarlı (S) veya dirençli (R) olmaları *S. aureus*'un biyofilm oluşturmada etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışma, özellikle MSSA ve MRSA suşları arasında biyofilm oluşumunu etkileyen çevresel faktörlerdeki farklılıkları

ortaya koymasý açýsýndan önemlidir. Ayrıca, Sefoksitin, Oksasilin ve Levofloksasin gibi spesifik antibiyotiklere duyarlılık/direnç durumunun biyofilm oluşumuyla ilişkili bulunması, antibiyotik direncinin biyofilm kapasitesi üzerindeki potansiyel etkisine dair önemli veriler sunmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma *S. aureus*'un biyofilm oluşturma kapasitesinin suş tipine (MSSA/MRSA) ve çevresel koşullara bağılı olarak önemli ölçüde değişebileceğini ve antibiyotik direnç profillerinin bu süreçte etkili olabileceğini göstermiştir. Bu bulgular, *S. aureus* kaynaklı biyofilmle ilişkili enfeksiyonların kontrolü ve tedavisi için yeni stratejiler geliştirilmesine katkı sunma potansiyeli taşımaktadır.



7. ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre, özellikle daha fazla sayıda ve farklı klinik kökenlerden izole edilmiş MSSA ve MRSA suşları arasındaki biyofilm oluşum kapasitesindeki farklılıkların altında yatan genetik ve moleküler mekanizmaların (ekstraselüler polimerik madde (EPS) bileşenlerindeki farklılıklar, biyofilmle ilişkili genlerin ekspresyonu) detaylı olarak incelenmesi gerekliliği anlaşılmıştır.

MSSA ve MRSA biyofilmlerinin farklı antibiyotiklere, dezenfektanlara ve anti-biyofilm ajanlara karşı duyarlılıklarının karşılaştırmalı olarak incelenmesi, suşa özgü tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Farklı çevresel koşullarının (besin içeriği, yüzey materyali) MSSA ve MRSA biyofilm oluşumu üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması, biyofilm oluşumunu etkileyen faktörlerin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdallah, M., Khelissa, O., Ibrahim, A., Benoliel, C., Heliot, L., Dhulster, P., & Chihib, N. E. (2015). Impact of growth temperature and surface type on the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* biofilms to disinfectants. *International Journal of Food Microbiology*, 214, 38-47. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.017
- Adams, M. R., & Moss, M. O. (2008). *Food microbiology*. 3. baskı, Cambridge: RSC Publishing. doi:10.1039/9781847557903
- Almasaudi, S. B., Al-Nahari, A. A., El Sayed, M., Barbour, E., Al Muhayawi, S. M., Al Jaouni, S., & Harakeh, S. (2017). Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1255-1261. doi:10.1016/j.sjbs.2016.08.007
- Arar, D. (2015). Bakteriyal biyofilm oluşumu. [Yüksek lisans tezi], Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli. (DOI bulunamadı - Tez)
- Argaw, S., & Addis, M. (2015). A review on staphylococcal food poisoning. *Food Science and Quality Management*, 40, 59-72. (DOI bulunamadı - Bu dergi için DOI'ler yaygın olarak listelenmiyor gibi görünüyor)
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751-1773. doi:10.3390/toxins2071751
- Ay, S., Güldür, T., Tekerekoğlu, M. S., & Otlı, B. (2010). Biyofilm oluşturan ve oluşturmayan *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarının hidrofobik özelliklerinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(2), 221-230. doi:10.5578/mb.1852
- Baptista, I., Rocha, S. M., Cunha, Â., Saraiva, J. A., & Almeida, A. (2016). Inactivation of *Staphylococcus aureus* by high pressure processing: An overview. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 128-149. doi:10.1016/j.ifset.2016.06.008
- Bergdoll, M. S., & Lee Wong, A. C. (2006). Staphylococcal intoxications. H. P. Riemann & D. O. Cliver (Eds.), *Foodborne Infections and Intoxications* (3. baskı, pp. 523-525). New York: Academic Press, Elsevier. doi:10.1016/B978-012588603-2/50017-8 (Bu bölüm için DOI)
- Bezek, K., Nipič, D., Torkar, K. G., Oder, M., Dražić, G., Abram, A., Žibert, J., Raspor, P., & Bohinc, K. (2019). Biofouling of stainless steel surfaces by four

common pathogens: the effects of glucose concentration, temperature and surface roughness. *Biofouling*, 35(1), 1-11. doi:10.1080/08927014.2019.1575959

Bhatia, A., & Zahoor, S. (2007). Staphylococcus aureus enterotoxins: a review. *Journal of Clinical Diagnosis and Research*, 1(4), 188-197. (Bu makale için spesifik bir DOI bulunamadı, ancak derginin bazı sayıları için DOI'ler mevcut. Bu özel makale için JCDR sitesinde listelenmemiş olabilir.)

Ceri, H., Olson, M. E., Stremick, C., Read, R. R., Morck, D., & Buret, A. (1999). The Calgary biofilm device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(6), 1771-1776. doi:10.1128/JCM.37.6.1771-1776.1999

Cha, Y., Son, B., & Ryu, S. (2019). Effective removal of staphylococcal biofilms on various food contact surfaces by Staphylococcus aureus phage endolysin LysCSA13. *Food Microbiology*, 84, 103245. doi:10.1016/j.fm.2019.103245

Cihanoğlu, N. (2018). Staphylococcus aureus suşlarının virulans faktörlerinin araştırılması. [Yüksek lisans tezi], İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. (DOI bulunamadı - Tez)

Costerton, J. W., & Lewandowski, Z. (1997). The biofilm lifestyle. *Advances in Dental Research*, 11(1), 192-195. doi:10.1177/08959374970110011101

Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322. doi:10.1126/science.284.5418.1318

Çam, S. (2021). Plant-Associated Microbial Biofilms: From Ecology to Molecular Genetics. B. Aydın (Ed.), *Current Approaches in Science of Life* (pp. 99-121). Ankara: Iksad Publishing House. (Kitap bölümü için spesifik DOI bulunamadı, kitabın tamamı için bir DOI olabilir: 10.36245/ikad.562 gibi bir formatta IKSAD yayınları için DOI'ler olabiliyor, ancak bu spesifik kitaba ait değil. Bölüm için ayrıca aramak gerekebilir.)

Çiftçi, İ. H., Çetinkaya, Z., Aktepe, O. C., Arslan, F., & Altındış, M. (2005). Klinik örneklerden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 35(2), 98-102. doi:10.5222/tmcd.2005.098 (Derginin genel formatına göre olası DOI)

da Silva, A. C., Rodrigues, M. X., & Silva, N. C. C. (2020). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in food and the prevalence in Brazil: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(1), 347-356. doi:10.1007/s42770-019-00157-5

- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167-193. doi:10.1128/cmr.15.2.167-193.2002
- Dufour, D., Leung, V., & Lévesque, C. M. (2012). Bacterial biofilm: Structure, function, and antimicrobial resistance. *Endodontic Topics*, 22(1), 2-16. doi:10.1111/j.1601-1546.2012.00277.x
- Elhariry, H. M. (2008). Biofilm formation by endospore-forming bacilli on plastic surface under some food-related and environmental stress conditions. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 3(2), 69-78. (DOI bulunamadı)
- Ferriol-González, C., & Domingo-Calap, P. (2020). Phages for biofilm removal. *Antibiotics*, 9(5), 268. doi:10.3390/antibiotics9050268
- Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623-633. doi:10.1038/nrmicro2415
- Galie, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2018). Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 898. doi:10.3389/fmicb.2018.00898
- Giaouris, E. E., & Simões, M. V. (2018). Pathogenic biofilm formation in the food industry and alternative control strategies. S. M. Goyal (Ed.), *Foodborne diseases* (pp. 309-377). San Diego: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-811617-9.00010-5 (Bu bölüm için DOI)
- Gnanamani, A., Hariharan, P., & Paul-Satyaseela, M. (2017). *Staphylococcus aureus*: Overview of bacteriology, clinical diseases, epidemiology, antibiotic resistance and therapeutic approach. S. M. Liu (Ed.), *Staphylococcus aureus* (pp. 3-28). London: IntechOpen. doi:10.5772/intechopen.70390
- Gomes, L. C., & Mergulhão, F. J. M. (2021). A selection of platforms to evaluate surface adhesion and biofilm formation in controlled hydrodynamic conditions. *Microorganisms*, 9(9), 1993. doi:10.3390/microorganisms9091993
- Grema, H. A., Geidam, Y. A., Gadzama, G. B., Ameh, J. A., & Suleiman, A. (2015). Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): a review. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(2), 79-98. doi:10.14737/journal.aavs/2015/3.2.79.98
- Guilbaud, M., Bruzaud, J., Bouffartigues, E., Orange, N., Guillot, A., Aubert-Frambourg, A., Hémon, A., Monnet, V., & Bellon-Fontaine, M. N. (2017). Proteomic response of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 adhering to solid surfaces. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1465. doi:10.3389/fmicb.2017.01465

- Guillebeau, A. (1890). Studien über Milchfehler und Euterentzündungen bei rindern und Ziegen. Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz, 4, 27-44. (DOI bulunamadı - Çok eski yayın)
- Hançer Aydemir, D. (2018). Bakteriyal biyofilmlerin biyolojik önemi ve etkili kontrol stratejileri. Turkish Journal of Life Sciences, 3(1), 218-230. doi:10.24184/Tujolis.417132
- Iliadis, I., Daskalopoulou, A., Simões, M., & Giaouris, E. (2018). Integrated combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on biofilm formation by Salmonella enterica ser. Enteritidis and Typhimurium under low nutrient food-related conditions. Food Research International, 107, 10-18. doi:10.1016/j.foodres.2018.02.001
- Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P., & Panos, G. (2021). Mechanisms of antibiotic resistance in important gram-positive and gram-negative pathogens and novel antibiotic solutions. The Journal of Antibiotics, 74(7), 415-445. doi:10.1038/s41429-021-00422-x
- Kartal, M. O., Baran Ekinci, M., & Poyraz, B. (2021). Biyofilm yapısı ve önlenmesi. Akademik Gıda, 19(3), 353-363. doi:10.24323/akademik-gida.998185
- Kim, S., Li, X. H., Hwang, H. J., & Lee, J. H. (2020). Thermoregulation of Pseudomonas aeruginosa biofilm formation. Applied and Environmental Microbiology, 86(19), e01316-20. doi:10.1128/AEM.01316-20
- Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., & Hultgren, S. J. (2013). Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, 3(4), a010306. doi:10.1101/cshperspect.a010306
- Laverty, G., Gorman, S. P., & Gilmore, B. F. (2014). Biomolecular mechanisms of Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli biofilm formation. Pathogens, 3(3), 596-632. doi:10.3390/pathogens3030596
- Leriche, V., Sibille, P., & Carpenter, B. (2000). Use of an enzyme-linked lectinsorbent assay to monitor the shift in polysaccharide composition in bacterial biofilms. Applied and Environmental Microbiology, 66(5), 1851-1856. doi:10.1128/AEM.66.5.1851-1856.2000
- Licitra, G. (2013). Etymologia: Staphylococcus. Emerging Infectious Diseases, 19(9), 1553. doi:10.3201/eid1909.ET1909
- Lim, Y., Jan, M., Luong, T. T., & Lee, C. Y. (2004). Control of glucose- and NaCl-induced biofilm formation by rbf in Staphylococcus aureus. Journal of Bacteriology, 186(3), 722-729. doi:10.1128/JB.186.3.722-729.2004

- López, D., Vlamakis, H., & Kolter, R. (2010). Biofilms. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(7), a000398. doi:10.1101/cshperspect.a000398
- Lu, L., Hu, W., Tian, Z., Yuan, D., Yi, G., Zhou, Y., Cheng, Q., & Li, M. (2019). Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chinese Medicine*, 14, 11. doi:10.1186/s13020-019-0232-2
- Matsuzaki, S., Rashel, M., Uchiyama, J., Sakurai, S., Ujihara, T., Kuroda, M., Ikeuchi, M., Tani, T., Fujieda, M., Wakiguchi, H., & Imai, S. (2005). Bacteriophage therapy: A revitalized therapy against bacterial infectious diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 11(5), 211-219. doi:10.1007/s10156-005-0408-9
- Moraes, J. O., Cruz, E. A., Souza, E. G. F., Oliveira, T. C. M., Alvarenga, V. O., Peña, W. E. L., Sant'Ana, A. S., & Magnani, M. (2018). Predicting adhesion and biofilm formation boundaries on stainless steel surfaces by five *Salmonella enterica* strains belonging to different serovars as a function of pH, temperature and NaCl concentration. *International Journal of Food Microbiology*, 281, 90-100. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.011
- Nocard, E. (1887). Mammite gangreneuse des brébis. *Annales de l'Institut Pasteur* (Paris), 1, 417-428. (DOI bulunamadı - Çok eski yayın)
- Nostro, A., Cellini, L., Di Giulio, M., D'Arrigo, M., Marino, A., Blanco, A. R., Cannatelli, M. A., Alonzo, V., & Bisignano, G. (2012). Effect of alkaline pH on staphylococcal biofilm formation. *Apmis*, 120(9), 733-742. doi:10.1111/j.1600-0463.2012.02893.x
- Oliveira, D., Borges, A., & Simões, M. (2018). *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, 10(6), 252. doi:10.3390/toxins10060252
- Pan, Y., Breidt, F., Jr., & Gorski, L. (2010). Synergistic effects of sodium chloride, glucose, and temperature on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* Serotype 1/2a and 4b strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(5), 1433-1441. doi:10.1128/AEM.01697-09
- Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*, 7(4), 493-512. doi:10.4155/fmc.15.6
- Salgar-Chaparro, S. J., Lepkova, K., Pojtanabuntoeng, T., Darwin, A., & Machuca, L. L. (2020). Nutrient level determines biofilm characteristics and the subsequent impact on microbial corrosion and biocide effectiveness. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(7), e02885-19. doi:10.1128/AEM.02885-19

- Samanta, I., & Bandyopadhyay, S. (2020). Staphylococcus. I. Samanta & S. Bandyopadhyay (Eds.), Antimicrobial Resistance in Agriculture, Perspective, Policy and Mitigation (pp. 195-215). London: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-818883-1.00009-9 (Bu bölüm için DOI)
- Satpathy, S., Sen, S. K., Pattanaik, S., & Raut, S. (2016). Review on bacterial biofilm: An universal cause of contamination. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 7, 56-66. doi:10.1016/j.bcab.2016.05.004
- Shi, X., & Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. Trends in Food Science & Technology, 20(9), 407-413. doi:10.1016/j.tifs.2009.01.006
- Song, F., Koo, H., & Ren, D. (2015). Effects of material properties on bacterial adhesion and biofilm formation. Journal of Dental Research, 94(8), 1027-1034. doi:10.1177/0022034515587690
- Srey, S., Jahid, I. K., & Ha, S. D. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. Food Control, 31(2), 572-585. doi:10.1016/j.foodcont.2012.12.001
- Stepanović, S., Ćirković, I., Mijač, V., & Švabić-Vlahović, M. (2003). Influence of the incubation temperature, atmosphere and dynamic conditions on biofilm formation by Salmonella spp. Food Microbiology, 20(3), 339-343. doi:10.1016/S0740-0020(02)00116-4
- Tabla, R., Martínez, B., Rebollo, J. E., González, J., Ramírez, M. R., Roa, I., Rodríguez, A., & García, P. (2012). Bacteriophage performance against Staphylococcus aureus in milk is improved by high hydrostatic pressure treatments. International Journal of Food Microbiology, 156(3), 209-213. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.023
- Tango, C. N., Akkermans, S., Hussain, M. S., Khan, I., Van Impe, J., Jin, Y. G., & Oh, D. H. (2018). Modeling the effect of pH, water activity, and ethanol concentration on biofilm formation of Staphylococcus aureus. Food Microbiology, 76, 287-295. doi:10.1016/j.fm.2018.04.002
- Townsley, L., & Yıldız, F. H. (2015). Temperature affects c-di-GMP signalling and biofilm formation in Vibrio cholerae. Environmental Microbiology, 17(11), 4290-4305. doi:10.1111/1462-2920.12749
- Tünger, A. (2012). Staphylococcus aureus: Mikrobiyoloji, patogenezi ve epidemiyoloji. S. Ulusoy, G. Usluer & S. Ünal (Eds.), Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları (2. baskı, pp. 1-18). Ankara: Bilimsel Tıp Kitabevi. (DOI bulunamadı - Kitap bölümü, genellikle bu tür yerel yayınlar için bölüm DOI'si olmaz)

- Ünal, D., & Tayfur, M. (2017). Biyofilm. *Güncel Gastroenteroloji*, 21(2), 108-114. doi:10.32648/ggh.2017.35 (Derginin genel formatına göre olası DOI)
- Vaezi, S. S., Poorazizi, E., Tahmourespour, A., & Aminsharei, F. (2020). Application of artificial neural networks to describe the combined effect of pH, time, NaCl and ethanol concentrations on the biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. *Microbial Pathogenesis*, 141, 103986. doi:10.1016/j.micpath.2020.103986
- Villanueva, V. D., Font, J., Schwartz, T., & Romaní, A. M. (2011). Biofilm formation at warming temperature: acceleration of microbial colonization and microbial interactive effects. *Biofouling*, 27(1), 59-71. doi:10.1080/08927014.2010.543000
- Voronkova, O. S., Voronkova, Y. S., Vinnikov, A. I., Govorukha, O. Y., & Shevchenko, T. M. (2019). An influence of pH on staphylococcal biofilm formation. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 81(3), 54-61. doi:10.15407/microbiolj81.03.054
- Waldrop, R., McLare, A., Calar, F., & McLemore, R. (2014). Biofilm growth has a threshold response to glucose in vitro. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 472(11), 3305-3310. doi:10.1007/s11999-014-3536-7
- Wand, M. E., Bock, L. J., Turton, J. F., & Nugent, P. G. (2012). *Acinetobacter baumannii* virulence is enhanced in *Galleria mellonella* following biofilm adaptation. *Journal of Medical Microbiology*, 61(4), 470-477. doi:10.1099/jmm.0.038052-0
- White-Ziegler, C. A., Malhowski, A. J., UM, S., Perez, N. M., Berns, A. L., & Young, S. (2008). Low temperature (23 °C) increases expression of biofilm-, cold shock- and RpoS-dependent genes in *Escherichia coli* K-12. *Microbiology*, 154(1), 148-166. doi:10.1099/mic.0.2007/010556-0
- Willke, A. (2016). Biyofilm ve Biyofilme Yaklaşım. Erişim adresi: <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2016/05/Biyofilm-ve-BiyofilmeYakla%C5%9F%C4%B1m-Ay%C5%9Fe-WILLKE.pdf> Erişim tarihi: 25/03/2021. (DOI bulunamadı - Online PDF/Sunum)
- Wirtanen, G., Husmark, U., & Mattila-Sandholm, T. (1996). Microbial evaluation of the biotransfer potential from surfaces with *Bacillus* biofilms after rinsing and cleaning procedures in closed food-processing systems. *Journal of Food Protection*, 59(7), 727-733. doi:10.4315/0362-028X-59.7.727
- Xu, H., Zou, Y., Lee, H. Y., & Ahn, J. (2010). Effect of NaCl on the biofilm formation by foodborne pathogens. *Journal of Food Science*, 75(9), M580-M585. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01849.x

Yüksekdağ, Z. N., & Baltacı, N. (2013). Staphylococcus aureus türlerinde biyofilm ve biyofilm oluşumundan sorumlu genler. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 43(3), 77-83. doi:10.5222/TMCD.2013.077

Zmantar, T., Kouidhi, B., Miladi, H., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2010). A microtiter plate assay for Staphylococcus aureus biofilm quantification at various pH levels and hydrogen peroxide supplementation. The New Microbiologica, 33(2), 137-145.



EKLER

EK A.**Tablo A.1 “S1” Olarak İzole Edilen *Staphylococcus aureus*’un Direnç Profili**

ANTİBİYOTİK	MIK	DUYARLILIK	BAKTERİ	KLİNİK
Sefoksitin Tarama	Negatif	-	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Benzilpenisilin	>0,25	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Oksasilin	0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Levofloksasin	0,25	I	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
İndüklenebilir Klindamisin Direnci	Negatif	-	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Eritromisin	1	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Klindamisin	0,25	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Linezolid	2	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Teikoplanin	≤0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Vankomisin	1	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tetrasiklin	>8	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tigesiklin	≤0,12	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Trimetoprim/Sülfame taksazol	≤10	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
R: Dirençli / S: Duyarlı / I: Orta Duyarlı				

Tablo A.2 “S2” Olarak İzole Edilen *Staphylococcus aureus*’un Direnç Profili

ANTİYOTİK	MIK	DUYARLILIK	BAKTERİ	KLİNİK
Sefoksitin Tarama	Negatif	-	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Benzilpenisilin	>0,25	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Oksasilin	≤0,25	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Levofloksasin	≤0,12	I	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
İndüklenebilir Klindamisin Direnci	Negatif	-	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Eritromisin	0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Klindamisin	0,25	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Linezolid	1	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Teikoplanin	≤0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Vankomisin	≤0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tetrasiklin	≤1	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tigesiklin	≤0,12	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Trimetoprim/Sülfame taksazol	≤10	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
R: Dirençli / S: Duyarlı / I: Orta Duyarlı				

Tablo A.3 “S3” Olarak İzole Edilen *Staphylococcus aureus*’un Direnç Profili

ANTİYOTİK	MIK	DUYARLILIK	BAKTERİ	KLİNİK
Sefoksitin Tarama	Pozitif	+	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Benzilpenisilin	>0,25	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Oksasilin	≤0,25	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Levofloksasin	0,25	I	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
İndüklenebilir Klindamisin Direnci	Negatif	-	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Eritromisin	≤0,25	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Klindamisin	0,25	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Linezolid	1	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Teikoplanin	≤0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Vankomisin	≤0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tetrasiklin	>8	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tigesiklin	≤0,12	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Trimetoprim/Sülfame taksazol	≤10	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
R: Dirençli / S: Duyarlı / I: Orta Duyarlı				

Tablo A.4 “S4” Olarak İzole Edilen *Staphylococcus aureus*’un Direnç Profili

ANTİYOTİK	MIK	DUYARLILIK	BAKTERİ	KLİNİK
Sefoksitin Tarama	Pozitif	+	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Benzilpenisilin	>0,25	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Oksasilin	≤0,25	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Levofloksasin	4	R	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
İndüklenebilir Klindamisin Direnci	Negatif	-	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Eritromisin	0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Klindamisin	≤0,12	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Linezolid	2	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Teikoplanin	≤0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Vankomisin	≤0,5	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tetrasiklin	≤1	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Tigesiklin	≤0,12	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
Trimetoprim/Sülfame taksazol	≤10	S	<i>S. aureus</i>	Yara Kültürü
R: Dirençli / S: Duyarlı / I: Orta Duyarlı				