

T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*'de FARKLI
ORTAM KOŞULLARINDA PROTEAZ, PROLİN VE BİOFİLM ÜRETİMİ
İLE KAYMA HAREKETLERİNİN İNCELENMESİ

CENNET CANAN KARADERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA

ARALIK 2016

Tez Başlığı : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*' de Farklı Ortam Koşullarında Proteaz, Prolin ve Biofilm Üretimi ile Kayma Hareketlerinin İncelenmesi

Tezi Hazırlayan : Cennet Canan KARADERİ

Sınav Tarihi :21.12.2016

Yukarıdaki adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri üyeleri

Prof. Dr. Muhittin YÜREKLİ
İnönü Üniversitesi

Doç. Dr. Hüseyin KAHRAMAN
Tez Danışmanı
İnönü Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Ekrem AKBULUT
Tunceli Üniversitesi

Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans olarak sunduğum“ *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*’de Farklı Ortam Koşullarında Proteaz, Prolin ve Biofilm Üretimi ile Kayma Hareketlerinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakça yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir. Bunu onurumla doğrularım.

Cennet Canan KARADERİ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*'de Farklı Ortam Koşullarında Proteaz, Prolin ve Biofilm Üretimi ile Kayma Hareketlerinin İncelenmesi

Cennet Canan KARADERİ

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
79+X Sayfa

2016

Danışman: Doç. Dr. Hüseyin KAHRAMAN

Bu çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis* kullanıldı. Farklı ortam koşullarında ve sıcaklıklarda bu üç bakterinin biyofilm oluşturmaları, bakteriyel hareketleri, prolin ve proteaz aktiviteleri incelendi.

Proteaz üretiminde sadece 30 °C' de normal ve çalkalamalı ortamlarında *P. aeruginosa* en yüksek proteaz aktiviteyi gerçekleştirebildiği gözlenirken, diğer sıcaklıklar ve koşullarda *E. faecalis* ve *E. coli*'nin daha iyi proteaz aktivitesi gösterdiği gözlemlendi. KCl varlığında *E. faecalis* ve *E. coli*'nin proteaz aktivitesinde az bir değişiklik göstermesine rağmen proteaz aktiviteyi gerçekleştirebilmektedir. *P. aeruginosa*, yaptığımız çalışmada KCl içeren ortamda *E. faecalis* ve *E. coli*'ye göre daha düşük bir Proteaz aktivite göstermektedir.

Biyofilm aktivitesine en iyi *P. aeruginosa*'nın ve en az da *E. coli*'nin sahip olduğu gösterildi. KCl, *P. aeruginosa*'nın biyofilm aktivitesini olumsuz yönde etkilememiştir.

KCl varlığı *E. faecalis*'in prolin aktivitesini olumsuz yönde etkilememiştir. Aynı şekilde *E. faecalis* KCl'li ortamda prolin aktivitesi gösterebilmektedir. *P. aeruginosa* KCl'li ortamda az da olsa prolin aktivitesi gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışma ile ayrıca bakteriyel hareketleri incelemenin yanı sıra hareketlerinin çapları da ölçülerek bir bakterinin ne kadar çapta hareket edebildiği hakkında fikir sahibi olunmuştur.

ANAHTAR KELİMELEER: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*, biyofilm oluşumu, bakteriyel hareketler, prolin ve proteaz aktivitesi

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Proline, Protease, Biofilm Production and examination of Sliding Movements in different environment conditions in *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*

Cennet Canan KARADERİ

İNÖNÜ UNIVERSITY

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Institute of Natural Sciences

79+ X Pages

2016

Supervisor: Doç. Dr. Hüseyin KAHRAMAN

In this study, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* were used. Different agitation conditions and temperatures of these three bacteria were examined proline, protease, biofilm and bacterial actions.

Protease production is only 30 °C normal and agitated conditions in *P. aeruginosa* highest protease observed can perform the activity, other temperatures and conditions, *E. faecalis* and *E. coli* was observed better protease activity. KCl in the presence of protease activity can be carried out, although showing a slight change in the protease activity of *E. faecalis* and *E. coli*. *P. aeruginosa* in the work we do as part of our thesis in medium containing KCl values are expressed in *E. coli* and *E. faecalis* demonstrated by a lower activity.

All of these studies considered the time biofilm activity that has been shown to have the best of *P. aeruginosa* and at least one *E. coli*. KCl, *P. aeruginosa* biofilm activity did not affect negatively.

Proline in the presence of KCl did not affect the activity of *E. faecalis* in a negative way. Likewise proline may show activity in *E. faecalis* KCl environment. *P. aeruginosa*, KCl less in the environment even if proline activity was observed. With our work we also showed that how a bacterium measuring the diameter of the diameter of the movement as well as being able to perform bacterial action has led to the idea of when to move.

KEY WORDS: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis*, biofilm formation, bacterial movements, prolin and protease activity

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın yürütülmesinde bütün bölüm imkânlarından faydalanmamı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanlığı'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında yardımını, desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Hüseyin KAHRAMAN'a

Tezimin her döneminde değerli bilgilerini esirgemeyen ve her zaman yardımcı olan hocam Doç. Dr. Birol MUTLU'ya

Tez dönemim boyunca maddi ve manevi desteğini hiç esirgemeyen ve her zaman kalbimde olacak hocam Yrd. Doç. Dr. Ayşe Serap BELLİ'ye,

Kimyasalların temin edilmesinde yardımcı olan sayın Prof. Dr. Barış OTLU'ya,

Çalışmalarım boyunca manevi desteklerini hiç esirgemeyen ve her zaman yanımda olan yüksek lisans arkadaşlarıma,

Ayrıca beni maddi ve manevi açıdan destekleyen ve bugüne gelmemi sağlayan aileme ve özellikle de şu an yanımda olamayan fakat hakkını asla ödeyemeyeceğim BABAMA sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1 GİRİŞ	1
1.1 Mikroorganizmaların günlük hayatımızdaki yeri ve önemi	1
1.2 Biyofilm nedir?	1
1.2.1 Biyofilmler nerelerde oluşmaktadır?	2
1.2.2 Mikroorganizmalar neden biyofilm oluşturur?	3
1.2.3 Hangi bakteriler biyofilm oluşturur?	4
1.2.4 Biyofilm yapısı ve oluşumu	4
1.2.5 Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler	5
1.2.6 Biyofilmin çevresel etkileri	5
1.2.7 Biyosüpfaktanlar	6
1.2.7.1 Ramnolipitler	6
1.3 Enzimler	7
1.3.1 Proteazlar	7
1.3.2 Proteaz üreten mikroorganizmalar	8
1.3.3 Proteazların kullanım alanları	8
1.4 Prolin	8
1.5 Bakteriyel hareketler	9
1.5.1 Kayma hareketi	9
1.5.2 Yüzme hareketi	10
1.5.3 Titreme hareketi	10
1.6 <i>P. aeruginosa</i> 'nın genel özellikleri	11
1.6.1 <i>P. aeruginosa</i> 'nın biyokimyasal özellikleri	12
1.6.2 <i>P. aeruginosa</i> 'nın kültürel özellikleri	12
1.7 <i>Enterobacteriaceae</i>	13
1.7.1 <i>E. coli</i>	13
1.7.2 <i>E. faecalis</i>	14
2 KAYNAK ÖZETLERİ	15
3 MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1 Araştırmada kullanılan kimyasallar	23
3.2 Araştırmada Kullanılan Bakteriler ve Saklanma Koşulları	23
3.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri	23
3.4 Çalışmada kullanılan tuz	24
3.5 Proteaz ve prolin kültür koşulları	24
3.6 Hareket testleri	25
3.6.1 Kayma hareketi	25
3.6.2 Yüzme hareketi	25
3.6.3 Titreme hareketi	25
3.7 Biyofilm kinetiği yöntemi	26
3.8 Proteaz aktivite yöntemi	26
3.9 Prolin yöntemi	27
4 ARAŞTIRMA BULGULARI	29

4.1	Bakterilerin statik 30 °C'de proteaz üretimi	29
4.1.1	Bakterilerin statik 37 °C'de proteaz üretimi	29
4.1.2	Bakterilerin 30 °C 100 rpm'de proteaz üretimi	30
4.1.3	Bakterilerin 37 °C 100 rpm'de proteaz üretimi	31
4.1.4	Bakterilerin 30 °C 200 rpm'de proteaz üretimi	31
4.1.5	Bakterilerin 37 °C 200 rpm'de proteaz üretimi	32
4.1.6	Bakterilerin KCl statik 30 °C'de proteaz üretimi.....	33
4.1.7	Bakterilerin KCl statik 37 °C'de proteaz üretimi.....	33
4.1.8	Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de proteaz üretimi	34
4.1.9	Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm'de proteaz üretimi	35
4.1.10	Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm'de proteaz üretimi	35
4.1.11	Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm'de proteaz üretimi	36
4.2	Bakterilerin statik 30 °C'de prolin üretimi	37
4.2.1	Bakterilerin statik 37 °C'de prolin üretimi	37
4.2.2	Bakterilerin 30 °C 100 rpm'de prolin üretimi.....	38
4.2.3	Bakterilerin 37 °C 100 rpm'de prolin üretimi.....	39
4.2.4	Bakterilerin 30 °C 200 rpm'de prolin üretimi.....	39
4.2.5	Bakterilerin 37 °C'de 200 rpm'de prolin üretimi	40
4.2.6	Bakterilerin KCl statik 30 °C'de prolin üretimi	41
4.2.7	Bakterilerin KCl statik 37 °C'de prolin üretimi	41
4.2.8	Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de prolin üretimi	42
4.2.9	Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm'de prolin üretimi	43
4.2.10	Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm'de prolin üretimi	43
4.2.11	Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm'de prolin üretimi	44
4.3	Bakterilerin statik 30 °C'de biyofilm oluşum kinetiği	45
4.3.1	Bakterilerin statik 37 °C'de biyofilm oluşum kinetiği	45
4.3.2	Bakterilerin 30 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	46
4.3.3	Bakterilerin 37 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	47
4.3.4	Bakterilerin 30 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	47
4.3.5	Bakterilerin 37 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	48
4.3.6	Bakterilerin KCl statik 30 °C'de biyofilm oluşum kinetiği.....	49
4.3.7	Bakterilerin KCl statik 37 °C'de biyofilm oluşum kinetiği.....	49
4.3.8	Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği	50
4.3.9	Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği	51
4.3.10	Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği	51
4.3.11	Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği	52
4.4	Bakteriyel hareketler	54
4.4.1	Bakterilerde kayma hareketi	54
4.4.2	Bakterilerde 30 °C'de kayma hareketi.....	54
4.4.2.1	Bakterilerde 30 °C KCl varlığında kayma hareketi.....	54
4.4.2.2	Bakterilerde 37 °C'de kayma hareketi.....	55
4.4.2.3	Bakterilerde 37 °C KCl varlığında kayma hareketi.....	55
4.4.3	Bakterilerde yüzme hareketi	56
4.4.3.1	Bakterilerde 25 °C'de yüzme hareketi.....	56
4.4.3.2	Bakterilerde 25 °C KCl varlığında yüzme hareketi.....	56
4.4.4	Bakterilerde titreme hareketi	57
4.4.4.1	Bakterilerde 30 °C'de titreme hareketi.....	57
4.4.4.2	Bakterilerde 30 °C KCl varlığında titreme hareketi.....	57

4.4.4.3	Bakterilerde 37 °C’de titreme hareketi.....	58
4.4.4.4	Bakterilerde 37 °C KCl varlığında titreme hareketi.....	58
5	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	61
5.1	Bakterilerde biyofilm oluşum kinetiği	61
5.1.1	Bakterilerin statik 30 °C ve 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiği	61
5.1.2	Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği	61
5.1.3	Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği	62
5.1.4	Bakterilerin statik KCl 30 °C ve 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiği.....	62
5.1.5	Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği	62
5.1.6	Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği	63
5.2	Bakterilerde prolin üretimi	63
5.2.1	Bakterilerin statik 30 °C ve 37 °C’de prolin üretimi	63
5.2.2	Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de prolin üretimi	64
5.2.3	Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de prolin üretimi	64
5.2.4	Bakterilerin KCl statik 30 °C ve 37 °C’de prolin üretimi.....	65
5.2.5	Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de prolin üretimi	65
5.2.6	Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de prolin üretimi	65
5.3	Bakterilerde proteaz enzim üretimi.....	66
5.3.1	Bakterilerin statik 30 °C ve 37 °C proteaz üretimi.....	66
5.3.2	Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de proteaz üretimi	67
5.3.3	Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de proteaz üretimi	67
5.3.4	Bakterilerin KCl statik 30 °C ve 37 °C’de proteaz üretimi.....	68
5.3.5	Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de proteaz üretimi	68
5.3.6	Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de proteaz üretimi	68
5.4	Bakteriyel hareketler	69
5.4.1	Bakterilerde 30 °C ve 37 °C Normal ve KCl içeren LB ortamlarında kayma hareketi	69
5.4.2	Bakterilerde 25 °C’de Normal ve KCl içeren LB ortamlarında yüzme hareketi	70
5.4.3	Bakterilerde 30 °C ve 37 °C Normal ve KCl içeren LB ortamlarında titreme hareketi	70
6	KAYNAKÇALAR.....	72
7	ÖZ GEÇMİŞ	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>P. aeruginosa</i> biyofilminin SEM görüntüsü	2
Şekil 1.2. Biyofilmin oluşum mekanizması	5
Şekil 1.3. Prolinin biyokimyasal yapısı.	9
Şekil 1.4. <i>P. aeruginosa</i> 'nın elektron mikroskopta görüntüsü.	12
Şekil 1.5. <i>E. coli</i> 'nin mikroskopik görüntüsü	14
Şekil 1.6. <i>E. faecalis</i> 'in mikroskopik görüntüsü	14
Şekil 3. 1. Prolin ve proteaz aktivitelerinin standart grafikleri.....	28
Şekil 4.1. Bakterilerin statik 30 °C'de proteaz üretimi.....	29
Şekil 4.2. Bakterilerin statik 37 °C'de proteaz üretimi.....	30
Şekil 4.3. Bakterilerin 30 °C 100 rpm'de proteaz üretimi.....	30
Şekil 4.4. Bakterilerin 37 °C 100 rpm'de proteaz üretimi.....	31
Şekil 4.5. Bakterilerin 30 °C 200 rpm proteaz üretimi.....	32
Şekil 4.6. Bakterilerin 37 °C 200 rpm'de proteaz üretimi.....	32
Şekil 4.7. Bakterilerin KCl statik 30 °C'de proteaz üretimi.....	33
Şekil 4.8. Bakterilerin KCl statik 37 °C'de proteaz üretimi.....	34
Şekil 4.9. Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de proteaz üretimi.....	34
Şekil 4.10. Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm'de proteaz üretimi.....	35
Şekil 4.11. Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm'de proteaz üretimi.....	36
Şekil 4.12. Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm'de proteaz üretimi.....	36
Şekil 4.13. Bakterilerin statik 30 °C'de prolin üretimi.....	37
Şekil 4.14. Bakterilerin statik 37 °C'de prolin üretimi.....	38
Şekil 4.15. Bakterilerin 30 °C 100 rpm'de prolin üretimi.....	38
Şekil 4.16. Bakterilerin 37 °C 100 rpm'de prolin üretimi.....	39
Şekil 4.17. Bakterilerin 30 °C 200 rpm'de prolin üretimi.....	40
Şekil 4.18. Bakterilerin 37 °C 200 rpm'de prolin üretimi.....	40
Şekil 4.19. Bakterilerin KCl statik 30 °C'de prolin üretimi.....	41
Şekil 4.20. Bakterilerin KCl statik 37 °C'de prolin üretimi.....	42
Şekil 4.21. Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de prolin üretimi.....	42
Şekil 4.22. Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm'de prolin üretimi.....	43
Şekil 4.23. Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm'de prolin üretimi.....	44
Şekil 4.24. Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm'de prolin üretimi.....	44
Şekil 4.25. Bakterilerin statik 30 °C'de biyofilm oluşum kinetiği.....	45
Şekil 4.26. Bakterilerin statik 37 °C'de biyofilm oluşum kinetiği.....	46
Şekil 4.27. Bakterilerin 30 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	46
Şekil 4.28. Bakterilerin 37 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	47
Şekil 4.29. Bakterilerin 30 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	48
Şekil 4.30. Bakterilerin 37 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	48
Şekil 4.31. Bakterilerin KCl statik 30 °C'de biyofilm oluşum kinetiği.....	49
Şekil 4.32. Bakterilerin KCl statik 37 °C'de biyofilm oluşum kinetiği.....	50
Şekil 4.33. Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	50
Şekil 4.34. Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	51
Şekil 4.35. Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	52
Şekil 4.36. Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği.....	52
Şekil 4.37. <i>P. aeruginosa</i> 'nın LB'de cam yüzeylerinde biyofilm oluşumu (a) ve kristal viyole (b) ile boyanmış biyofilm yapısı.....	53

Şekil 4.38. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 30 °C'de kayma hareketleri.....	54
Şekil 4.39. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 30 °C'de KCl varlığında kayma hareketleri.....	55
Şekil 4.40. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 37 °C'de kayma hareketleri.....	55
Şekil 4.41. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 37 °C KCl varlığında kayma hareketleri.....	56
Şekil 4.42. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 25 °C'de yüzme hareketleri.....	56
Şekil 4.43. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 25 °C KCl varlığında yüzme hareketleri.....	57
Şekil 4.44. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 30 °C'de titreme hareketleri.....	57
Şekil 4.45. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 30 °C KCl varlığında titreme hareketleri.....	57
Şekil 4.46. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 37 °C'de titreme hareketleri.....	58
Şekil 4.47. a) <i>P. aeruginosa</i> 'nın b) <i>E. coli</i> 'nin c) <i>E. faecalis</i> 'in 37 °C KCl varlığında titreme hareketleri.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan besiyerleri.....	24
Çizelge 2. Bakterilerde 30 °C ve 37 °C’de Normal ve KCl varlığında bakteriyel hareketler (mm).....	59



SİMGELER VE KISALTMALAR

LB	Luria Bertani
μm	Mikrometre
μl	Mikrolitre
ml	Mililitre
Mm	Milimolar
Nm	Nanometre
OD	Optik Dansitite
Rpm	Dk'daki dönme hızı
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi

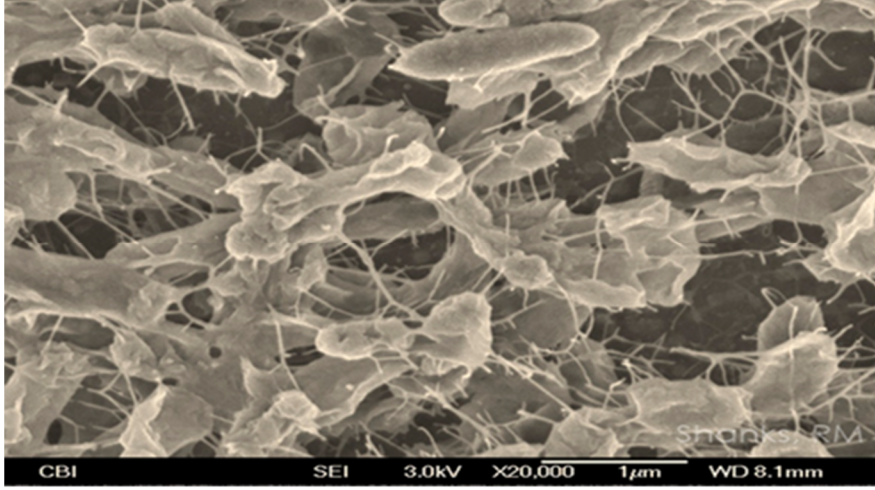
1 GİRİŞ

1.1 Mikroorganizmaların günlük hayatımızdaki yeri ve önemi

Gözümüz ile göremeyeceğimiz kadar çok küçük olan bu canlılar, hayatımızda oldukça önemli bir yere sahiptir. Günlük hayatımızda tükettiğimiz birçok gıda mikroorganizmalarla elde edilmektedir. Örneğin; yoğurt, kefir, tüm alkollü içecekler, ekmeğin mayalanması, sirke vb. Bunun yanı sıra çeşitli endüstriyel ürünlerde (alkol, bütanol ve aseton) mikroorganizmalarla elde edilir. Mikroorganizmalar doğada meydana gelen S, N, P, C döngülerinde de önemli bir rol oynamaktadır. Genetik alanındaki çalışmalarda da bu canlılar tercih edilmektedir. Bu canlıların pek çok yararlarının olmasının yanı sıra zararları da bulunmaktadır. Pek çok mikroorganizma türü insanları, bitkileri ve hayvanları enfekte edebilmekte ve bunun sonucunda ölüme kadar götürebilmektedir. Örneğin; genetik çalışmalarda kullanılan bazı mikroorganizmalar hastalık yapabilme (patojen) özelliğine sahiptir [1].

1.2 Biyofilm nedir?

Biyofilm kavramı, 17. yy'da Van Leeuwenhoek'un kendi plaklarında, mikroskop ile mikroorganizmaları göstermesi ile ortaya çıkmıştır. 1976 yılında ise biyofilm hakkında ilk fikirler Marshal adında bir bilim adamı tarafından ileri sürülmüştür. Biyofilmin çok ince bir ekstraselüler polimer fibril olduğunu ve bakterilerin yüzeylere tutunmasında, kolonizasyonlarında oldukça önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir (Şekil1.1) [2].



Şekil 1.1. *P. aeruginosa* biyofilminin SEM görüntüsü [3].

Biyofilm; herhangi bir uzantısı bulunmayan, geniş bir alandan direkt olarak yüzeye bağlanan yapı olarak tanımlanabilir [4]. Bunun yanı sıra biyofilm; kalıcı (katater, eklem ve kalp protezleri gibi) ya da kalıcı olmayan tıbbi araçları ile kistik fibrozis gibi bazı hastalıklarda solunum yollarında koloni oluşturan bakterilerin oluşturduğu mikroorganizma topluluğu anlamına gelmektedir [5].

1.2.1 Biyofilmler nerelerde oluşmaktadır?

- 1) Biyofilm tabakası, suyla temas eden tüm yüzeylerde (endüstriyel veya evsel arıtım sistemleri, su ileten borularda) oluşmaktadır.
- 2) Hayvancılık işletmelerinde, suyun olduğu hemen hemen her yerde oluşmaktadır.
- 3) Cansız yüzeylerle birlikte canlı organizmalarda çeşitli koşullarda ve dokularda oluşabilmektedir.
- 4) Biyofilmler, insan vücudunda protez, lens, kalp kapakçıkları, böbrek taşları, akciğer dokusu gibi canlı ve cansız ortamlarda kolaylıkla oluşabilmektedir [6].

1.2.2 Mikroorganizmalar neden biyofilm oluşturur?

1)Savunma: Stres koşullarına karşı bir cevap olarak oluşturabilmektedir. Biyofilm içerisindeki mikroorganizmalar, besin eksikliği, pH değişiklikleri, dezenfektanlar, fagositoz ve antibiyotiklere karşı serbest yaşayan hücrelerden daha dirençlidirler. Bu nedenden dolayı biyofilm kronik seyirli enfeksiyonlarda oldukça önemli bir faktör olarak rol oynamaktadır. Ekzopolisakkaritler (EPS), biyofilmin büyük bölümünü oluşturmaktadır. EPS, bulunduğu bakteriyi antibiyotik etkilerden korur [7].

2)Topluluk oluşturma: Bakterilerin ortama göstermiş oldukları adaptasyondaki birliktelik biyofilmde çok sık olarak görülmektedir. Bakteriler biyofilm oluşturmaları ile bulundukları ortamdan almış oldukları uyaranlar (pH, sıcaklık, ısı vb) sonucunda serbest hale geçerek yaşamlarını sürdürebilmektedir [7].

3)Adhezyon ve kolonizasyon: Mikroorganizmalar yaşamlarını devam ettirebilmek için biyofilm oluşturmaktadır. Bakteriler; yüzey proteinleri, konakçının sahip olduğu fibrinojen, fibronektin, vibronektin, elastin gibi ekstraselüler matriks proteinlerine yapışırlar. Bunlar, konakçıya bakterilerin sabit bir şekilde tutunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Tutunma sonrasında bu bölgelere yerleşmiş olan bakteriler belli bir yoğunlukta populusyona ulaşmak için biyofilm oluştururlar [7].

4)Yaşanabilir bir evre geliştirmek: Ortamda bulunan glikozun bakteriler tarafından kullanılabilir olması nedeniyle *Pseudomonas* sp., *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus*'ların EPS ekspresyonunu ve biyofilm oluşumlarını net bir şekilde artırdığı gözlenmiştir [7].

5)Biyofilm oluşumu hücrelerin uygun nişte kalmasını sağlamaktadır [8].

6)Biyofilm sayesinde bakteriyel hücreler birbirleri ile içerisinde daha yakın ilişkiler kurarak yaşamlarını srdrrlar [8].

1.2.3 Hangi bakteriler biyofilm oluşturur?

P. aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Streptococcus* spp, *Actinomyces* spp, *Lactobacillus* spp, *Pseudomonas putida*, *Salmonella enteritidis*, *Burkholderia cepacia*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio parahaemolyticus* [4, 9].

1.2.4 Biyofilm yapısı ve oluşumu

Bir biyofilmin oluşabilmesi için mikroorganizma, glikokaliks ve yzeeye gereksinim duyulmaktadır. Bir biyofilmin yapısını; % 97 su ve geriye kalan kısmını ise mikroorganizmalar, polisakkaritler, DNA, proteinler ve iyonlar oluşturmaktadır. Biyofilmler, tek tür tarafından oluşturulabileceği gibi birden fazla farklı tür tarafından da oluşturulabilir. Farklı türlerde oluşan bu biyofilmlerde her tür kendi mikrokolonisini oluşturmaktadır. Bununla birlikte bu mikrokoloniler birbirleri ile su kanalları aracılığıyla ayrılmaktadır. Buradaki su akışı ile besin ve oksijenin difüzyonu sağlanmaktadır. [5].

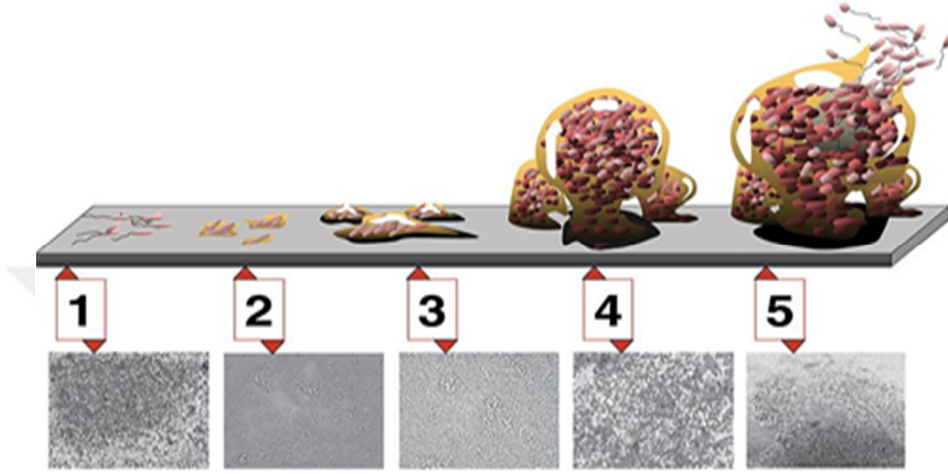
Biyofilm oluşumu birkaç basamak şeklinde gerçekleşmektedir;

Mikroorganizmaların yzeeye tutunması: Mikroorganizmalar yzeeye geri dönüşür bir şekilde tutunur. Bakterilerin hareketi veya bakteri yüzeyi ile tutunulan yüzey arasındaki fiziksel etkileşimler bu safhada rol oynamaktadır [5].

Geri dönüşümsüz olarak tutunma: Yzeeye tutunan hücreler, bakteri hücre zarındaki proteinlerin uyarılması sonucunda EPS yapıda maddeler sentezlemeye başlar ve bu hücrelerin birbirine, yzeeye tutunmasını sağlar. Bu EPS yapı, bakterilerin olumsuz evre koşullarından etkilenmesini engeller [5].

Kolonizasyon: Yzeeye tutunan bakteriler, bölünerek ve çoğalarak mikrokolonileri oluşturmaktadır [5].

Kopma: Biyofilmin üst kısmından kopan hücreler yeni ortamlarda biyofilm oluşturabilmektedir. Biyofilm oluşuktan sonra ise bakteride genetik düzenlemeden sonra hareketi sağlayacak olan flagellalar sentezlenir, üst tabakadan kopmalar gerçekleşir ve kopan bu hücreler yeni biyofilm odaklarını oluşturmak üzere ayrılır (Şekil1.2) [5].



Şekil 1.2. Biyofilmin oluşum mekanizması [10].

1.2.5 Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler

A) Yüzeğe bağlı faktörler: Elektriksel yükler, şekil, katılık veya yumuşaklık, girinti ve çıkıntıların olması,

B) Ortama bağlı faktörler: Besin maddelerinin, antibiyotiklerin ve katyonların varlığı, sıcaklık, sıvı akış hızı, pH,

C) Mikroorganizmaya bağlı faktörler: Hücre duvar yapısı, fimbria ve flagella varlığı, ekstraselüler polimerik maddeler [11].

1.2.6 Biyofilmin çevresel etkileri

Mikrobiyal biyofilmler; cihazlar üzerinde oluşturdukları hasarlar, ürün kontaminasyonları, neden oldukları enfeksiyonlar ile maddi ve sağlık açısından çok

büyük kayıplara neden olmaktadır. Endüstriyel ve evsel atık su arıtım sistemlerinde, su ileten borularda, depolama, işleme ve dağıtım tesislerinde istenmeyen tortulaşma ve tabakalaşma görülmektedir [6].

Mezbahalarda, et ve süt işletmelerinde de biyofilm oluşmaktadır. Tüketime hazır gıdalardan özellikle çiğ et ürünleri, ton balığı içeren salatalar, tavuk etli besinlerin hazırlandıkları yüzeylerde biyofilm tabakalarına rastlanılmıştır ve bunların gıda güvenliği açısından büyük bir risk taşıdığı belirtilmiştir. Süt işletmelerinde, sağım hattında soğutmaya gönderilen sütün geçtiği paslanmaz çelikten yapılmış borulardan geçen, 25 °C'deki sütte *P. aeruginosa*'nın 30 dk içerisinde hemen tutunabildiği bununla birlikte soğumadan işlemeye gönderilen sütün geçtiği paslanmaz çelikten yapılmış borulardan geçen 4 °C'deki sütte ise 2 saat içinde tutunabildiği belirtilmiştir [12].

1.2.7 Biyosüpfaktanlar

Biyosüpfaktanlar; bakteriler, funguslar, mayalar tarafından üretilen ve yapılarında hidrofilik, lipofilik kısımları bulunduran biyomoleküller şeklinde tanımlanabilir. Suda çözünebilme özelliğine sahiptirler. Bunlar özellikle; ziraat, maden, farmasötik ve kozmetik alanlarda, yağların geri kazanımında, çevre, gıda gibi pek çok alanda tercih edilmektedir [13].

1.2.7.1 Ramnolipitler

Ramnolipitler; yapılarında 1 veya 2 tane ramnoz şekeri ve bunlara bağlı olarak çeşitli uzunluklarda β -hidroksi dekanolik asitleri bulundurabilen biyosüpfaktanlardır. Ramnoz şekerleri bileşiklere hidrofilik özelliği kazandırırken, yağ asitlerine eklenen C molekülleri ise hidrofobik özelliklerini arttırmaktadır. Bu özellikler, ramnolipitlerin kararlılıklarını ve hidrofobik bileşikleri çözebilme kapasitesini arttırmaktadır. *P. aeruginosa* tarafından üretilen ramnolipitler, kirletilmiş topraklarda kirleticilerin ortadan kaldırılmasında kullanılan biyosüpfaktanlar olarak yer almaktadır. Bu nedenle ramnolipitler kara ve denizlere dökülmüş olan petrol atıklarının temizlenmesinde, petrol taşıyan borularda viskoziteyi artırmada, makine,

sanayi, kozmetik ve çevre biyoteknolojisi gibi pek çok alanlarda kullanılmaktadır [14].

Ramgolipitler, bakteri hücre duvarlarının yapısında bulundukları zaman hidrokarbonlu bileşikleri periplazmik yüzeye penetrasyonunu kolaylaştırır [14].

1.3 Enzimler

Enzimler, canlı hücreler tarafından sentezlenen protein yapıllı biyolojik katalizörlerdir. Enzim terimi ilk kez W. Kühne tarafından kullanılmıştır. Hücre dışına sentezlenen enzimlere “ekzoenzimler”, hücre içine salınanlara ise “endoenzimler” adı verilmektedir. Enzimler son derece spesifik yapılardır. Birçok enzim, sadece tek bir sustrata etki yapar [15].

1.3.1 Proteazlar

Proteolitik enzimler, proteinlerin hidrolizinde spesifik olarak katalitik bir rol oynamaktadır. Proteazlar; serin proteazlar, aspartik proteazlar, sistin proteazlar ve onların katalitik mekanizmasına bağlı olarak metalloproteazlar olarak gruplandırılır. Onlar ayrıca aminoasit sekanslarına ve evrimsel akrabalıklarına bağlı olarak farklı aileler ve gruplar içerisinde de sınıflandırmaları yapılmaktadır. Optimal pH aktivitesine dayalı olarak; asidik, nötral veya da alkalın proteaz olarak adlandırılmaktadır [16].

Önemli endüstriyel proteazlar bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalardan elde edilmektedir ve çoğunlukla mikrobiyal kaynaklar tercih edilmektedir. Mikroorganizmalar, enzim üretimleri için oldukça önemli kaynaklardır. Mikroorganizmaların tercih edilmesinin sebebi ise; kısa bir süre içerisinde büyük miktarda kültüre edilebilmeleridir. Ayrıca kolay bir şekilde fermentasyon teknikleri kullanılarak ve bol miktarda üretilebilmektedir. Bunların yanı sıra bitkiler ve hayvanlardan daha kolay ve daha fazla miktarda protein üretebilirler. Büyük çapta biyokimyasal çeşitlilikleri ve genetik manipulasyonlarıyla yeni enzimler oluşturabildikleri için mikrobiyal proteazlar enzim kaynağı olarak en çok tercih edilenlerdir [17].

1.3.2 Proteaz üreten mikroorganizmalar

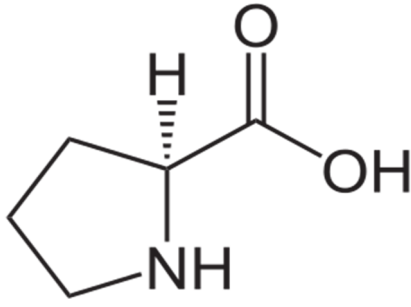
Aspergillus melleu
Aspergillus niger
Chrysosporium keratinophylum
Fusarium graminearum
Penicillium griseofulvum
Scedosporium apioserum
Bacillus licheniformis
Bacillus firmus
Bacillus alcalophilus
Bacillus amyloliquefaciens
Bacillus proteolyticus
Bacillus subtilis
Bacillus thuringiensis
Pseudomonas sp.
Lysobacter enzymogenes
E. coli [18-19].

1.3.3 Proteazların kullanım alanları

Proteazlar, endüstriyel enzim ticaretinin % 60'ını oluşturmaktadır. Çamaşır deterjanları, et, deri, süt, bira, fotoğrafçılık, organik sentezlerde ve de arıtım sistemlerinde kullanılırlar [20]. Bunların yanı sıra unlu ürünlerde, balık proteininin çözünürlüğünün artırılmasında, peynir endüstrisinde, biyokimya gibi alanlarda da tercih edilmektedir [21]. Proteazlar, deterjanda kullanılmakta olan oldukça önemli katkı maddelerinden birisidir. Çeşitli klinik uygulamalar ve eczacılık gibi alanlarda da kullanılmaktadır [22].

1.4 Prolin

Proteinlerin yapısını oluşturan önemli aminoasitlerden birisidir. Diğer tüm aminoasitler birincil amino grubunu taşırlar iken prolin, 3 C atomlu bir halka oluşturarak tekrar peptit bağındaki N bağına bağlandığından dolayı birincil amino grubundan yoksundur (Şekil1.3). Proline bazen de iminoasit denilmektedir. Et ve süt ürünleri, yumurta en iyi bilinen prolin kaynaklarıdır [23].



Şekil1.3. Prolinin biyokimyasal yapısı [24].

Prolin; NaCl stresine maruz kalan bitkilerde protein bütünlüğünün sağlanmasında ve enzimlerin aktif hale getirilmesinde oldukça önemli bir yere sahip olan osmoregülatördür. Bunun yanı sıra stres koşullarda C ve N kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Prolin; hücreler arası yapıyı korur. Protein bütünlüğünü sağlar. Sitozolik pH'ın ayarlanmasında ve enzim aktivitelerinin harekete geçirilmesinde de rol oynamaktadır [25].

1.5 Bakteriyel hareketler

Bakteriyel hareketler; mikrobiyal yüzeylerde kolonizasyonda ve bakterilerin yüzey boyunca yayılmasını sağlamada önemli bir rol oynamaktadır. Bu hareketler, biyofilm oluşumunda bakterilerin yüzeyle ilişkili toplulukların yapısının oluşmasına katkı sağlamaktadır [26].

1.5.1 Kayma hareketi

Kayma; yarı katı agarlı yüzeyler gibi yapışkan çevrelerde gözlenen ve flagellaya bağlı olarak gerçekleşen bir hareket şeklidir. Kayma, hareketin çok hücreli bir tipidir ve bakteriyel sosyal davranışın bir modeli olarak düşünülmektedir. *Pseudomonas* sp., *E. coli*, *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Proteus* sp. gibi Gram (-) bakteriler bu hareketi gerçekleştirebilmektedir [27]. Kayma hareketi, hem çevresel hem de mevcut C ve N kaynaklarını içeren fizyolojik faktörlerden etkilenir. Farklı C kaynakları, sadece

biyofilm oluşum yapısını etkilemez aynı zamanda hareketliliğın hızını da etkilemektedir [28].

Kayma hareketini yapan mikroorganizmalar;

P. aeruginosa

Serratia marcescens

Salmonella enterica

Bacillus subtilis

Vibrio cholerae

Proteus mirabilis [29].

1.5.2 Yüzme hareketi

Yüzme, besin edinme ve koloni oluşturma gibi fonksiyonlara yardım etme de birçok mikroorganizmaların yaşamında tamamlayıcı bir rol oynamaktadır [30]. Bakteriyel hareketlerin en yaygın şeklidir. Bakterilerin yüzmek için geliştirdikleri flagella; özelleştirilmiş motorlar tarafından döndürölen ince helikal uzantılardır ve bu motorlar, sıvı ortamlarda hücreleri ileriye doğru sevk ederler [31].

Yüzme hareketini gerçekteştiren mikroorganizmalar;

Caulobacter crescentus

Vibrio alginolyticus

E. coli [30].

1.5.3 Titreme hareketi

Titreme hareketi, geniş çapta birçok bakterilerde görölen, Tip IV fibril veya pilusun varlığına bağılı olarak katı bir yüzeyde yer değıştirme hareketidir. Bu titreme hareketi terimi, ilk olarak 1961 yılında bilim adamı Lautrop tarafından kullanıldı [32].

Tip IV pili, bakteriyel ve arkeal yüzey yapılarının en yaygın şekillerinden birisidir. *P. aeruginosa*, pilinin yapı ve fonksiyonunun araştırılması için anahtar model sistemlerinden birisi olarak ortaya çıkmıştır [33].

Titreme hareketini yapan mikroorganizmalar

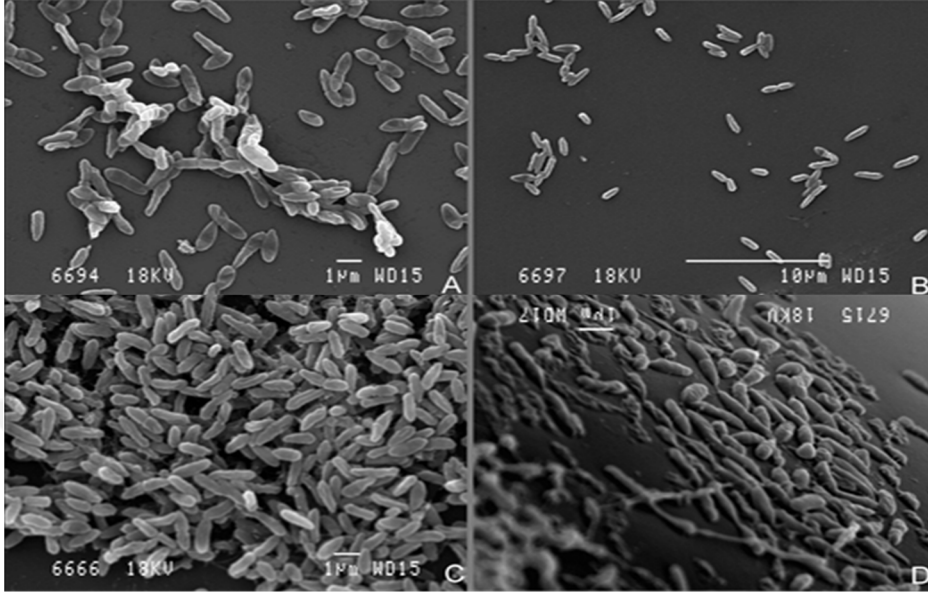
P. aeruginosa,
Neisseria gonorrhoeae,
Neisseria meningitidis ve diğer *Neisseriaceae* spp,
Moraxella species,
Dichelobacter nodosus,
Branhamella catarrhalis,
Suttonella indologenes,
Alteromonas putrefaciens,
Pasteurella multocida,
Xanthomonas maltophila,
Kingella denitrificans [32].

1.6 *P. aeruginosa*'nın genel özellikleri

Pseudomonas cinsi bakteriler, *Pseudomonadaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. Bu bakterilerin çoğu toprak ve sularda bol miktarda bulunur. Bunlardan bazı türleri insan, hayvan ve bitki patojenidir. Son derece önemli olan bu cinsin türlerinin bazılarında oksidaz (+) iken bazılarında ise (-) dir. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalayan bakterilerdir. Türlerin tamamı katalaz (+), Gram (-), aerobik, polar flagella ile hareket edebilen çubuk şekilli bakterilerdir. Bazı türleri proteolitik ve lipolitik aktivite gösterebilmektedir. Aerobik olmaları nedeniyle gıdaların yüzeyinde hızla gelişirler ve sonuçta okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Kendi gelişmeleri için gerekli olan gelişme faktörlerini ve vitaminleri sentezleyebilirler. Psikrofil, mezofil ve psikrotrof olmak üzere 3 türü bulunur [34].

P. aeruginosa; bitkilerde, hayvanlarda ve insanlarda ciddi enfeksiyonlara neden olan Gram (-) patojen bir bakteridir. Bu patojen, hastane enfeksiyonların yaygın bir etkenidir [35]. Uzunlukları çok değişik olmasının yanı sıra 1,5 - 3 µm genişliğine

sahip, bazen ikili, bazen de kısa zincirler halinde görülmektedir. Sporsuz, kapsül bulundurmayan, çubuk şeklinde, aerobik, Gram (-) bir bakteridir (Şekil 1.4). Çok hareketlidir ve çoğu kez uçlarında 1, nadiren 2 - 3 flagellaya sahiptir [36].



Şekil1.4. *P. aeruginosa*'nın elektron mikroskopta görüntüsü [37].

1.6.1 *P. aeruginosa*'nın biyokimyasal özellikleri

1. Kanlı agarda hemoliz yapabilme yeteneğine sahiptir,
2. Glikozu oksidatif yolla parçalayıp asit yapabilir. Ancak, laktoz ve sakkarozu kullanamazlar,
3. Katalaz ve sitrat reaksiyonları pozitifdir,
4. *P. aeruginosa*'yı *P. fluorescens*'den ayıran özellik; metilen mavisi rengini gidermesi,
5. Nişastaya etki edememeleridir [35].

1.6.2 *P. aeruginosa*'nın kültürel özellikleri

Uygun besiyerlerde, optimum 30-37 °C'de ve düşük alkali ortamlarda gelişmektedirler. 41 °C'de üreyebilme yeteneğine sahip olan *P. aeruginosa* için bu önemli bir özellik olmasıyla birlikte arka arkaya 3 pasajda 42 °C'de üreyebilmesi *P. fluorescens*'den ayıran önemli bir özelliktir. Sıvı besiyerinde yüzeyinde zar

yapabilecek şekilde yoğun ve homojen olarak bir üreme gösterirler ve zarın hemen altında mavi-yeşil pigmenti kolayca ayırt edilebilir. Peptonlu suda da aynı şekilde üreme gösterirler [35].

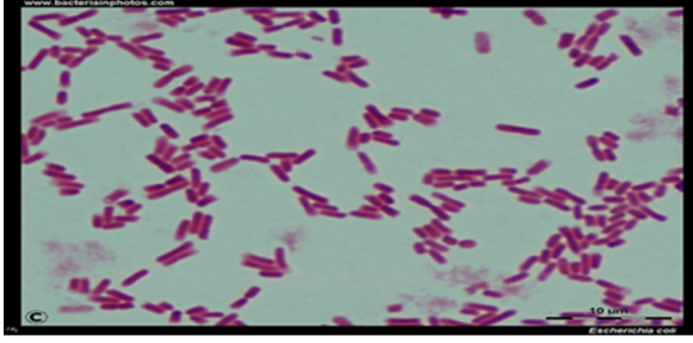
1.7 *Enterobacteriaceae*

Gram (-) bakteriler içerisinde tıp alanında oldukça önemli bir yere sahip olan ve Gram (+) bakterileri de içeren bir familya grubudur. Bu ailede yer alan bakterilerin çoğu bağırsak florasında bulunmasının yanı sıra patojen olarak da saptanabilmektedir. Bu bakterilerin birçoğu; insan ve hayvanların bağırsak dışı florasında, bitkilerde, toprakta, suda bulunur. Ayrıca patojen, kommensal ve parazit olarak da yaşayabilmektedirler [38].

1.7.1 *E. coli*

Bu bakteri, 1885 yılında Theodor Escherich adlı bir bilim adamı tarafından ishalleri süt çocuklarının dışkılarından keşfedilmiştir. 1919 yılında ise Castellani ve Chalmer adlı bilim adamları tarafından *Escherichia* cins ismi tanımlanana kadar *Bacterium coli commune* ismi ile tanınmıştır [38].

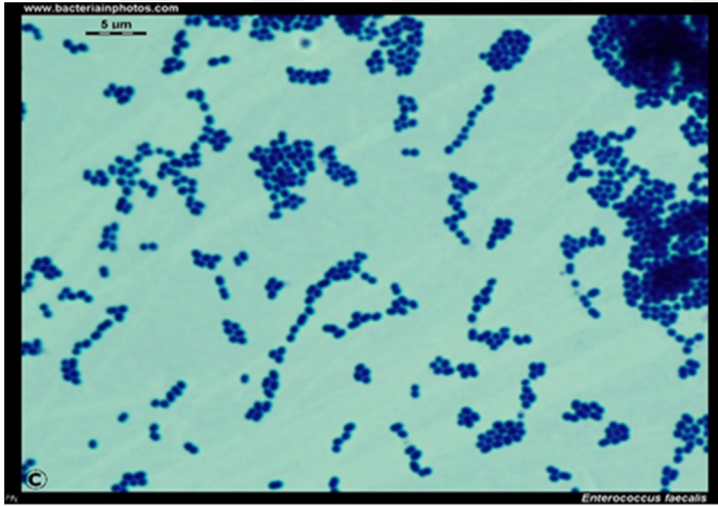
E. coli; basil şekline sahip, Gram (-), hareketli, fakültatif anaerobik bakteridir (Şekil 1.5). 44 °C'de üremesi, diğer bakterilerden (*Enterobacter* sp. ve *Serratia* sp.) ayrılmasını sağlamaktadır. Sükroz, salisin, rafinoz gibi şekerlere olan etkisi değişkenlik göstermek ile birlikte; adonitol ve inozitol'u genellikle fermente edemezler. Genellikle H₂S oluşturmazlar. Laktoza olan etkilerinden dolayı çeşitli besiyerlerde kolaylıkla üreyebilmektedirler. Isıya ve soğuğa karşı dirençlidirler [39].



Şekil 1.5. *E. coli*'nin mikroskopik görüntüsü [40].

1.7.2 *E. faecalis*

E. faecalis; Gram (+), fakültatif anaerobik, spor oluşturmeyen, hareket etmeyen, kok şekline sahip bakterilerdir (Şekil 1.6). Hastane kaynaklı enfeksiyonlarda rol oynayan en önemli bakterilerden biri olmanın yanı sıra bağışıklık sistemi zayıf olan insanlarda ölümcül enfeksiyonlara neden olabilmektedirler [41].



Şekil 1.6. *E. faecalis*'in mikroskopik görüntüsü [42].

2 KAYNAK ÖZETLERİ

Proteazlar, proteinlerin peptit bağlarının kırılmasını katalizleyen bir enzim grubudur. Deri, eczacılık, biyolojik atık arıtımında, deterjanlarda, tekstil endüstrisi gibi birçok uygulama alanlarında kullanılmaktadırlar. Mikroorganizmalar, proteazları fermentasyon tekniği ile çok kısa bir sürede, bol miktarda üretebilmektedirler [43].

K. Morihara ve H. Tsuzuki (1976); hastalardan izole edilmiş *P. aeruginosa*'nın türleri ile yarı sentetik ortamda proteaz aktivitesi üzerine bir çalışma yapmışlar ve substrat olarak kazeini seçmişler. Bu çalışmanın sonucunda *P. aeruginosa* türlerinin yarı sentetik ortamlarda proteaz aktivitesi gösterebildiğini belirtmişler [44].

A. B. Vermelho ve ark. (1996); mikroorganizmalardan ekstraselüller proteaz aktivitesi üzerine bir araştırma yapmışlar ve bu çalışmada *P. aeruginosa* ATCC 19429 suşu ile başka mikroorganizmaları kullanmışlar. Yapılan bu çalışmanın sonucuna göre; *P. aeruginosa*, jelatinli besiyerinde büyük bir zon ve net proteaz aktivitesini gerçekleştirdiğini göstermişler [45].

N. Mahanta ve ark. (2007); katı hal fermentasyonda *P. aeruginosa* PseA suşunun proteaz üretimi ile ilgili bir çalışma yapmışlar. Substrat olarak “kazein” kullanmışlar ve hazırlanan solüsyonu 37 °C’de 20 dk boyunca inkübe etmişler. Daha sonra 280 nm’de absorbans ölçmüşler ve bu çalışmanın sonucunda bu ortamda önemli ölçüde proteaz aktivitesinin olduğunu belirtmişler [46].

M. Demir ve ark. (2008); alt solunum yolu ve solunum dışı örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında proteaz aktivitesi ile ilgili bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada ise pozitif kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* PAO1’i kullanarak “skim milk agar”da proteaz aktivitesini araştırmışlar. Plakları ise 25 °C’de 18 saat inkübe etmişler. Bu çalışmanın sonucunda proteaz aktivitesini (+) olarak yorumlamışlar [47].

L. I. Zivkovic ve ark. (2010); *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşundan proteaz aktivitesi üzerine bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada substrat olarak % 0,6’lık “Hammersten kazein” solüsyonunu kullanmışlar ve 30 °C’de inkübe etmişler. Sonuç

olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun proteaz aktivitesine sahip olduğunu göstermişler [48].

M. P. Rodarte ve ark. (2011); bakterilerdeki proteaz aktivitesi hakkında bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada farklı türlerde bakteriler kullanmışlar ve substrat olarak “kazein” kullanmışlar. % 0,5 kazein içeren petriler pH 7’de 28 °C’de 7-8 gün boyunca inkübe edilmiştir. En yüksek enzim aktivitesine sahip olan bakteriler; *B. subtilis* 333 (27.1 U/ml), *Tatumella ptyseos* (27 U/ml) ve *B. megaterium* 817 (26.2 U/ml) aktivite bulmuşlar [49].

H. S. Alnahdi (2012); *Bacillus* türlerinden ekstraselüler proteaz üretimi ile ilgili bir araştırma yapmıştır. Bu çalışmada “skim milk agar” ve “jelatin” ortamlı besiyerleri kullanmıştır. Proteolitik aktivite testi için jelatin agarın skim milk agardan daha iyi olduğunu göstermiştir. En yüksek ekstraselüler enzim aktivitesi 243 U/ml, en düşük ise 55 U/ml bulmuştur [50].

G. S. Smita ve ark. (2012); bakteriyel izolatlardan alkalın proteazın üretilmesi ile ilgili başka bir çalışma yapmışlar. Substrat olarak kazeini kullanmışlar ve besiyeri ortamı olarak “skim milk agar”ı seçmişler. Farklı sıcaklık ve pH aralıklarında proteaz üretimini belirlemişler ve bu çalışmada toplam 32 farklı bakteri izolatları kullanmışlar. Bunlardan 18 tanesinin alkalın proteaz aktivitesi gösterdiğini bulmuşlar [51].

P. Wilson ve Z. Remigio (2012); termofilik bakterilerin proteaz aktivitesini incelemek üzere bir araştırma yapmışlar. Bu çalışmada termofilik bir bakteriden izole edilen EP1001 suşunu ve substrat olarak da % 0,5’lik azo-kazeini kullanmışlar. Spesifik proteaz aktivitesini en yüksek 1,58 (U/ml/ OD₆₀₀), en düşük ise 0,52 (U/ml/OD₆₀₀) olarak belirlemişler [17].

A. J. Saleem (2012); hastalardan izole edilmiş olan *P. aeruginosa*’dan alkalın proteaz aktivitesiyle ilgili bir çalışma yapmıştır. Burada “skim milk agar” kullanılarak proteolitik aktiviteyi araştırmıştır. “Kazein broth” kullanarak alkalın proteaz üretimini gözlemlemiştir. Bakteriler 37 °C’de üretilmiştir. En yüksek enzim aktivitesini 54 saat sonra 133,4 U/ml olarak belirtmiştir [52].

N. Tekin ve ark. (2012); *Bacillus cohnii* APT5 suşunda alkalın proteaz üretimi ile ilgili bir çalışma yapmışlar. Kazein içeren bir ortamda pH 11 ve 50 °C'de ekstraselüler proteaz üretiminin optimal aktivitesini 693,318 U/dk olarak göstermişler [16].

J. Vinoth ve ark. (2014); balık atıklı topraklardan izole edilmiş *Pseudomonas fluorescens*'in alkalın proteaz aktivitesi optimasyonu üzerine bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada proteaz üretimi için maya özütü-kazein içerikli bir besiyeri kullanmışlar ve bakterileri bu ortamda 37 °C'de gece boyu çalkalamalı inkübatörde inkübe etmişler. Sonuç olarak maksimum proteaz aktivitesine pH 9'da *P. fluorescens*'te 0,9343 U/ml/dk bulmuşlar [53].

Hareket, bakterilerin yaşam döngüsünde önemli bir anahtar olarak rol oynamaktadır. Ayrıca biyofilm oluşumunda ve yayılmasında, kemotaksis ve virülans için gereklidir [54].

P. aeruginosa, geniş çapta sulu ve toprak gibi çevrelerde yaşayan Gram (-), patojen bir bakteridir. Yüzme, kayma ve titreme olmak üzere 3 hareketi yapabilme yeteneğine sahiptir. Yüzme hareketini flagellaya bağlı gerçekleştirirken, titreme hareketini ise Tip IV pili ile gerçekleştirir. Kayma hareketini ise flagella ile ya da Tip IV pili ile gerçekleştirir. Kayma hareketi *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis* ve *Serratia marcescens* gibi türlerle çalışılmasına rağmen; son zamanlarda ağırlıklı olarak *P. aeruginosa* ile çalışılmaya başlanmıştır [55].

J. Tremblay ve E. Déziel (2008); *P. aeruginosa*'nın kayma hareketi üzerine bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada *P. aeruginosa* PA14 ve *P. aeruginosa* PAO1 suşları kullanılmıştır. Bakterileri, 37 °C'de TSB'li ortamda üretmişler. M9 içerikli besiyerlerini kullanmışlar. Sonuç olarak ta *P. aeruginosa* % 0,5'lik agarlı ortamda rahat bir şekilde kayma hareketini gerçekleştirebildiğini fakat agarın % dilimi arttıkça bakterinin hareket etmesinde bir azalış olduğunu göstermişler [56].

J. M. Swiecickia ve ark. (2013); 2 boyutlu yüzeylerde *E. coli*'nin yüzmeden kaymaya doğru bir harekete yönelimi ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada *E. coli*

HCB437 suşu kullanmışlar. Bakteri 37 °C LB’de üretilmiş ve yapılan çalışma sonucunda *E. coli* HCB437 suşunun hem kayma hem de sıvı ortamda yüzebildiğini göstermişler [57].

S. M. Vater ve ark. (2014); *P. aeruginosa*’nın yüzme hareketi ile ilgili bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada *P. aeruginosa*’nın farklı suşları kullanılmıştır. Yarı-katı agarlı M9 içerikli besiyerini hazırlamışlar. İlk olarak bakteriler taze LB ortamında 37 °C’de 2 saat inkübe etmişler ve daha sonra yarı katı agarlı besiyerinin ortasına 10 µl bakterileri ekleyerek 48 saat 37 °C’de inkübe etmişler. Bu çalışmanın sonucunda *P. aeruginosa* türlerinin yüzme hareketi yapabildiğini göstermişler [53].

A. B. T. Semmler ve ark. (1999); *P. aeruginosa*’nın titreme hareketi ile ilgili bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada *P. aeruginosa* türleri kullanılmış ve bakteriler % 1,5 agar içeren LB ortamında 30 °C veya da 37 °C’de inkübe edilmiş. Bu çalışmanın sonucunda ise ışık mikroskobu ile *P. aeruginosa*’nın yaptığı titreme hareketinin morfolojik görüntüsünü incelemişler. Çaplarının ölçümünü yaptıklarında ise 0,5-0,6 mm bulmuşlar [58].

G. A. O’Toole ve R. Kolter (1998); *P. aeruginosa*’nın biyofilm gelişmesi için flagella ve titreme hareketinin gerekli olduğu ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada *P. aeruginosa* PA14 mutantlarını kullanmışlar. Titreme hareketi için; bakteriler % 1,5 agarlı LB’de 37 °C’de gece boyunca inkübe edilmiş ve bu çalışmanın sonucunda bakterilerde titreme hareketinin biyofilm oluşumu ile ilişkili olduğunu ve de titreme hareketinde Tip IV pilinin önemli olduğunu göstermişler [59].

R. M. Miller ve ark. (2008); *P. aeruginosa*’nın titreme hareketi ile ilgili bir araştırma yapmışlar ve bu çalışmada *P. aeruginosa* ile *E. coli* kullanmışlar. Titreme hareketi; Bakterileri bir gün önce LB’de 37 °C’de üretmişler ve daha sonra bu hareket için hazırlanmış olan besiyerine bakterilerin ekimini yaparak 25 °C’de gece boyu inkübe etmişler. Çalışmanın sonucunda ise *P. aeruginosa* suşlarının titreme hareketini Tip IV pili ile yapabildiğini göstermişler [60].

L. R. R. Perez ve ark. (2011); kistik fibrozis hastalarından ve hasta olmayanlardan izole edilmiş *P. aeruginosa*'nın biyofilmin gelişimi ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada toplam 74 *P. aeruginosa* suşunu kullanmışlar. Çalışmanın sonucunda biyofilm üretenler ve üretemeyenler şeklinde gruplara ayırmışlar ve biyofilmin değerlerini OD₄₅₀'de okumuşlar. Kistik fibrozis hastasından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının biyofilm üretebilme kapasitesine sahip olduklarını belirtmişler [61].

E. Mataracı ve A. A. Gerçeker (2011); çeşitli dezenfektanların minimum bakterisidal konsantrasyonlarının *P. aeruginosa*'nın biyofilm kültürlerine karşı araştırılması adı başlığı altında bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada *P. aeruginosa* ATCC 15442 suşunu kullanmışlar ve yapılan bu çalışmanın sonucunda dezenfektanların biyofilm oluşturma üzerinde bir etki oluşturduğunu ifade etmişler [62].

K. Wolska ve ark. (2014); sığır ve diğer kaynaklardan (insan ve çevre) izole edilmiş *P. aeruginosa* türleri ile hareket aktivitesi (yüzme ve titreme) ve biyofilm oluşumu ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada toplam 28 *P. aeruginosa* türü kullanmışlar. Biyofilm oluşumunda O'Toole ve Kolter'in protokolünü kullanmışlar ve deneyin sonucunda OD₄₅₀'de absorbanslarını okuyarak değerlendirme yapmışlar. Titreme testinde; hücreleri % 1 agarlı LB besiyerinde 30 °C ve 24 saat inkübe etmişler. Yüzme testinde; hücreleri % 1 Triptonlu besiyerinde 26 °C ve 24 saat inkübe etmişler. Referans olarak *P. aeruginosa* ATCC27853 ve NCTC 6749 suşlarını tercih etmişler. Bu çalışmanın sonucunda ise çeşitli kaynaklardan izole edilmiş bu farklı suşların referans olarak kullanılan suşlardan daha iyi yüzme hareketine sahip olduğunu belirtmişler. Titreme hareketinin ve biyofilm oluşumu arasında bağlantı olduğunu göstermişler [63].

E. Deziel, Y. Comeau ve R. Villemur, (2001); *P. aeruginosa* 57RP suşu ile bakteriyel hareketler (kayma, yüzme, titreme) ve biyofilm oluşumu ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bakterileri 37 °C'de LB ortamda gece boyu üretmişler. Yüzme hareketinde; % 1 Triptonlu besiyerini 25 °C'de 16 saat inkübe etmişler. Titreme hareketinde; % 1'li agar içeren besiyerini 30 °C'de 24-48 saatlerde inkübe etmişler. Kayma hareketinde; % 0,5 Bacto agarlı besiyerini 30 °C'de 24 saat inkübe etmişler.

Biyofilm oluşumunu O'Toole ve Kolter'in protokolüne göre uygulamışlar ve OD₆₀₀'de absorbanlarını okumuşlar. Bu çalışmanın sonucuna göre; *P. aeruginosa* 57RP'nin yüzme, titreme ve kayma hareketlerini gerçekleştirebildiğini ve biyofilm oluşturabildiğini belirtmişler [64].

S. Chow ve ark. (2011); salisilik asidin bakteriyel hareketler (kayma, yüzme ve titreme) üzerinde ve biyofilm oluşumunda oluşturduğu etki ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada farklı *P. aeruginosa* mutantları kullanmışlar ve ortama inhibitör olarak 25 ve 50 mM salisilik asit koyarak değerlendirmeler yapılmıştır. Bakteriyel hareketler de salisilik asit miktarını arttırdıkça mutantların hareket etmelerinde bir azalış olduğunu gözlemlenmiştir. Aynı şekilde biyofilm oluşumunu da olumsuz yönde etkilediğini belirtmişler [65].

M. Klausen ve ark. (2003); *P. aeruginosa*'nın yabanıl tip mutantların sahip olduğu flagella ve Tip IV pili ile biyofilm oluşturmalarıyla ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada *P. aeruginosa* PAO1 mutantlarını kullanmışlar. Bu çalışmada *P. aeruginosa*'nın flagella ve Tip IV pili ile bağımsız olarak biyofilm oluşturabildiğini belirtmişler. Ayrıca biyofilm oluşumunda titreme hareketinin önemli bir rol oynadığını da göstermişler [66].

I. Fidan ve ark. (2005); koagülaz negatif *Stafilococcus* (KNS) suşlarında biyofilm oluşumu ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada klinik örneklerden izole edilmiş 50 tane KNS suşları kullanmışlar. Adezyon testi için Christensen tarafından tanımlanan kalitatif tüp metodu ve kantitasyon için de spektrofotometrik mikroplyt yöntemini kullanmışlar. Bu deneyin sonucunda ise 50 KNS suşunun 30'unda (% 60) tüp metodu ile biyofilm oluşumunu belirlemişler. Tüp yöntemiyle biyofilm oluşturduğu belirlenen OD₅₇₀ değeri 0,095-1,2 arasında iken, tüp yöntemiyle biyofilm oluşturmadağı belirlenen suşların OD₅₇₀ değeri 0,05-0,08 arasında olduğunu tespit etmişler [67].

E. Banin ve ark. (2005); *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumu ile ilgili bir çalışma yapmışlar ve bu çalışmada yabanıl tip türü olarak *P. aeruginosa* PAO1 suşu kullanmışlar. Ayrıca bu çalışmada ek olarak titreme hareketini de incelemişler. Bu

çalışma *P. aeruginosa* PAO1 suşunun biyofilm oluşturabildiği ve titreme hareketini gerçekleştirebildiğini göstermişler [68].

A. Kannan ve P. Gautam, (2015); *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşturabilme aktivitesinin nicel olarak incelenmesi ile ilgili bir çalışma yapılmış ve bu çalışmada *P. aeruginosa* MTCC 2297 suşunu kullanmıştır. Bunun yanı sıra biyofilm oluşumunu farklı sıcaklıklarda (28, 33, 37 ve 42 °C), M9 (minimal ortam)'da incelemişler ve OD₅₉₀'da absorbanslarını okuyarak değerlendirme yapmışlar. Bu çalışmanın sonucuna göre; *P. aeruginosa* 37 °C'de en uygun ve yüksek değerde biyofilm oluşturabilmekte olduğu gösterilmiştir. *P. aeruginosa*'nın maksimum biyofilm aktivitesini 2,80 olarak bulmuşlar [69].

Prolinin, bitkilerde osmoregülasyonda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca imino asitlerin birikimi, çevresel şartların aksine genel bir adaptasyonun parçası olabilir. Solmuş bitki dokularında prolinin birikmesi, ilk olarak (1954) Kemble ve MacPherson'un çavdarlarla ilgili çalışmasında gözlenmiştir. Ashton J. Delauney ve Desh Pal S. Verma (1993); prolin biyosentezi ve bitkilerde osmoregülasyon başlığı adı altında bir çalışma yapmıştır. Prolin biyosentezi için ornitin ve glutamat biyosentetik yollarını kullanmıştır. Prolin, bakterilerde güçlü bir ozmatik basınç koruyucusu olarak gösterilmiş ve osmotolerans arttığında prolin üreten *E. coli* mutantları, besi ortamında net olarak ortaya çıkar. Bu gözlemler, bitkilerde prolin birikiminin, osmotik streslerin etkisizleştirilmesinde direk olarak rol oynadığı fikrini vermektedir [70].

R. V. Krishna ve ark. (1979); *P. aeruginosa*'da prolin biyosentezi ile ilgili bir çalışma yapmıştır ve bu çalışmada *P. aeruginosa* PAO1 suşunu kullanmıştır. 1-prolin-5-karboksilat, prolinin metabolizmasında önemli bir anahtar olarak rol oynamaktadır. Bu çalışmada γ -glutamik fosfat redüktaz ve 1-prolin-5-karboksilat redüktaz enzimleri kullanılmıştır. Bu enzimlerin *P. aeruginosa*'nın prolin biyosentezinde önemli bir yere sahip olduğunu belirtmişler [71].

L. Meile ve ark. (1982); *P. aeruginosa* PAO suşunda prolin katabolizmasının düzenlenmesi ile ilgili bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada ortam olarak ise fosfat, minimal ortam ve Nutrient Yeast Broth ortamını seçmişlerdir. Sınırlanmış prolin

altında yetiştirilen hücreleri fed- batch metodu ile üretilmiştir. Bu çalışma ile prolinin oluşumunda parçalayıcı enzimlerin sitrat ve azotun katabolit baskıya bağlı olduğunu göstermişler [72].

B. Faiza ve ark. (2011); devenin sütünden izole edilmiş 2 *Lactobacillus* türünden prolin ile ozmoregülatör ve tuz stresine fiziksel cevaplarla ilgili bir çalışma yapmıştır. *Lactococcus* türü M17 ortamında 30 °C’de üretmişler ve ozmoregülatör olarak da prolin kullanılmıştır. Prolin miktarlarını 40, 50, 60, 70 veya da 100 mM olacak şekilde belirlemişler. Daha sonra 30 °C’de 72 saat inkübe etmişler ve OD₆₀₀’de absorbanlarını ölçerek optimum prolin miktarına karar verilmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda ise en yüksek bakteriyel üretiminin 70 mM’lık prolin içeren ortamda gözlemlendiğini belirtmişler [73].

V. J. Dominic ve T. Jithin (2012); *Oryza sativa* bitkisinin prolin biyosentezinde NaCl ve borun toksik etkileri üzerine bir araştırma yapmışlar. Bu çalışmada kullanılan prolin konsantrasyonunu Bates’in metoduna göre belirlemişler. Çalışmanın sonucunda bu kimyasalların belirli sürelerde prolin aktivitesini azalttığını göstererek stres ortamlarında bitkilerde prolinin osmoregülatör olarak rol oynadığını belirtmişler [74].

3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Araştırmada kullanılan kimyasallar

Bakteriyel pepton, Yeast Extract, agar, KCl, NaCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄, Ethanol, Asetik asit, Kristal viyole, ninhidrin, Fosforik asit, Benzen, Kazein, Brain Heart Diffision Broth, Folin, Skim milk broth, Glikoz, NaOH, SDS, Tris HCl, EDTA, Trypton, Nutrient Broth, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄.2H₂O, TCA, Na₂CO₃

3.2 Araştırmada Kullanılan Bakteriler ve Saklanma Koşulları

1. *E. coli* (ATCC 20715)
2. *P. aeruginosa* (ATCC 27853)
3. *E. faecalis* (ATCC 25539)

Çalışmalarımızda kullandığımız bu bakteriler, 20 gün aralıklar ile LB plaklarına öze ile pasajlama yapılarak 24 saat, gece boyu, 37 °C’de etüvde üretilmiştir. Ertesi gün plaklar etüvden çıkarılarak + 4 °C’de saklanmıştır.

3.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri

Deneylerimizde kullandığımız besiyerleri ve içerikleri; isimleri ve standart miktarları ile Çizelge.1’de verilmiştir.

Çizelge.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri.

BESİYERLER	GRAM/ LİTRE
LB	10 gr Bacterial pepton 10 gr NaCl 5 gr Yeast extract % 1.5 Agar
Kayma testi	8 gr Nutrient Broth 5 gr Glikoz 5 gr Agar
Yüzme testi	10 gr Tripton 5 gr NaCl 3 gr Agar
Titreme testi	10 gr Tripton 5 gr Yeast extract 5 gr NaCl 10 gr agar

3.4 Çalışmada kullanılan tuz

Çalışmalarımızda stres kaynağı oluşturmak amacıyla KCl kullanılmıştır. KCl, doğada kendiliğinden bulunmaz. KCl besiyerlerine steril edildikten sonra besi ortamında toplam 100 mM olacak şekilde eklenmiştir.

3.5 Proteaz ve prolin kültür koşulları

P. aeruginosa, *E. coli* ve *E. faecalis*, bir gece boyunca yukarıdaki tabloda içerikleri belirtilen LB (Luria Bertani) besiyerinde, 37 °C’de statik, 100 ve 200 rpm çalkalamalı koşullarda üretildi. Ertesi gün bu kültürlerin OD₆₀₀ değerleri okundu ve 0,5’ten fazla çıkan değerler sulandırılarak yaklaşık 0,3-0,4 değerler arası elde edildi. Yukarıdaki tabloda içerikleri belirtilen LB besiyerine 100 µl kültür ekimi yapılarak aynı şekilde 18 saat olacak şekilde 30 °C ve 37 °C’de statik, 100 ve 200 rpm

çalkalamalı koşullarda inkübasyona konulmuştur. Çalışma 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

3.6 Hareket testleri

3.6.1 Kayma hareketi

P. aeruginosa, *E. coli* ve *E. faecalis*, yukarıdaki tabloda içerikleri belirtilen LB besiyerinde 24 saat gece boyu 37 °C'de üretilmiştir. Çizelge 1.'de içerikleri belirtilen kayma besiyeri petrilere, bu LB besiyerinde üretilen kültürlerden yaklaşık 2 µl eklenerek ekimi yapılan bu kültürler, 37 °C'de 16-18 saat boyunca inkübe edilmiş ve kayma hareketinin sonucu, ekimin yapıldığı noktadan çevreye doğru yayılmanın çapının ölçülmesiyle ve fotoğraflarının çekilmesiyle belirlenmiştir [75].

3.6.2 Yüzme hareketi

P. aeruginosa, *E. coli* ve *E. faecalis*, LB besiyerinde 24 saat gece boyu 30 °C'de üretildi. Çizelge 1.'de içerikleri belirtilen yüzme besiyeri petrilere, bu LB besiyerinde üretilen kültürlerden yaklaşık 2 µl eklenerek ekimi yapılan bu kültürler, 25 °C'de 16-18 saat inkübe edilmiş ve yüzme hareketinin sonucu, ekimin yapıldığı noktadan çevreye doğru yayılmanın çapının ölçülmesiyle ve fotoğraflarının çekilmesiyle belirlenmiştir [65].

3.6.3 Titreme hareketi

P. aeruginosa, *E. coli* ve *E. faecalis*, 30 °C'de LB besiyerinde üretilmiştir. Çizelge 1.'de içerikleri belirtilen titreme besiyeri petrilere, bu LB besiyerinde üretilen kültürlerden yaklaşık 2 µl eklenerek ekimi yapılan bu kültürler, 30 °C ve 37 °C'de 16-18 saat inkübe edilmiş ve titreme hareketinin sonucu, ekimin yapıldığı noktadan çevreye doğru yayılmanın çapının ölçülmesiyle ve fotoğraflarının çekilmesiyle belirlenmiştir [65].

3.7 Biyofilm kinetiği yöntemi

- *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *E. faecalis*'ten öze ile ekimleri yapılarak 37 °C'de 24 saat gece boyu inkübasyona bırakıldı,
- Tüplerin içindeki LB sıvı besiyeri boşaltıldı,
- Boşaltılan tüpler 4 kez PBS tamponu (8,0 gr/L NaCl; 0,2 gr/L KCl; 1,44 gr/L Na₂HPO₄; 0,24 gr/L KH₂ PO₄) ile yıkandı,
- % 99'luk etanol eklenerek 15 dk oda sıcaklığında bekletildi,
- Daha sonra tüplere 5 ml % 1 kristal viyole eklenerek 20 dk oda sıcaklığında bekletildi,
- Tüp içerikleri tekrar boşaltıldı,
- Daha sonra tüpler dH₂O ile yıkandı,
- Tüplere 5 ml % 33'lük asetik asit konularak 30 dk oda sıcaklığında bekletildi,
- Spektrofotometrede OD_{570 nm}' de köre karşı okumaları yapıldı,
- Aynı yöntem 30°C ve 100 mM KCl'li besi ortamları içinde yapılmıştır [76].

3.8 Proteaz aktivite yöntemi

- *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *E. faecalis*'ten öze ile ekimleri yapılarak 37 °C'de 24 saat gece boyu inkübasyona bırakıldı,
- Ependorf tüplerine 1 ml gece boyu kültürlerden konuldu,
- 14.000 rpm 20 dk oda koşullarında santrifüj yapıldı,
- Tüplere 250 µl Kazein ve 50 µl süpernatant solüsyonu eklendi,
- Köre önceden 250 µl TCA eklendi,
- 37 °C 15 dk çalkalama yapıldı,
- Daha sonra diğer tüm tüplere de 250 µl TCA eklenerek reaksiyon durduruldu,
- Karışımlar yeni ependorf tüplerine alınarak tekrar 14.000 rpm 20 dk oda koşullarında santrifüj edildi,
- Yeni tüplere 250 µl örnek ve 750 µl Na₂CO₃ eklendi,
- 37 °C 15 dk çalkalama yapıldı,
- Tüm tüplere 250 µl Folin (1/4 oranında sulandırım yapılarak) eklendi,
- 37 °C 30 dk çalkalama yapıldı,

- Spektrofotometrede OD₆₆₀ nm' de köre karşı okumalar yapıldı,
- Aynı yöntem 30 °C ve 100 mM KCl 'li besi ortamları içinde yapılmıştır [77-78].

Kazeinden salınan tirozinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

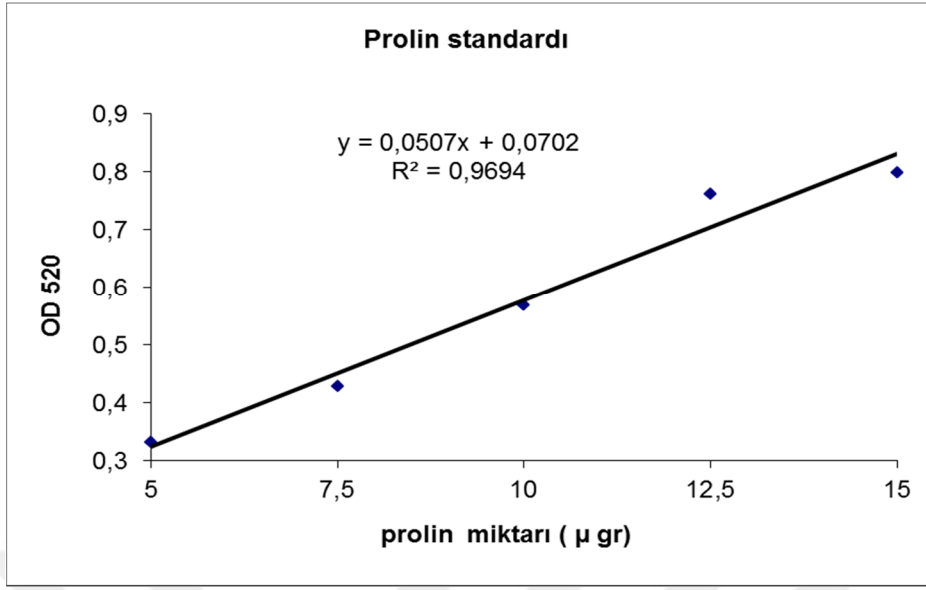
$$\epsilon = (\Delta A^\circ / dk.) / 0,6896$$

(1 dk'da pH 7'de, 37 °C'de kazeinden 1µmol/ml tirozin oluşturan enzim miktarı, 1 Unite olarak ifade edilmiştir).

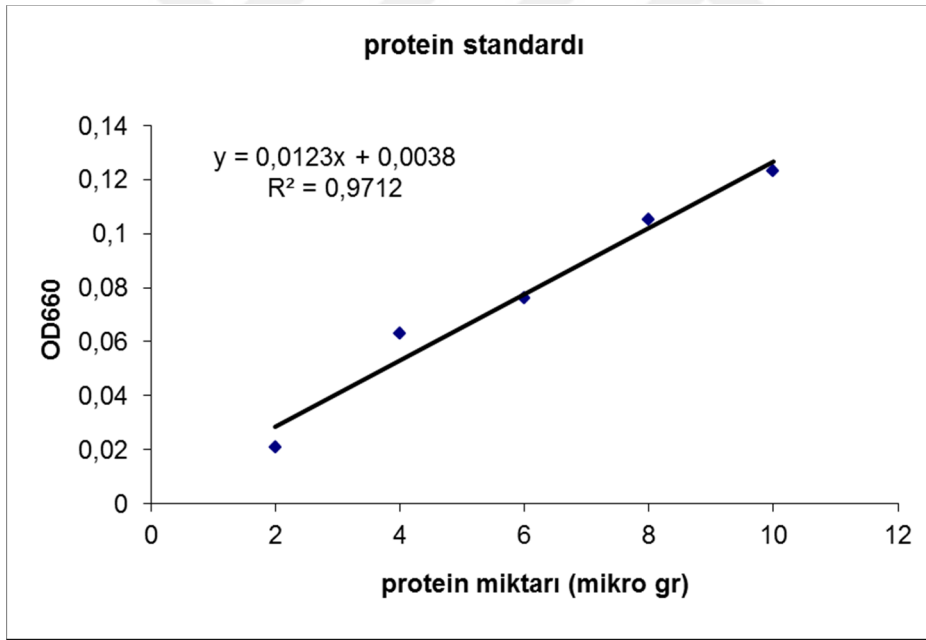
3.9 Prolin yöntemi

- P. aeruginosa*, *E. coli* ve *E. faecalis*'ten öze ile ekimleri yapılarak 37 °C'de 24 saat, gece boyunca inkübasyona bırakıldı,
- Ependorf tüplerine 1 ml kültürler gece boyunca konuldu,
- 14.000 rpm 20 dk oda koşullarında santrifüj yapıldı,
- Daha sonra tüplerin sıvı kısmı döküldü,
- Üzerine 100 µl GTE (50 mM Glikoz + 25 mM Tris HCl + 10 mM EDTA) solüsyonu konularak oda koşullarında 1dk bekletildi,
- Üzerine 200 µl Lizis (0,2 M NaOH + % 1 SDS) solüsyonu eklenerek oda koşullarında 5 dk bekletildi,
- Üzerine 500 µl asidik ninhidrin (4 ml 6 M fosforik asit + 6 ml Asetik asit + 0,25 gr ninhidrin) eklendi ve tüpler 30 dk kaynar suda bekletildi,
- Akan musluk suyunda tüpler soğutuldu,
- Daha sonra bu karışım yeni tüplere alındı ve üzerlerine 2 ml benzen eklenerek vortekslendi,
- 1 saat oda sıcaklığında bekletildi,
- Tüplerde oluşan iki fazdan üst faz pipetle alınarak yeni tüplere konuldu,
- Spektrofotometrede OD₅₂₀ nm'de köre karşı okumalar yapılmıştır [79].

Şekil 3. 1 Prolin ve proteaz aktivitelerinin standart grafikleri.



a) Prolin standardı.

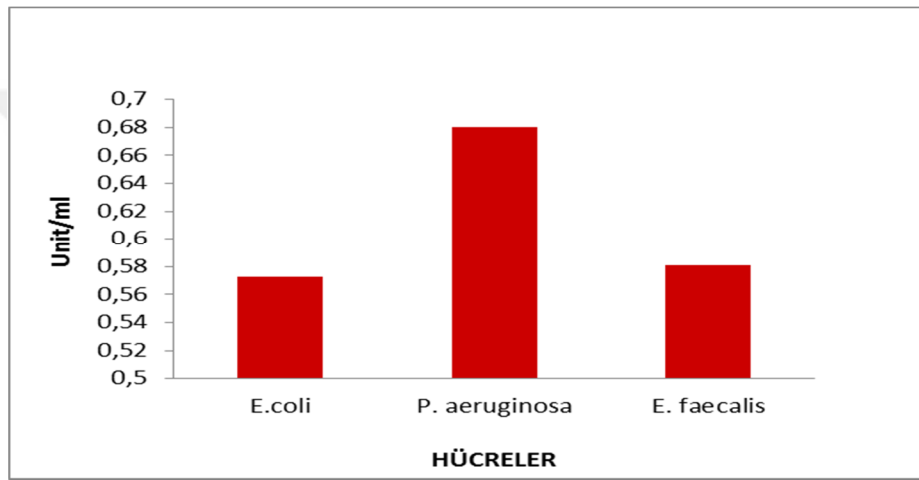


b) Proteaz standardı.

4 ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Bakterilerin statik 30 °C’de proteaz üretimi

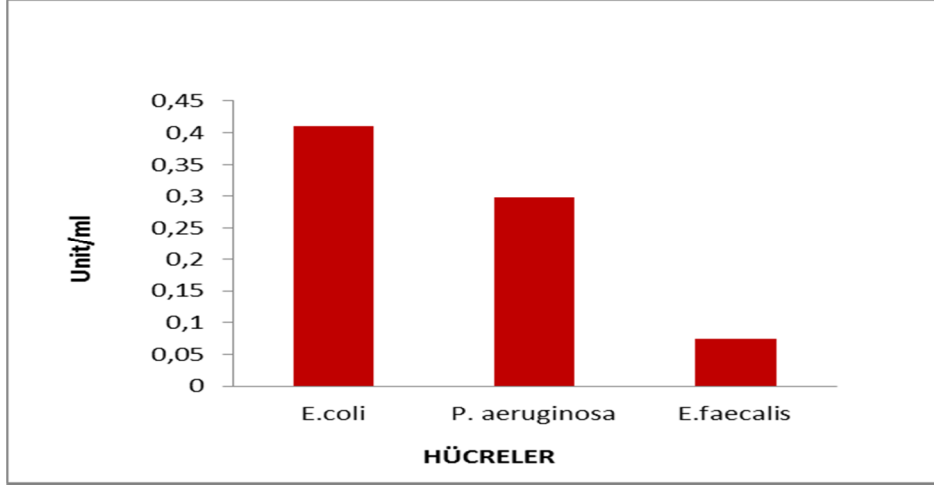
Hücreler LB ortamında 30 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,5727; U/ml; *P. aeruginosa*, 0,6801; U/ml, *E. faecalis*, 0,5805 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Bakterilerin statik 30 °C’de proteaz üretimi.

4.1.1 Bakterilerin statik 37 °C’de proteaz üretimi

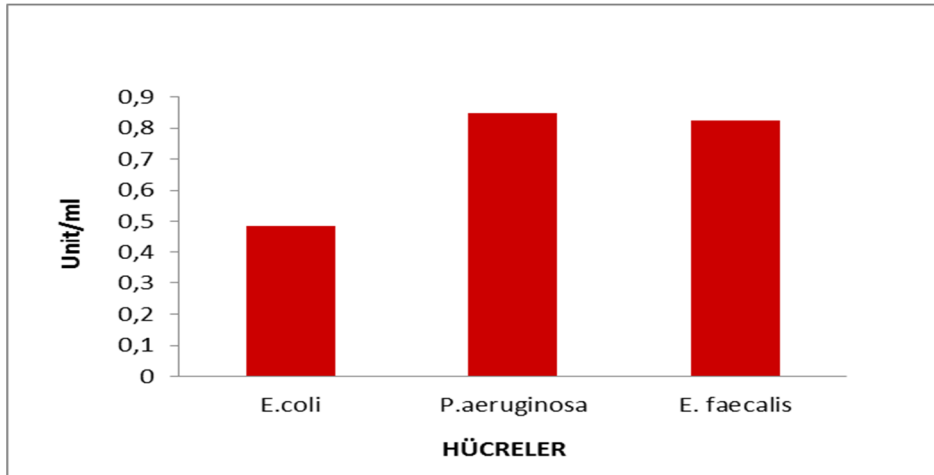
Hücreler LB ortamında 37 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,4102 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,2976 U/ml; *E. faecalis*, 0,0749 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. coli* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Bakterilerin statik 37 °C’de proteaz üretimi.

4.1.2 Bakterilerin 30 °C 100 rpm’de proteaz üretimi

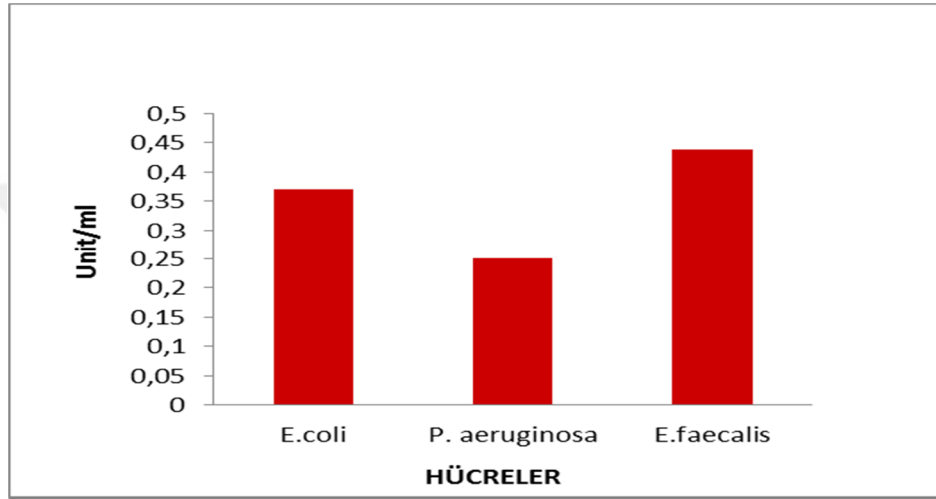
Hücreler LB ortamında 30 °C 100 rpm’de üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,4862 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,8478 U/ml; *E. faecalis*, 0,8242 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Bakterilerin 30 °C 100 rpm’de proteaz üretimi.

4.1.3 Bakterilerin 37 °C 100 rpm’de proteaz üretimi

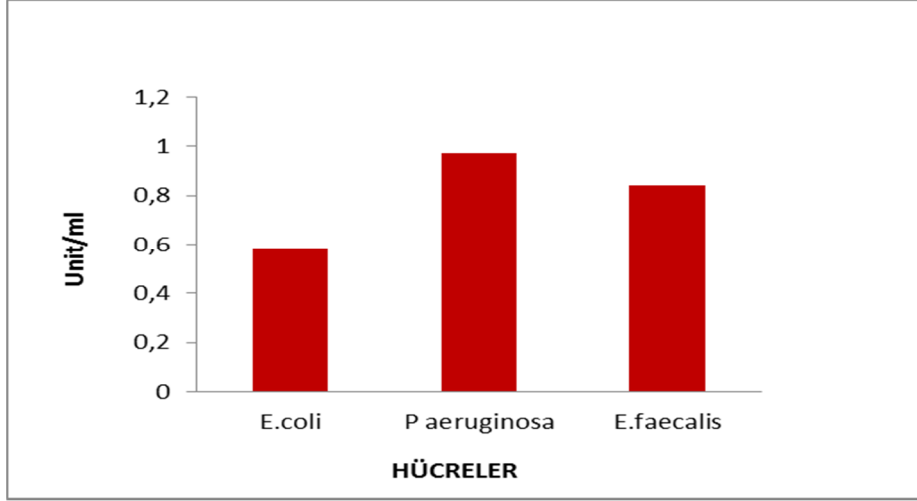
Hücreler LB ortamında 37 °C 100 rpm’de üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,3709 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,2504 U/ml; *E. faecalis*, 0,439 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *P. aeruginosa* göstermiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Bakterilerin 37 °C 100 rpm’de proteaz üretimi.

4.1.4 Bakterilerin 30 °C 200 rpm’de proteaz üretimi

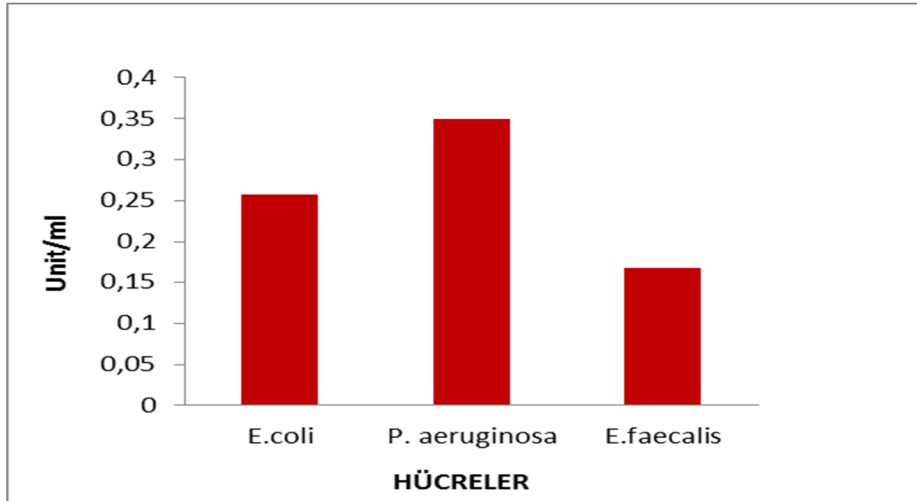
Hücreler LB ortamında 30 °C 200 rpm’de üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,5858 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,9709 U/ml; *E. faecalis*, 0,8425 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Bakterilerin 30 °C 200 rpm proteaz üretimi.

4.1.5 Bakterilerin 37 °C 200 rpm’de proteaz üretimi

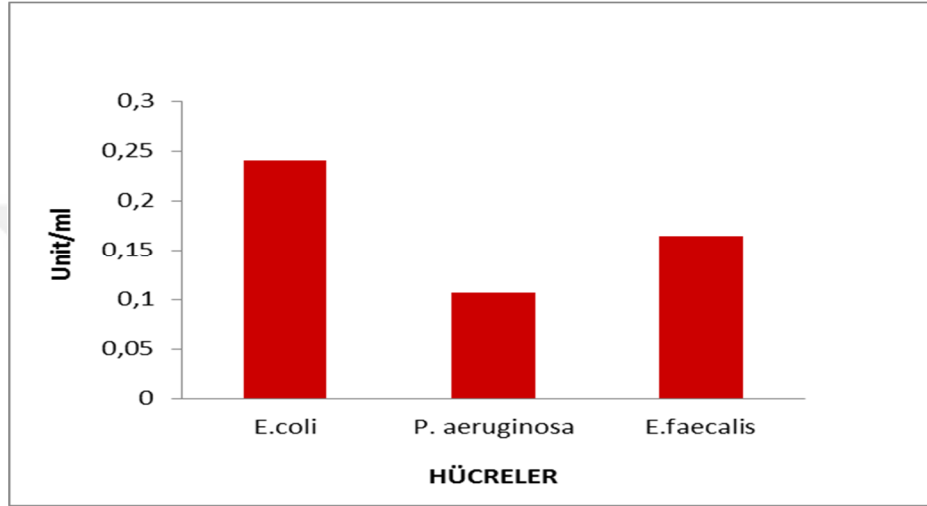
Hücreler LB ortamında 37 °C 200 rpm’de üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,2583 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,35 U/ml; *E. faecalis*, 0,1666 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Bakterilerin 37 °C 200 rpm’de proteaz üretimi.

4.1.6 Bakterilerin KCl statik 30 °C’de proteaz üretimi

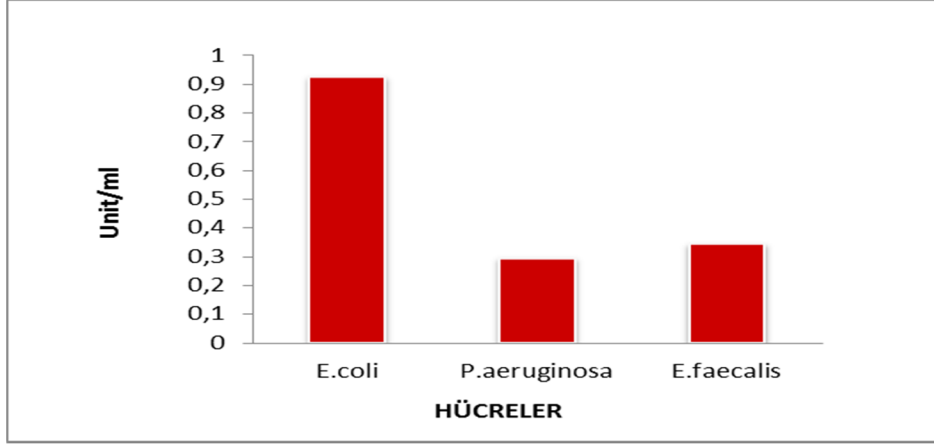
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,2399 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,1063 U/ml; *E. faecalis*, 0,164 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. coli* gösterirken en düşük ise *P. aeruginosa* göstermiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Bakterilerin KCl statik 30 °C’de proteaz üretimi.

4.1.7 Bakterilerin KCl statik 37 °C’de proteaz üretimi

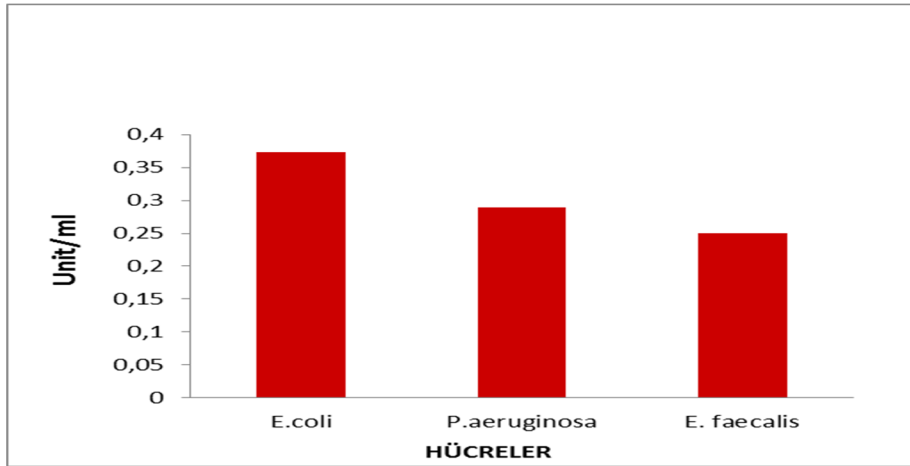
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,9237 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,295 U/ml; *E. faecalis*, 0,3447 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. coli* gösterirken en düşük ise *P. aeruginosa* göstermiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Bakterilerin KCl statik 37 °C'de proteaz üretimi.

4.1.8 Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de proteaz üretimi

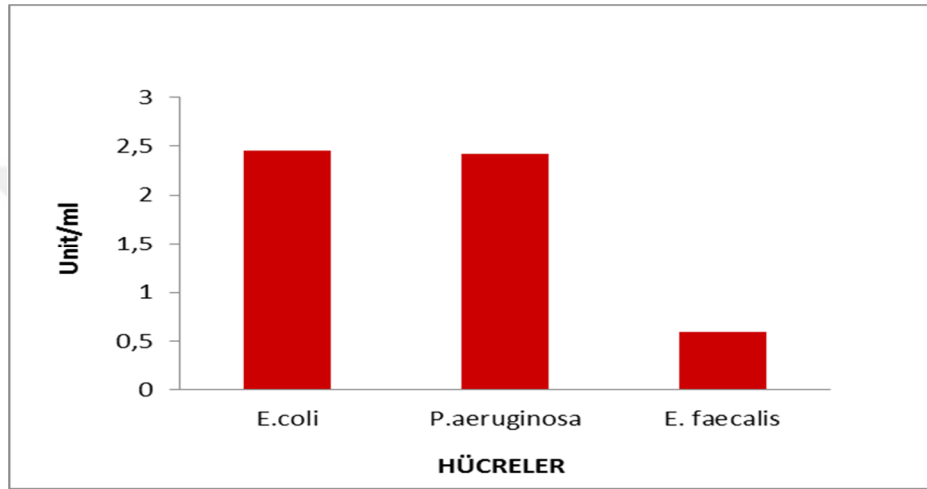
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C 100 rpm'de üretilmiştir. OD₆₆₀'da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀'daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,3735 U/ml; *P.aeruginosa*, 0,2897 U/ml; *E. faecalis*, 0,2504 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. coli* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm'de proteaz üretimi.

4.1.9 Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm’de proteaz üretimi

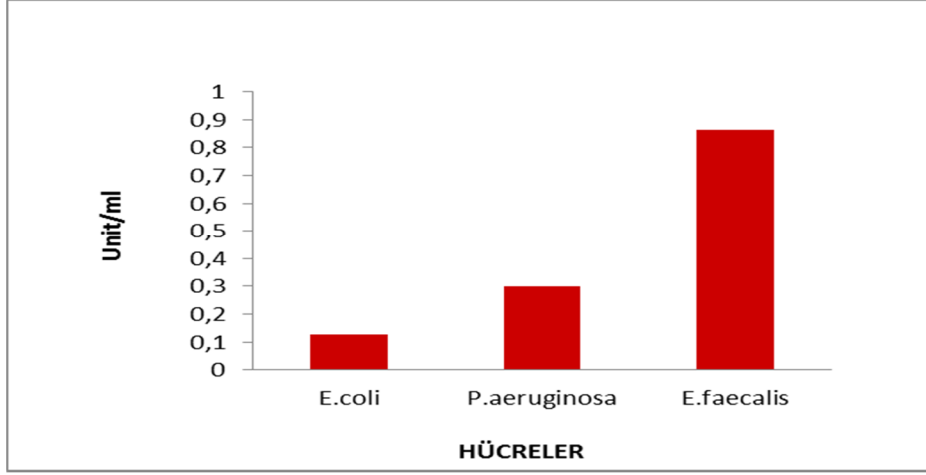
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C 100 rpm’de üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 2,4538 U/ml; *P. aeruginosa*, 2,4249 U/ml; *E. faecalis*, 0,591 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. coli* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm’de proteaz üretimi.

4.1.10 Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm’de proteaz üretimi

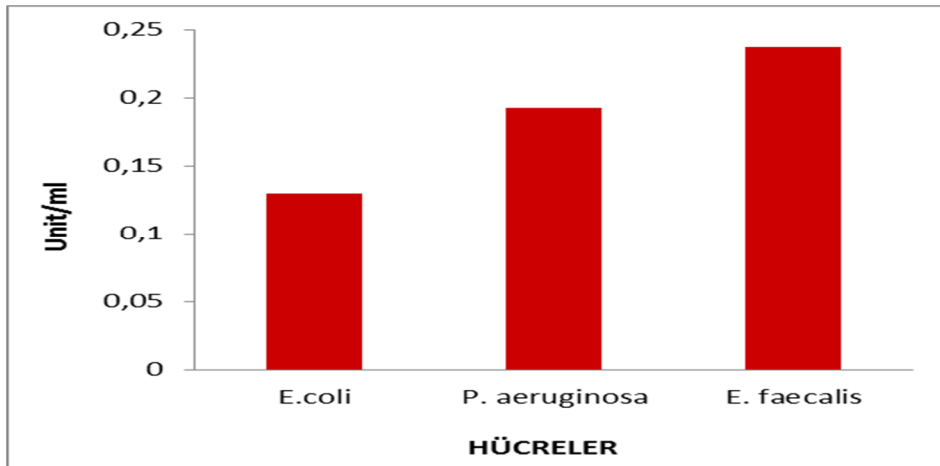
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C 200 rpm’de üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,1247 U/ml; *P. aeruginosa*, 0,2976 U/ml; *E. faecalis*, 0,8635 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm’de proteaz üretimi.

4.1.11 Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm’de proteaz üretimi

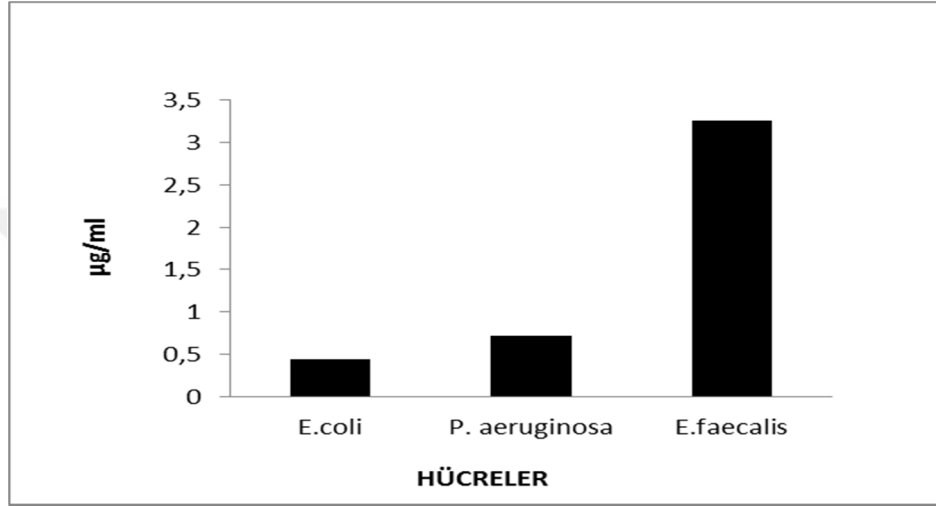
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C 200 rpm’de üretilmiştir. OD₆₆₀’da absorbansları okunarak proteaz üretimi tespit edildi. Hücrelerin OD₆₆₀’daki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,1299 U/ ml; *P. aeruginosa*, 0,1928 U/ml; *E. faecalis*, 0,2373 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek proteaz üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm’de proteaz üretimi.

4.2 Bakterilerin statik 30 °C’de prolin üretimi

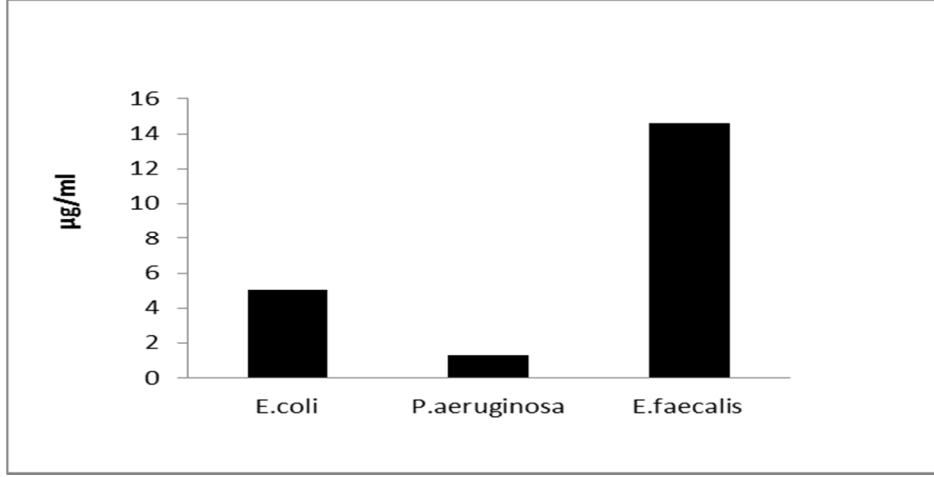
Hücreler LB ortamında 30 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,437 U/ ml; *P. aeruginosa*, 0,719 U/ ml; *E. faecalis*, 3,257 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Bakterilerin statik 30 °C’de prolin üretimi.

4.2.1 Bakterilerin statik 37 °C’de prolin üretimi

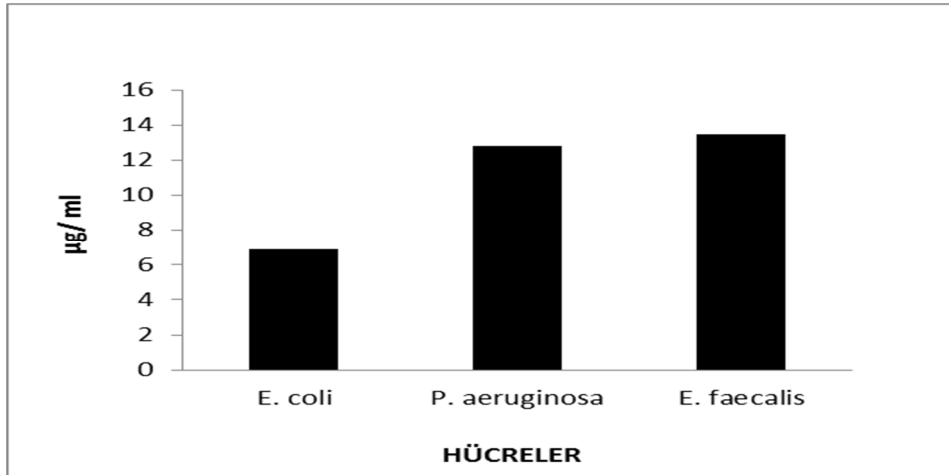
Hücreler LB ortamında 37 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 5,071 U/ml; *P. aeruginosa*, 1,337 U/ml; *E. faecalis*, 14,598 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *P. aeruginosa* göstermiştir (Şekil4.14).



Şekil 4.14. Bakterilerin statik 37 °C’de prolin üretimi.

4.2.2 Bakterilerin 30 °C 100 rpm’de prolin üretimi

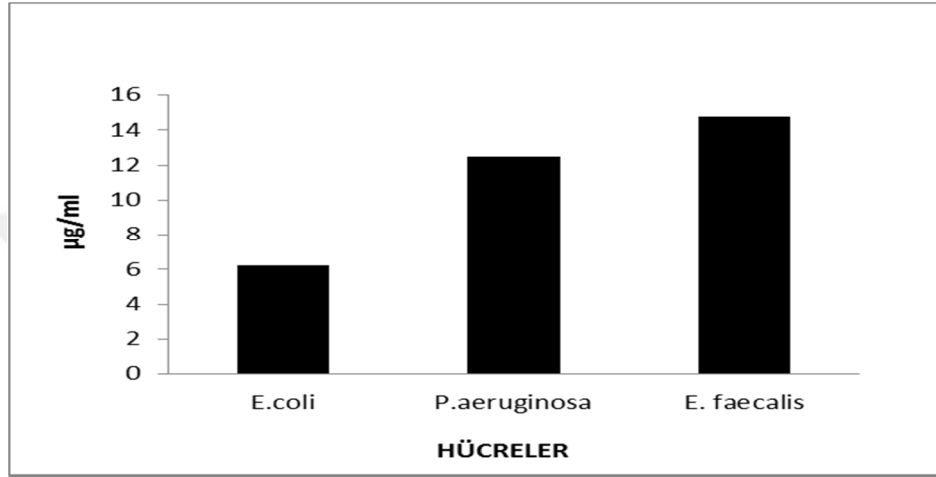
Hücreler LB ortamında 30 °C 100 rpm’de üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 6,912 U/ ml; *P. aeruginosa*, 12,823 U/ml; *E. faecalis*, 13,48 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük prolin ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Bakterilerin 30 °C 100 rpm’de prolin üretimi.

4.2.3 Bakterilerin 37 °C 100 rpm’de prolin üretimi

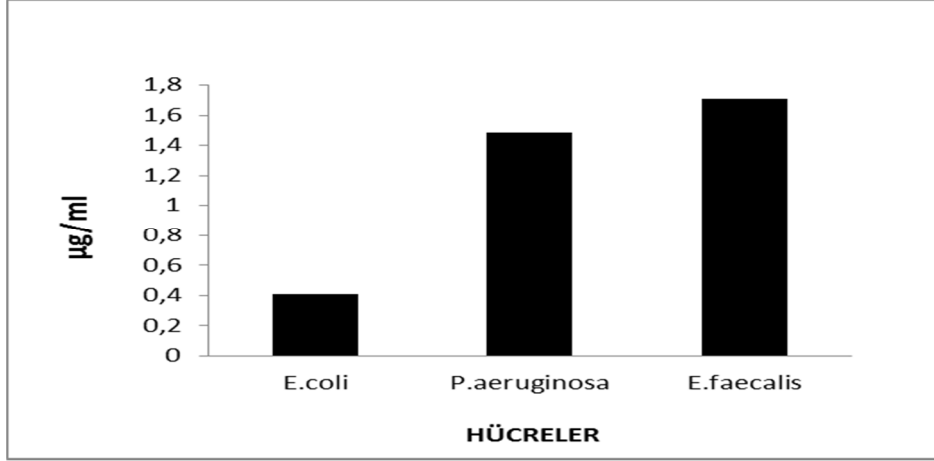
Hücreler LB ortamında 37 °C 100 rpm’de üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 6,222 U/ ml; *P. aeruginosa*, 12,487 U/ml; *E. faecalis*, 14,795 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Bakterilerin 37 °C 100 rpm’de prolin üretimi.

4.2.4 Bakterilerin 30 °C 200 rpm’de prolin üretimi

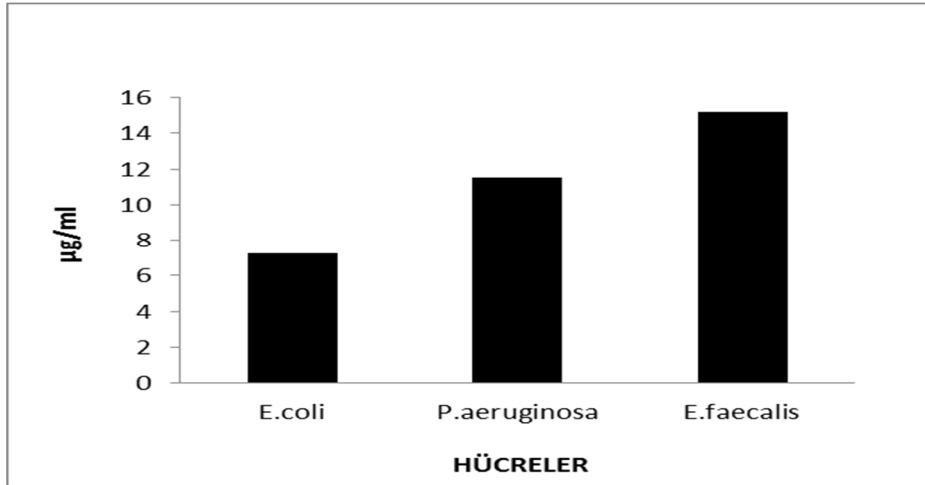
Hücreler LB ortamında 30 °C 200 rpm’de üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,41 U/ml; *P. aeruginosa*, 1,481 U/ml; *E. faecalis*, 1,705 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Bakterilerin 30 °C 200 rpm’de prolin üretimi.

4.2.5 Bakterilerin 37 °C’de 200 rpm’de prolin üretimi

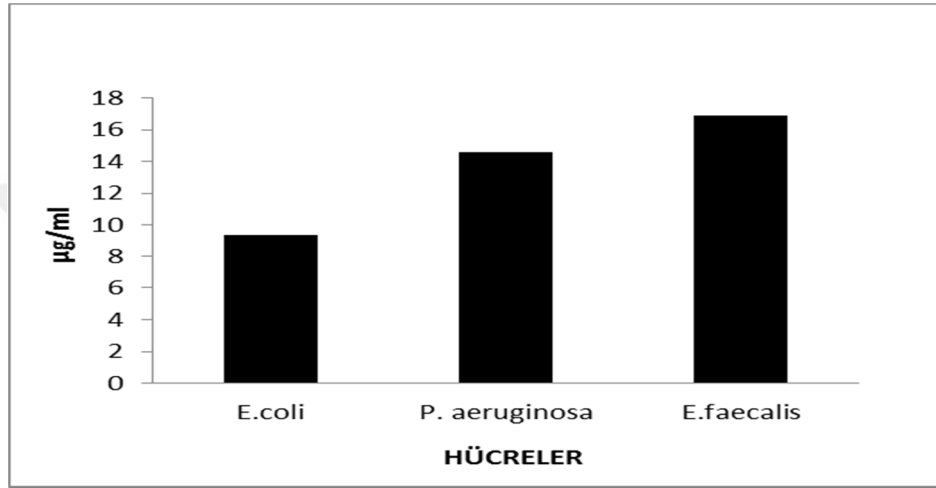
Hücreler LB ortamında 37 °C 200 rpm’de üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 7,254 U/ ml; *P. aeruginosa*, 11,514 U/ml; *E. faecalis*, 15,176 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimi *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Bakterilerin 37 °C 200 rpm’de prolin üretimi.

4.2.6 Bakterilerin KCl statik 30 °C’de prolin üretimi

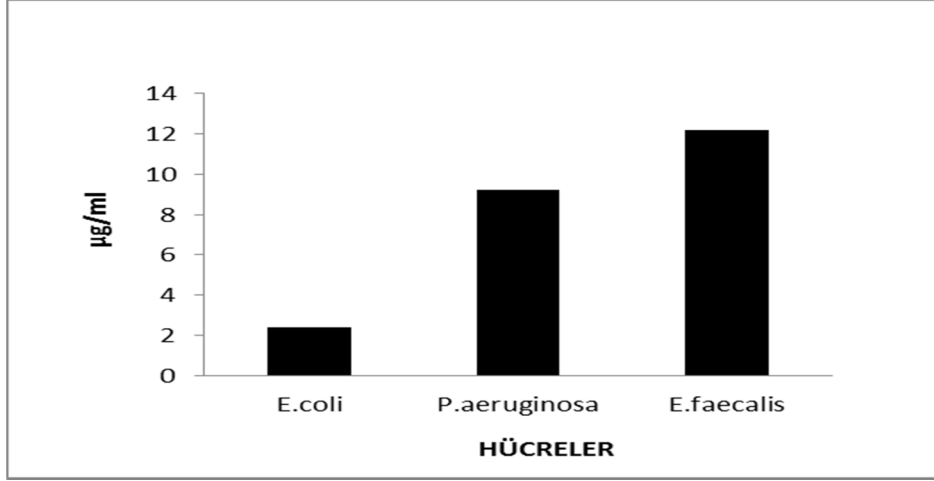
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 9,358 U/ml; *P. aeruginosa*, 14,624 U/ml; *E. faecalis*, 16,925 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Bakterilerin KCl statik 30 °C’de prolin üretimi.

4.2.7 Bakterilerin KCl statik 37 °C’de prolin üretimi

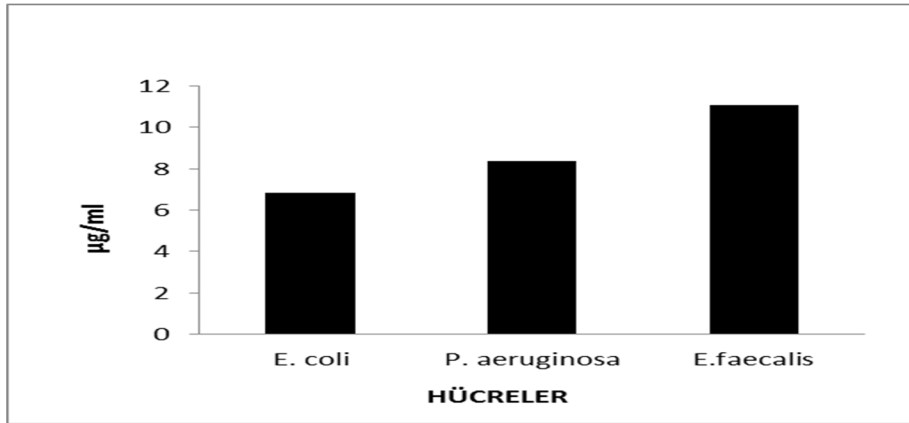
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 2,395 U/ml; *P. aeruginosa*, 9,226 U/ml; *E. faecalis*, 12,172 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Bakterilerin KCl statik 37 °C’de prolin üretimi.

4.2.8 Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm’de prolin üretimi

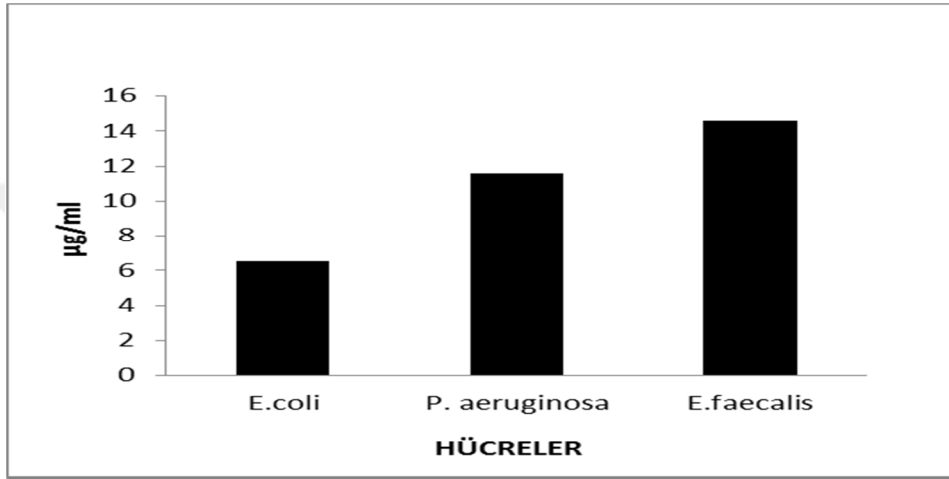
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C 100 rpm’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 6,833 U/ ml; *P. aeruginosa*, 8,385 U/ ml; *E. faecalis*, 11,074 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm’de prolin üretimi.

4.2.9 Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm’de prolin üretimi

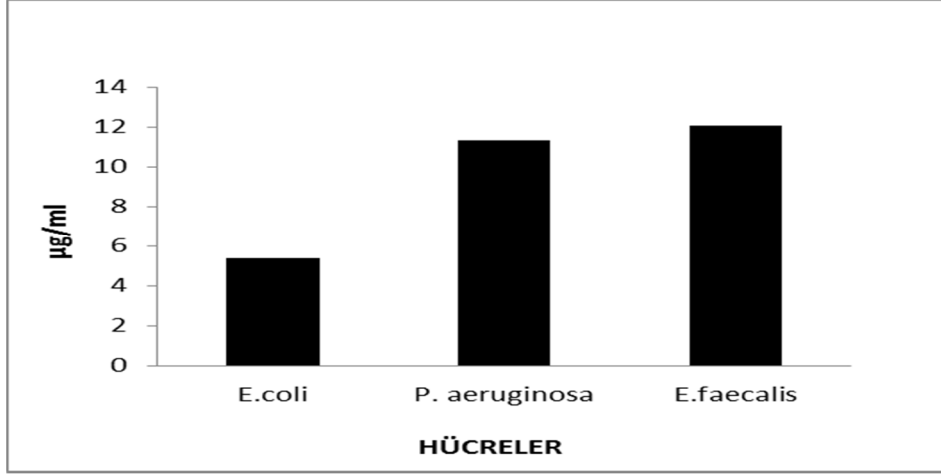
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C 100 rpm’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 6,557 U/ ml; *P. aeruginosa*, 11,567 U/ml; *E. faecalis*,14,604 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm’de prolin üretimi.

4.2.10 Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm’de prolin üretimi

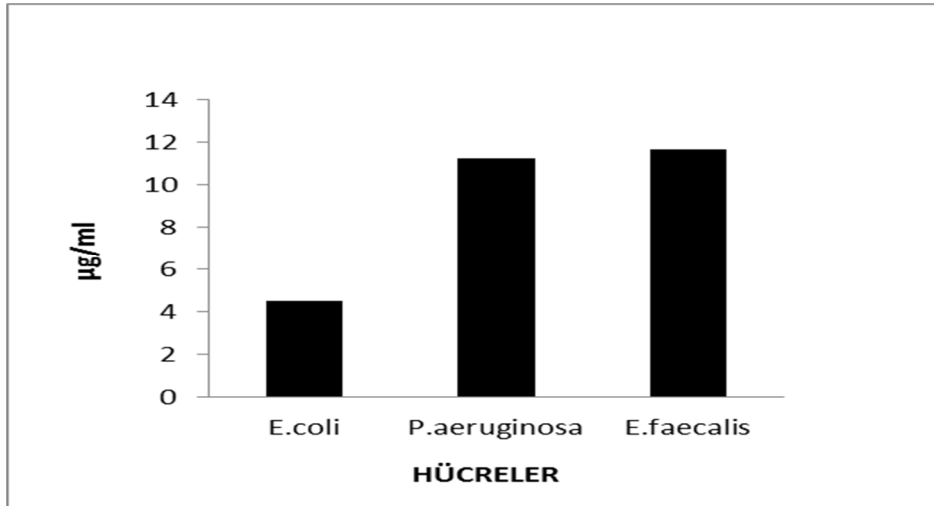
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C 200 rpm’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 5,380 U/ml; *P. aeruginosa*, 11,357 U/ml; *E. faecalis*,12,067 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm’de prolin üretimi.

4.2.11 Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm’de prolin üretimi

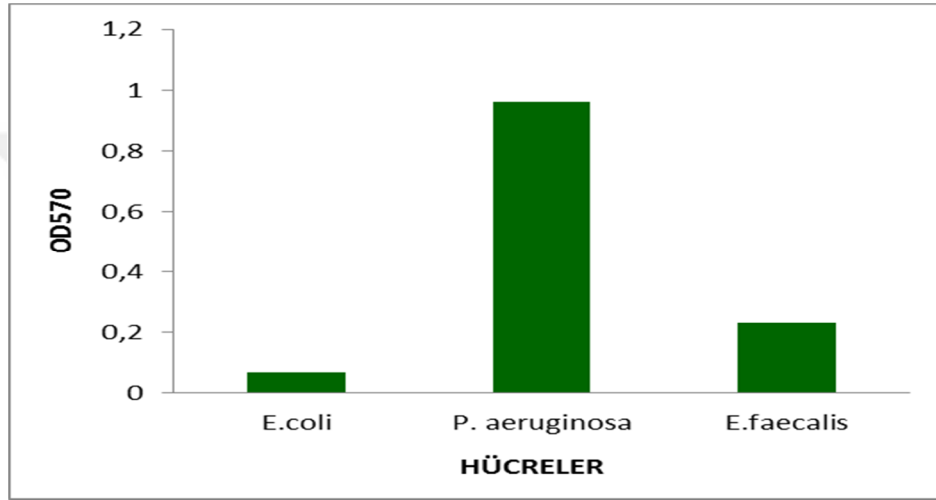
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C 200 rpm’de statik olarak üretilmiştir. OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretimi değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₂₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 4,493 U/ml; *P. aeruginosa*, 11, 251 U/ml; *E. faecalis*, 11,646 U/ml bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek prolin üretimini *E. faecalis* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm’de prolin üretimi.

4.3 Bakterilerin statik 30 °C’de biyofilm oluşum kinetiği

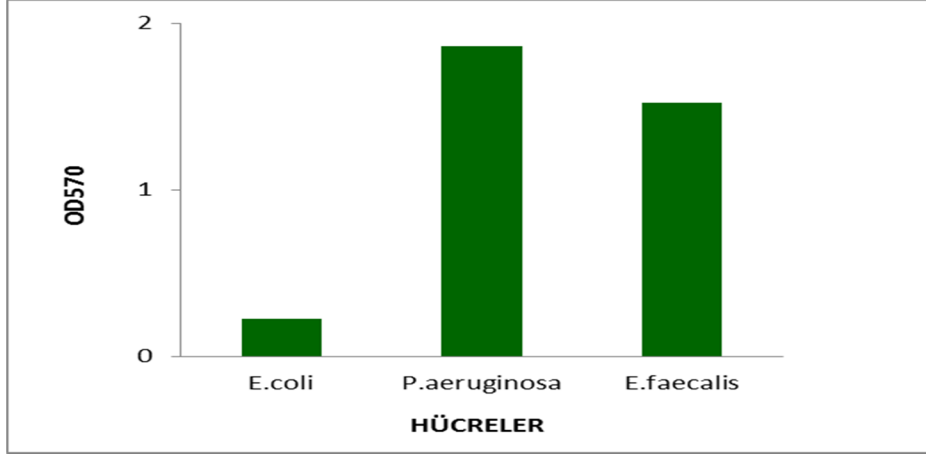
Hücreler LB ortamında 30 °C’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,068; *P. aeruginosa*, 0,961; *E. faecalis*, 0,23 bulunmuştur. Bu alışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (şekil 4.25).



şekil 4.25. Bakterilerin statik 30 °C’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.1 Bakterilerin statik 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiği

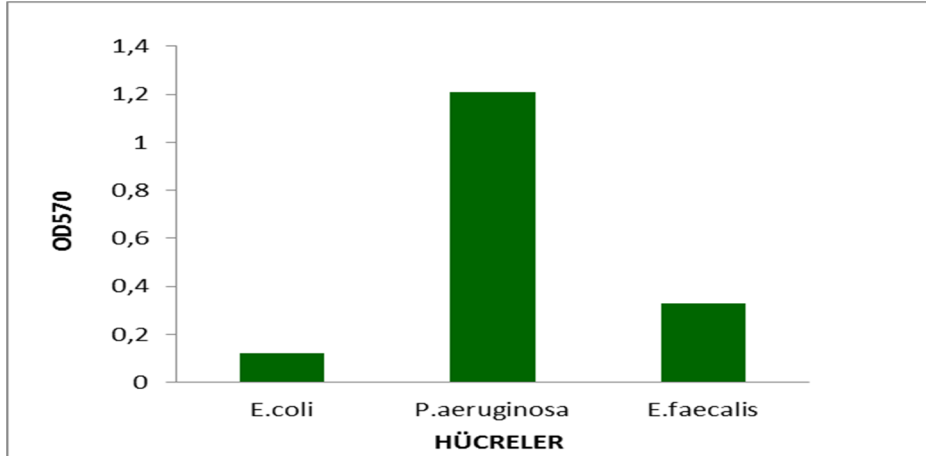
Hücreler LB ortamında 37 °C’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,225; *P. aeruginosa*, 1,861; *E. faecalis*, 1,525 bulunmuştur. Bu alışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (şekil 4.26).



Şekil 4.26. Bakterilerin statik 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.2 Bakterilerin 30 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

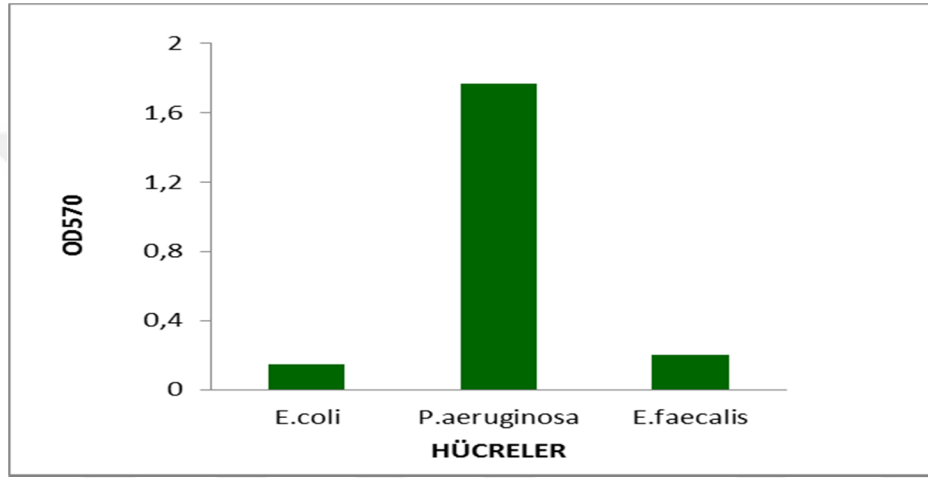
Hücreler LB ortamında 30 °C 100 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdıkları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdıkları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,119; *P. aeruginosa*, 1,209; *E. faecalis*, 0,326 bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Bakterilerin 30 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.3 Bakterilerin 37 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

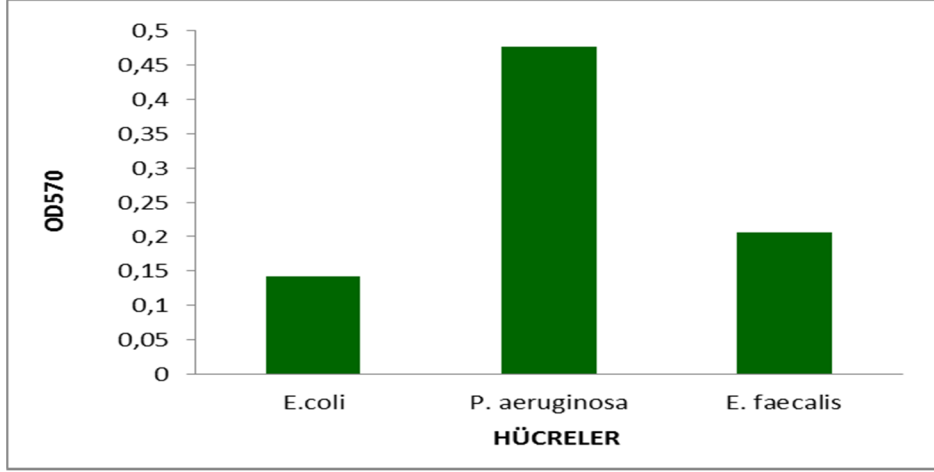
Hücreler LB ortamında 37 °C 100 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,147; *P. aeruginosa*, 1,769; *E. faecalis*, 0,202 bulunmuştur. Bu alışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (şekil 4.28).



şekil 4.28. Bakterilerin 37 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.4 Bakterilerin 30 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

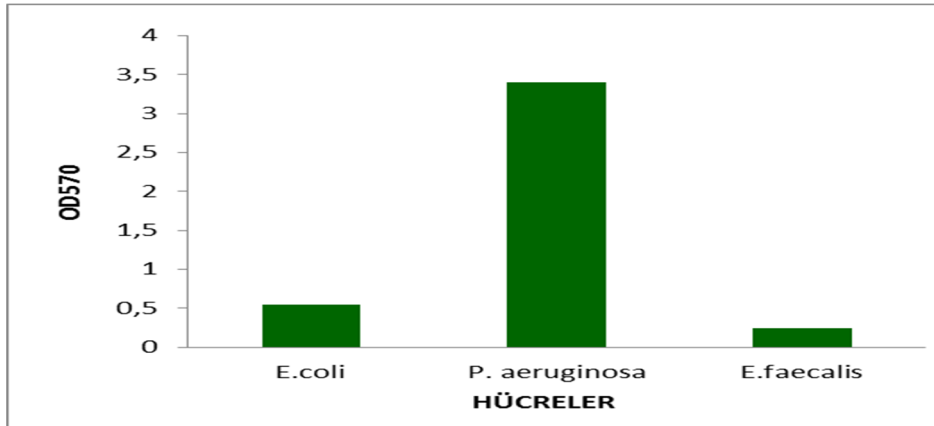
Hücreler LB ortamında 30 °C 200 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,141; *P. aeruginosa*, 0,476; *E. faecalis*, 0,207 bulunmuştur. Bu alışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (şekil 4.29).



Şekil 4.29. Bakterilerin 30 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.5 Bakterilerin 37 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

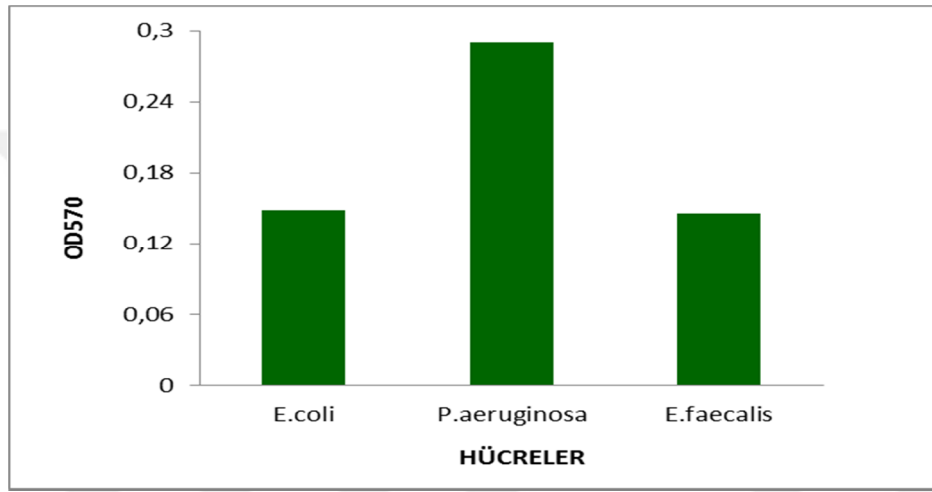
Hücreler LB ortamında 37 °C 200 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdıkları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdıkları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,541; *P. aeruginosa*, 3,399; *E. faecalis*, 0,246 bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. Bakterilerin 37 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.6 Bakterilerin KCl statik 30 °C’de biyofilm oluşum kinetiği

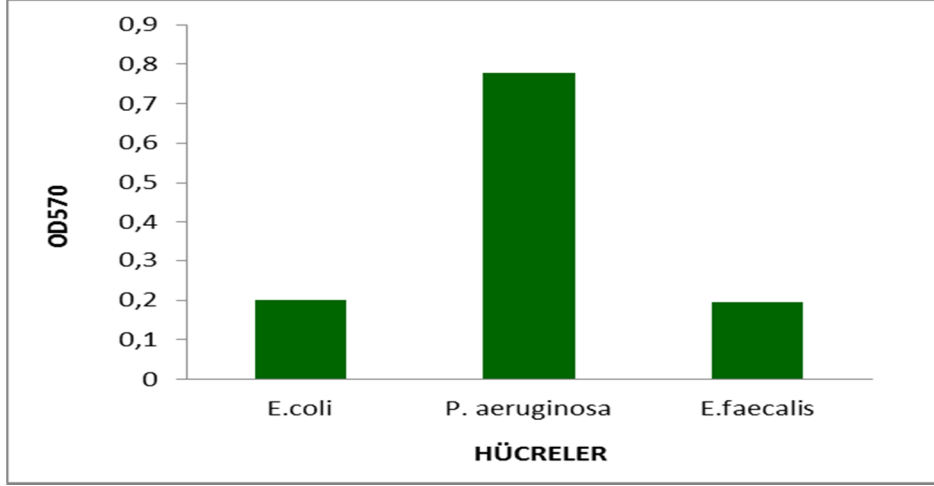
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C 200 rpm’ de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,148; *P. aeruginosa*, 0,290; *E. faecalis*, 0,146 bulunmuştur. Bu ęalıřma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (şekil 4.31).



şekil 4.31. Bakterilerin KCl statik 30 °C’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.7 Bakterilerin KCl statik 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiği

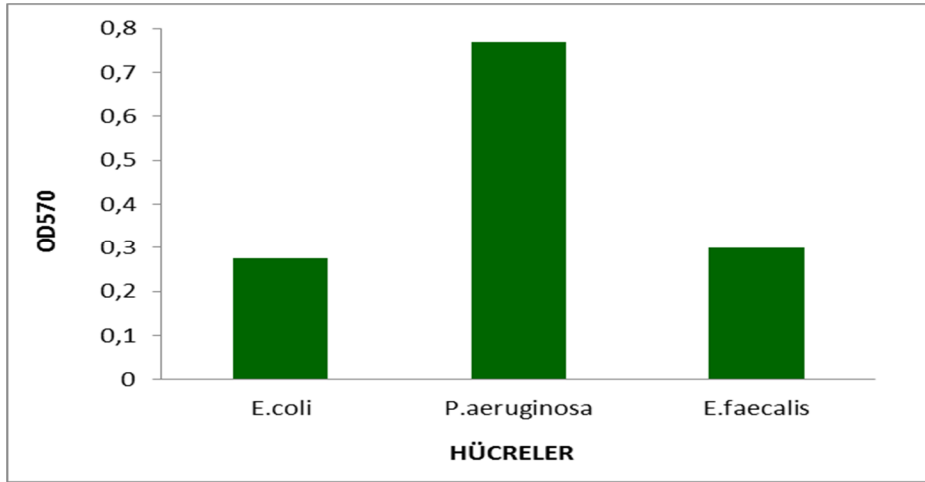
Hücreler LB ortamında 37 °C 200 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,201; *P. aeruginosa*, 0,777; *E. faecalis*, 0,195 bulunmuştur. Bu ęalıřma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (şekil 4.32).



Şekil 4.32. Bakterilerin KCl statik 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.8 Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

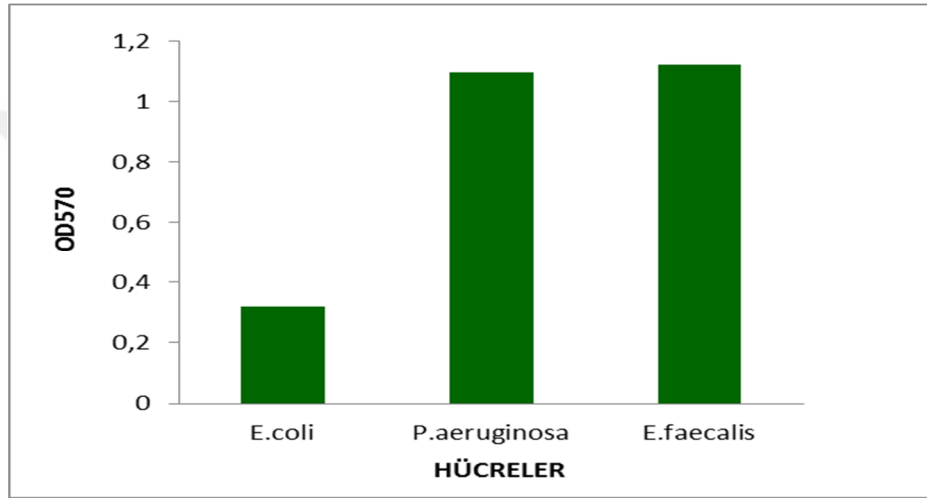
Hücreler LB ortamında 30 °C 100 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdıkları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdıkları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,274; *P. aeruginosa*, 0,768; *E. faecalis*, 0,3 bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. Bakterilerin KCl 30 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.9 Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

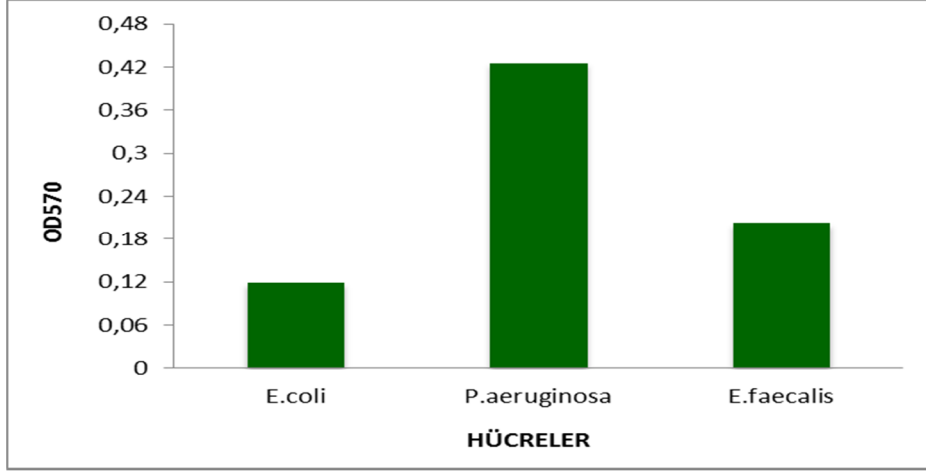
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C 100 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değeri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değeri; *E. coli*, 0,319; *P. aeruginosa*, 1,095; *E. faecalis*, 1,121 bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *E. faecalis* iken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (şekil 4.34).



şekil 4.34. Bakterilerin KCl 37 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.10 Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

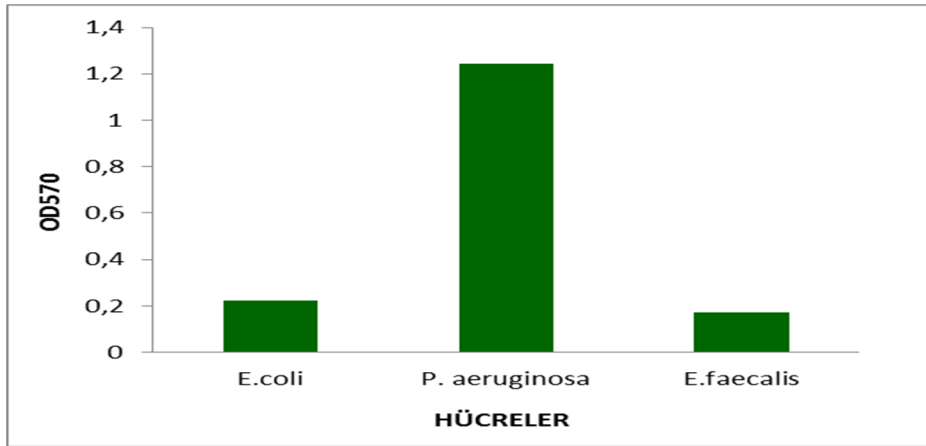
Hücreler KCl içeren LB ortamında 30 °C 200 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdukları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak biyofilm değeri gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdukları biyofilm değeri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değeri; *E. coli*, 0,118; *P. aeruginosa*, 0,425; *E. faecalis*, 0,202 bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. coli* göstermiştir (şekil 4.35).



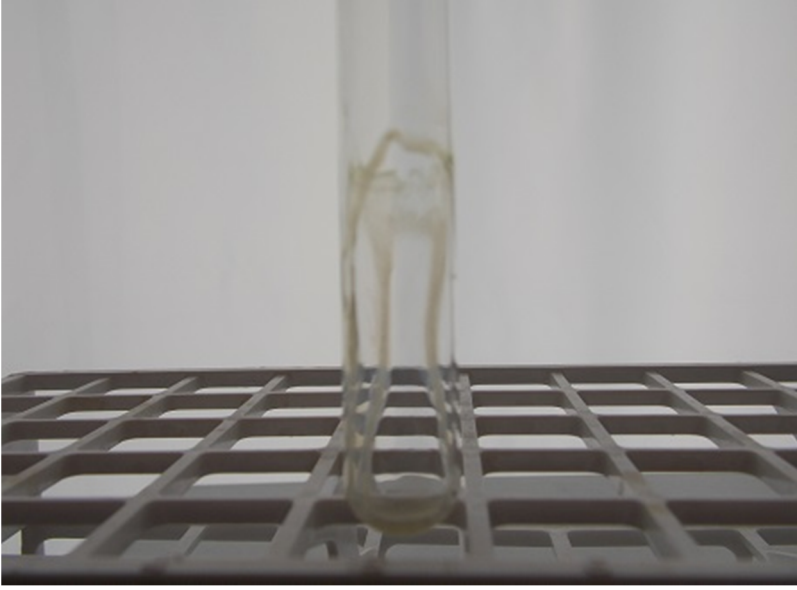
Şekil 4.35. Bakterilerin KCl 30 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği.

4.3.11 Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

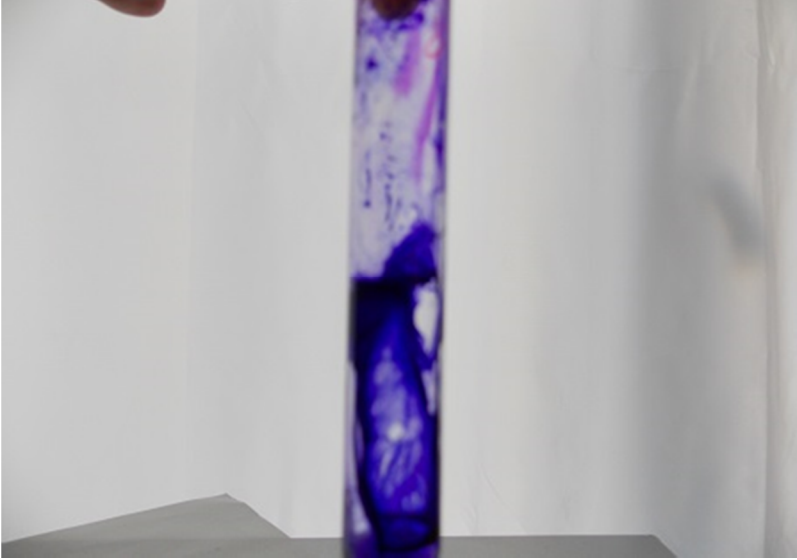
Hücreler KCl içeren LB ortamında 37 °C 200 rpm’de üretilmiştir ve % 1’lik kristal viyole kullanılarak biyofilm oluşturdıkları gösterilmiştir. OD₅₇₀’de absorbansları okunarak oluşturdıkları biyofilm değerleri gösterilmiştir. Hücrelerin OD₅₇₀’deki absorbans değerleri; *E. coli*, 0,222; *P. aeruginosa*, 1,245; *E. faecalis* 0,171 bulunmuştur. Bu çalışma kapsamında en yüksek biyofilm oluşum kinetiğini *P. aeruginosa* gösterirken en düşük ise *E. faecalis* göstermiştir (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. Bakterilerin KCl 37 °C 200 rpm’ de biyofilm oluşum kinetiği.



a) *P. aeruginosa*'nın LB'de cam yüzeylerinde biyofilm oluşumu.



b) *P. aeruginosa*'nın % 1'lik kristal viyole ile boyanmış biyofilm yapısı.

Şekil 4.37. *P. aeruginosa*'nın LB'de cam yüzeylerinde biyofilm oluşumu (a) ve kristal viyole (b) ile boyanmış biyofilm yapısı.

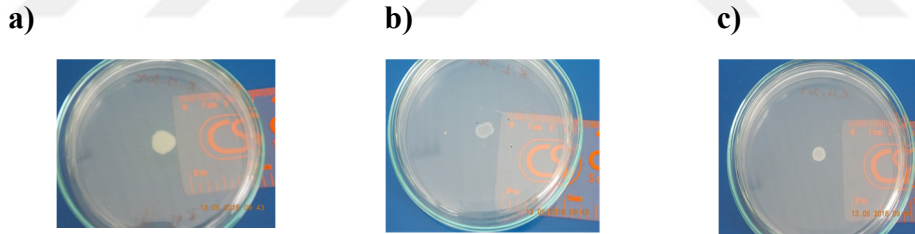
4.4 Bakteriyel hareketler

P. aeruginosa; yüzme, kayma ve titreme olmak üzere 3 hareket tipini gerçekleştirebilmektedir. Yüzme hareketini sıvı ortamda sahip olduğu flagella aracılığı ile yapabilmektedir. Kayma hareketini ise yarı- katı bir ortamda flagella aracılığıyla gerçekleştirebilmesinin yanı sıra Tip IV pilus ile de kayma hareketini yapabilmektedir. Titreme hareketinde ise *P. aeruginosa*, flagelladan ziyade Tip IV pilusu kullanarak düşük sulu ortamlarda bu hareketi gerçekleştirmektedir [55].

4.4.1 Bakterilerde kayma hareketi

4.4.2 Bakterilerde 30 °C’de kayma hareketi

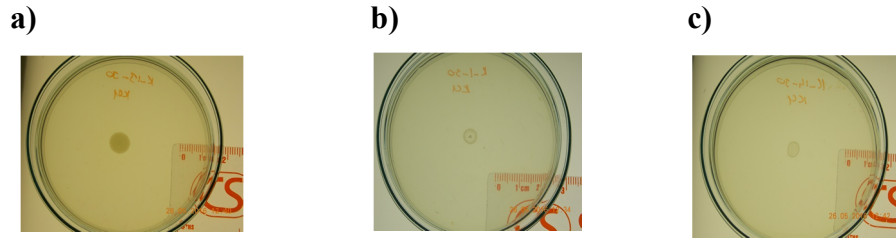
Bakterilerin kayma hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 9,66 mm; *E. coli*, 6 mm; *E. faecalis*, 5 mm olarak ölçülmüştür. En yüksek kayma hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük kayma hareketi ise *E. faecalis*’te bulunmuştur.



Şekil 4.38. a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 30 °C’de kayma hareketleri.

4.4.2.1 Bakterilerde 30 °C KCl varlığında kayma hareketi

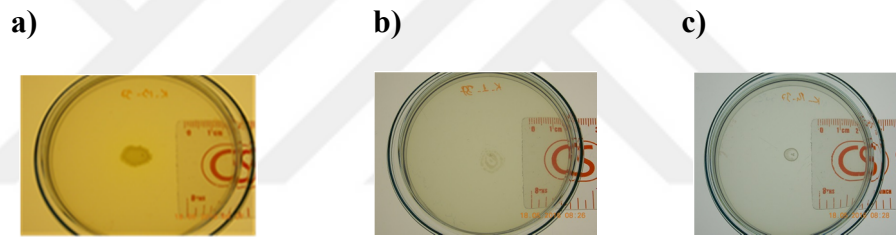
Bakterilerin kayma hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 8 mm; *E. coli*, 6,66 mm; *E. faecalis*, 5,66 mm olarak ölçülmüştür. En yüksek kayma hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük kayma hareketi ise *E. faecalis*’te bulunmuştur.



Şekil 4.39. a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 30 °C KCl varlığında kayma hareketleri.

4.4.2.2 Bakterilerde 37 °C'de kayma hareketi

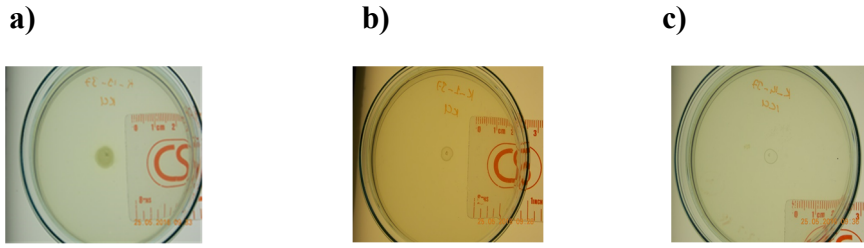
Bakterilerin kayma hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 9 mm; *E. coli*, 7,33 mm; *E. faecalis*, 6,66 mm ölçülmüştür. En yüksek kayma hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük ise *E. faecalis* 'te bulunmuştur.



Şekil 4.40. a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 37 °C'de kayma hareketleri.

4.4.2.3 Bakterilerde 37 °C KCl varlığında kayma hareketi

Bakterilerin kayma hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 7,66 mm; *E. coli*, 5,66 mm; *E. faecalis*, 5,33 mm ölçülmüştür. En yüksek kayma hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük ise *E. faecalis* 'te bulunmuştur.

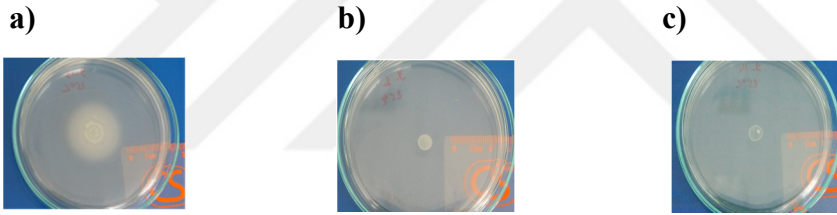


Şekil 4.41.a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 37 °C KCl varlığında kayma hareketleri.

4.4.3 Bakterilerde yüzme hareketi

4.4.3.1 Bakterilerde 25 °C'de yüzme hareketi

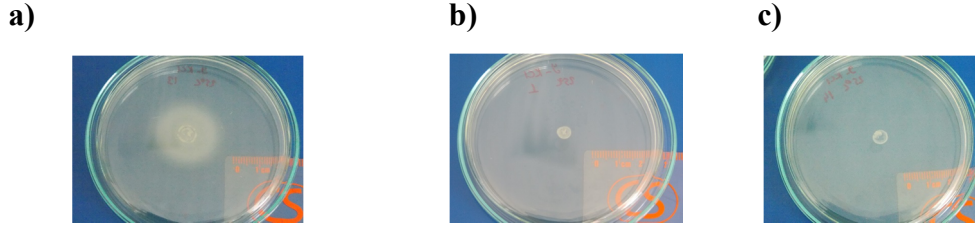
Bakterilerin yüzme hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 32,33 mm; *E. coli*, 6,33 mm; *E. faecalis*, 6,66 mm ölçülmüştür. En yüksek yüzme hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük ise *E. coli*'de bulunmuştur.



Şekil 4.42. a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 25 °C'de yüzme hareketleri.

4.4.3.2 Bakterilerde 25°C KCl varlığında yüzme hareketi

Bakterilerin yüzme hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 36 mm; *E. coli*, 5 mm; *E. faecalis*, 5,66 mm ölçülmüştür. En yüksek yüzme hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük ise *E. coli*'de bulunmuştur.

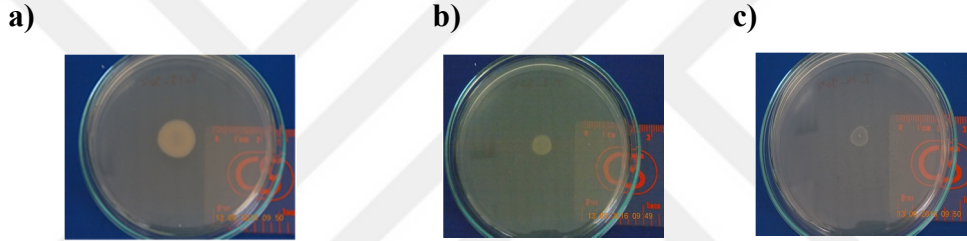


Şekil 4.43. a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 25 °C KCl varlığında yüzme hareketleri.

4.4.4 Bakterilerde titreme hareketi

4.4.4.1 Bakterilerde 30 °C'de titreme hareketi

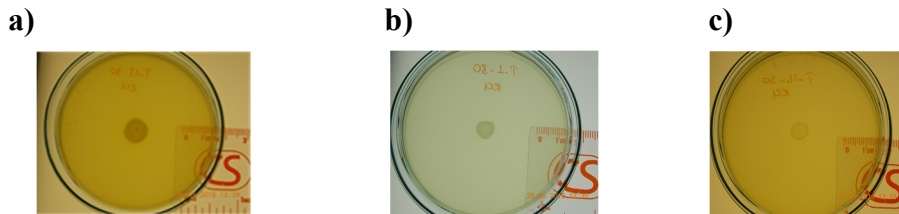
Bakterilerin titreme hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 7,26 mm; *E. coli*, 5,73 mm; *E. faecalis*, 3,66 mm ölçülmüştür. En yüksek titreme hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük ise *E. faecalis*'te bulunmuştur.



Şekil 4.44. a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 30 °C'de titreme hareketleri.

4.4.4.2 Bakterilerde 30 °C KCl varlığında titreme hareketi

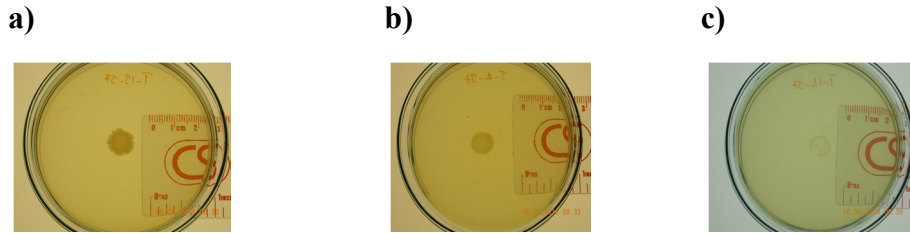
Bakterilerin titreme hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 10,33 mm; *E. coli*, 7,66 mm; *E. faecalis*, 7,33 mm ölçülmüştür. En yüksek titreme hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düşük ise *E. faecalis* 'te bulunmuştur.



Şekil 4.45.a) *P. aeruginosa*'nın b) *E. coli*'nin c) *E. faecalis*'in 30 °C KCl varlığında titreme hareketleri.

4.4.4.3 Bakterilerde 37 °C’de titreme hareketi

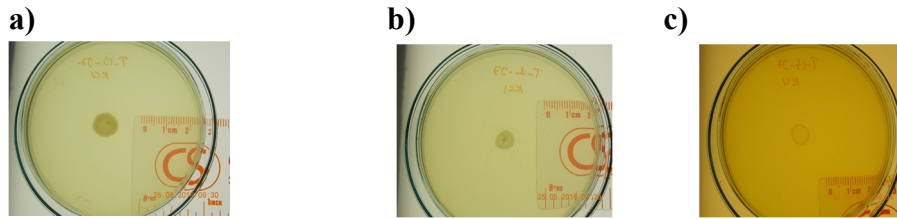
Bakterilerin titreme hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*, 12 mm; *E. coli*, 8,66 mm; *E. faecalis*, 8 mm ölçülmüştür. En yüksek titreme hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düştük ise *E. faecalis*’te bulunmuştur.



Şekil 4.46. a) *P. aeruginosa*’nın b) *E. coli*’nin c) *E. faecalis*’in 37 °C’de titreme hareketleri.

4.4.4.4 Bakterilerde 37 °C KCl varlığında titreme hareketi

Bakterilerin titreme hareketlerinin ortalama çapları; *P. aeruginosa*; 9 mm, *E. coli*; 7,66 mm, *E. faecalis*; 7,33 mm ölçülmüştür. En yüksek titreme hareketini gerçekleştirebilen *P. aeruginosa* iken en düştük ise *E. faecalis* ve *E. coli*’de bulunmuştur.



Şekil 4.47. a) *P. aeruginosa*’nın b) *E. coli*’nin c) *E. faecalis*’in 37 °C KCl varlığında titreme hareketleri

Çizelge. 2: Bakterilerde 30 °C ve 37 °C’de Normal ve KCl varlığında bakteriyel hareketler (mm).

BAKTERİLERDE KAYMA HAREKETİ (NORMAL ORTAM)				
--	--	--	--	--

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	30° C
Ort. Çap (mm)	9,66	6	5	
Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	37° C
Ort. Çap (mm)	9	7,33	6,66	

BAKTERİLERDE KAYMA HAREKETİ (KCl ORTAM)				
---	--	--	--	--

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	37 °C
Ort. Çap (mm)	7,66	5,66	5,33	
Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	30 °C
Ort. Çap (mm)	8	6,66	5,66	

BAKTERİLERDE YÜZME HAREKETİ (NORMAL ORTAM)				
--	--	--	--	--

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	25 °C
Ort. Çap (mm)	32,33	6,33	6,66	

BAKTERİLERDE YÜZME HAREKETİ (KCl ORTAM)				
---	--	--	--	--

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	25 °C
Ort. Çap (mm)	36	5	5,66	

BAKTERİLERDE TİTREME HAREKETİ(NORMAL ORTAM)

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	37 °C
Ort. Çap (mm)	12	8,66	8	

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	30 °C
Ort. Çap (mm)	7,26	5,73	3,66	

BAKTERİLERDE TİTREME HAREKETİ (KCI ORTAM)

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	30°C
Ort. Çap (mm)	10,33	7,66	7,33	

Hücreler	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	37°C
Ort. Çap (mm)	9	7,33	7,33	

Not: Çizelgelerdeki tüm sonuçlar 3 tekrarın ortalaması alınarak elde edilmiştir.

5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Tez kapsamındaki bu çalışmada; biyofilm, prolin, proteaz üretimi ve bakteriyel hareketler farklı ortam koşulları ve sıcaklık değerlerinde incelenmiştir.

5.1 Bakterilerde biyofilm oluşum kinetiği

5.1.1 Bakterilerin statik 30 °C ve 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiği

Tez kapsamındaki bu çalışmada; statik 30 °C LB ortamında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde OD₅₇₀’de en yüksek değer *P. aeruginosa*’da; 0,961 ve en düşük değer ise *E. coli*’de; 0,068 bulunmuştur (Şekil 4.25). Yapılan bir çalışmada ise 26 °C statik olarak Antijen Broth besiyerinde 48 saat süre sonunda *E. coli*’nin biyofilm oluşumunu incelemişler ve OD₅₄₀’da kültürlerin absorbanslarını okumuşlar. Bu çalışmanın sonucunda bulunan değerler ise 0,945-1,498 arasında değişmektedir [80]. Bu çalışma ile tez kapsamındaki çalışmada biyofilm oluşum kinetiği karşılaştırıldığında; *P. aeruginosa*’nın *E. coli*’ye göre daha iyi aktivite gerçekleştirdiği gösterilmiştir.

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 37 °C statik LB ortamında gerçekleştirilen biyofilm aktivite de en yüksek değer *P. aeruginosa*’da 1,861 ve en düşük değer ise *E. coli*’de 0,225 bulunmuştur (Şekil 4.26).Yapılan başka bir çalışmada ise *P. aeruginosa*’nın farklı sıcaklıklarda biyofilm oluşumu incelenmiştir. Bu çalışmada M9 (Minimal ortam) kullanılmış ve OD₅₉₀’da absorbans okuması yapılarak değerlendirilmiştir. *P. aeruginosa*’nın en uygun sıcaklık olarak 37 °C’de biyofilm oluşum kinetiğini gerçekleştirebildiğini göstermişlerdir. *P. aeruginosa*’nın bu sıcaklıkta ve OD₅₉₀’daki biyofilm oluşum kinetiği 2,80 bulunmuştur [81].

5.1.2 Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C 100 rpm LB ortamında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde en yüksek değer *P. aeruginosa*’da; 1,209 ve en düşük değer *E. coli*’de 0,119 bulunmuştur (Şekil 4.27). Tez kapsamındaki bu çalışmada 37 °C 100 rpm LB ortamında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde en yüksek

değer *P. aeruginosa*'da 1,769 ve en düşük değer *E. coli*'de 0,147 bulunmuştur (Şekil 4.28). Literatürde; 30 °C ve 37 °C 100 rpm LB ortamında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiği ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.1.3 Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 200 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C 200 rpm LB ortamında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde en yüksek değer *P. aeruginosa*'da 0,474 ve en düşük değer *E. coli*'de 0,16 bulunmuştur (Şekil 4.29).

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 37 °C 200 rpm LB ortamında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde en yüksek değer *P. aeruginosa*'da 3,399 en düşük değer *E. faecalis*'de 0,246 bulunmuştur (Şekil 4.30). Literatürde 30 °C ve 37 °C 200 rpm LB ortamında *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşum kinetiği ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.1.4 Bakterilerin statik KCl 30 °C ve 37 °C'de biyofilm oluşum kinetiği

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C statik KCl varlığında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde en yüksek değer *P. aeruginosa*'da 0,29 ve en düşük değer *E. faecalis*'te 0,146 bulunmuştur (Şekil 4.31). 37 °C statik KCl varlığında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde ise en yüksek değer *P. aeruginosa*'da; 0,777 ve en düşük değer *E. faecalis*'te; 0,195 bulunmuştur (Şekil 4.32). Literatürde; 30 °C ve 37 °C statik KCl varlığında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiği ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.1.5 Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 100 rpm'de biyofilm oluşum kinetiği

Tezkapsamındaki bu çalışmada; 30 °C 100rpm ve 37 °C 100 rpm KCl varlığında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiği; 30 °C 100 rpm'de en yüksek değer *P. aeruginosa*'da 0,768 ve en düşük değer *E. coli*'de 0,274 olarak bulunmuştur (Şekil 4.33). 37 °C 100 rpm KCl varlığında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde ise en yüksek *E. faecalis*'te; 1,121 ve en düşük *E. coli*'de 0,319 bulunmuştur (Şekil 4.34). Literatürde; 30 °C ve 37 °C 100 rpm KCl varlığında

gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiği ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.1.6 Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de biyofilm oluşum kinetiği

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C 200 rpm ve 37 °C 200 rpm’de KCl varlığında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiğinde; 30 °C 200 rpm’de en yüksek değer *P.aeruginosa*’da 0,425 ve en düşük değer *E. coli*’de 0,118 olarak bulunmuştur (Şekil 4.35). 37 °C 200 rpm KCl varlığında ise en yüksek oluşum kinetiği *P.aeruginosa*’da 1,241 ve en düşük *E. faecalis*’te; 0,171 bulunmuştur (Şekil 4.36). Literatürde; 30 °C ve 37 °C 200 rpm KCl varlığında gerçekleştirilen biyofilm oluşum kinetiği ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır. Tez kapsamındaki bu çalışmada *P. aeruginosa*’nın farklı ortam koşullarında biyofilm oluşum kinetiğini gerçekleştirebildiği gösterilmiştir.

5.2 Bakterilerde prolin üretimi

5.2.1 Bakterilerin statik 30 °C ve 37 °C’de prolin üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; prolin üretiminde kullanılan kültürlerin OD₅₂₀’de absorbansları okunarak prolin üretiminin değerleri incelenmiştir. Bu tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C statik ortamda en yüksek prolin aktivite değeri *E. faecalis*’te; 3,257 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*’de; 0,437 U/ml şeklinde bulunmuştur (Şekil 4.13). Yapılan bir çalışmada isodevenin sütünden izole edilmiş 2 farklı *Lactobacillus* türünden prolin ile ozmoregülatör ve tuz stresine fiziksel cevaplarla ilgili bir çalışma yapılmış. *Lactococcus* türü M17 ortamında 30 °C statik ortamda üretilmiş ve ozmoregülatör olarak da prolin kullanılmıştır. Bunun yanı sıra ortamda prolin miktarı 40, 50, 60, 70 veya da 100 mM olacak şekilde eklenmiştir. Daha sonra 30 °C’de 72 saat inkübe edilmiş ve OD₆₀₀’de absorbanslarını ölçerek optimum prolin miktarına karar vermişlerdir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda ise en yüksek bakteriyel üretiminin 70 mM’lık prolin içeren ortamda gözlemlendiğini belirtilmiştir [72]. Tez kapsamındaki bu çalışmada ise *P. aeruginosa*’nın diğer

bakterilere oranla daha az prolin üretimine sahip olduğu ve *E. faecalis*'in daha iyi prolin üretimini yapabildiği gösterilmiştir.

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 37 °C statik ortamda en yüksek prolin üretim değeri *E. faecalis*' de 14,598 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*'de 5,071 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.14). Yapılan bir çalışmada ise *P. aeruginosa* PAO1 suşunun prolin sentezi ile ilgili bir çalışma yapılmış ve kültürler 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bu çalışmada γ -glutamik fosfat redüktaz ve 1-prolin-5 karboksilat redüktaz enzimleri kullanılmıştır. Bu enzimlerin *P. aeruginosa*'nın prolin biyosentezinde önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir [70]. Tez kapsamındaki bu çalışmada ise *P. aeruginosa*'nın diğer bakterilere oranla daha düşük prolin aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Literatürde; statik 30 °C ve 37 °C'de prolin üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.2.2 Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 100 rpm'de prolin üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C 100 rpm ve 37 °C 100 rpm' de prolin üretimi; 30 °C 100 rpm'de en yüksek değer *E. faecalis*'te 13,480 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*' de; 6,912 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.15). Tez kapsamındaki bu çalışmada; 37 °C 100 rpm'de ise en yüksek prolin üretim değeri *E. faecalis*'te; 14,795 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*'de; 6,222 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.16). *P. aeruginosa*'nın diğer bakterilere göre daha az prolin üretimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Literatürde; 30 °C ve 37 °C 100 rpm' de prolin üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.2.3 Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 200 rpm'de prolin üretimi

Tezkapsamındaki bu çalışmada; 30 °C 200 rpm ve 37 °C 200 rpm'de prolin üretimi 30 °C 200 rpm' de en yüksek değer *E. faecalis*'de 1,705 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*'de 0,410 bulunmuştur (Şekil 4.17). Tez kapsamındaki bu çalışmada; 37 °C 200 rpm'de prolin üretim değeri en yüksek *E. faecalis*'te 15,176 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*'de 7,254 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.18). *P. aeruginosa*'nın diğer bakterilere göre daha az prolin üretimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Literatürde;

30 °C ve 37 °C 200 rpm’ de prolin üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.2.4 Bakterilerin KCl statik 30 °C ve 37 °C’de prolin üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; statik 30 °C KCl içeren LB ortamında en yüksek prolin üretimi *E. faecalis*’te 16,925 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*’de 9,358 bulunmuştur (Şekil 4.19). *P. aeruginosa*’nın diğer bakterilere göre daha az prolin üretimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir.

Tez kapsamındaki bu çalışmada; statik 37 °C KCl içeren LB ortamında en yüksek prolin üretimi *E. faecalis*’te 12,172 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*’de 2,395 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.20). *P. aeruginosa*’nın diğer bakterilere göre daha az prolin üretimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Literatürde; 30 °C ve 37 °C statik KCl varlığında gerçekleştirilen prolin üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.2.5 Bakterilerin KCl 30 °C ve 37°C 100 rpm’de prolin üretimi

Tezimiz kapsamında yaptığımız 30 °C 100 rpm ve 37 °C 100 rpm KCl içeren LB ortamında 30 °C 100 rpm’ de prolin üretiminde en yüksek değer *E. faecalis*’de 11,074 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*’de 6,833 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.21). 37 °C 100 rpm KCl içeren LB ortamında en yüksek prolin üretimi *E. faecalis*’te 14,604 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*’de 6,557 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.22). *P. aeruginosa*’nın diğer bakterilere göre daha az prolin üretimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Literatürde; 30 °C ve 37 °C 100 rpm KCl varlığında gerçekleştirilen prolin üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.2.6 Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de prolin üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada 30 °C 200 rpm ve 37 °C 200 rpm KCl içeren LB ortamında; 30 °C 200 rpm’de en yüksek prolin üretimi *E. faecalis*’te 12,067 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli* 5,380 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.23). 37 °C 200 rpm KCl içeren LB ortamında en yüksek prolin üretimi *E. faecalis*’te 11,646 U/ml ve en düşük

değer ise *E. coli*'de 4,493 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.24). *P. aeruginosa*'nın diğer bakterilere göre daha az prolin üretimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Literatürde; 30 °C ve 37 °C 200 rpm KCl varlığında gerçekleştirilen prolin üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.3 Bakterilerde proteaz enzim üretimi

5.3.1 Bakterilerin statik 30 °C ve 37 °C proteaz üretimi

Tez kapsamındaki proteaz üretiminde bulunan kültürlerin OD₆₆₀'da absorbansları okunarak en yüksek ve en düşük proteaz üretimleri gösterilmiştir. Bu çalışmada; 30 °C statik ortamda en yüksek proteaz üretimi *P. aeruginosa*'da 0,6801 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*'de 0,5727 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.1). Yapılan bir çalışmada ise *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşundan proteaz üretimi üzerine bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada substrat olarak % 0,6'lık "Hammersten kasein" solüsyonunu kullanılarak 30 °C'de inkübe edilmiştir. Sonuç olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun proteaz üretimine sahip olduğu gösterilmiştir [46]. Literatürde yapılan çalışmalarla bu tez kapsamındaki çalışma karşılaştırıldığında *P. aeruginosa*'nın daha az proteaz üretimi gösterdiği belirtilmiştir.

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 37 °C statik ortamda en yüksek proteaz üretimi *E. coli*'de 0,4102U/ml ve en düşük *E. faecalis*'de 0,0749 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.2). Yapılan değişik bir çalışmada ise hastalardan izole edilmiş olan *P. aeruginosa*'nın alkalın proteaz aktivitesiyle ilgili bir çalışma yapılmıştır. Burada "skim milk agar" kullanılarak proteolitik aktivite araştırılmış. Aynı zamanda "Kazein Broth"u da kullanarak alkalın proteaz üretimi gözlemlenmiştir. Bakteriler 37 °C'de üretilmiş ve en yüksek enzim aktivitesi 54 saat sonra 133,4 U/ml olarak belirtilmiştir [51]. Literatürde yapılan çalışmalarla bu tez kapsamındaki çalışma karşılaştırıldığında *P. aeruginosa*'nın daha az proteaz üretimi gösterdiği anlaşılmaktadır.

5.3.2 Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 100 rpm’de proteaz üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C 100 rpm’de en yüksek proteaz üretimi *P. aeruginosa*’da 0,8478 U/ml ve en düşük değer ise *E. coli*’de 0,4862 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.3).Yapılan başka bir çalışmada ise *Bacillus cereus* ve *Bacillus polymyxa* bakterilerinin proteaz aktivitesi incelenmiştir. Kùltürler TSB (Tripti case Soy Broth)’de 30 °C 100 rpm’de 72 saat boyunca inkübe edilmiş ve bu çalışmanın sonucunda *Bacillus cereus* 34,72 U/ml ve *Bacillus polymyxa*’da 46,72 U/ml bulunmuştur [82]. Yapılan diğer çalışmalar ile bu tez kapsamındaki çalışma karşılaştırıldığında *P. aeruginosa*’nın daha az proteaz üretimi gerçekleştirdiği belirtilmiştir.

Tez kapsamındaki bu çalışmada; proteaz üretimi 37 °C 100 rpm’de en yüksek değer *E. faecalis*’de 0,439 U/ml ve en düşük değer ise *P. aeruginosa*’ da 0,2504 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.4). Yapılan bir çalışmada ise *B. licheniformis*’in proteaz üretimi ile ilgili bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada kùltürler soya unu, glikoz, CaCl₂, MgCl₂ içeren bir ortamda 37 °C 140 rpm’ de 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Proteaz üretiminde % 1 kazein kullanılmıştır. OD₆₆₀’da absorbanslarını okuyarak proteaz üretim değerlerini belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda en yüksek değeri 176.7 U/ml olarak belirtmişlerdir [83]. Bu yapılan çalışma ile tez kapsamındaki bu çalışmayı karşılaştırıldığında *P. aeruginosa*’nın diğer bakterilere oranla daha az proteaz üretimi gerçekleştirdiği belirlenmiştir.

5.3.3 Bakterilerin 30 °C ve 37 °C 200 rpm’de proteaz üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; proteaz üretimi 30 °C 200 rpm’de en yüksek değer *P. aeruginosa*’da 0,9709 U/ml ve en düşük değer ise *E.coli*’de 0,5858 U/ml bulunmuştur (Şekil4.5). Literatürde; 30 °C 200 rpm’ de proteaz üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır. Tez kapsamındaki bu çalışmada; proteaz üretimi 37 °C 200 rpm’de en yüksek değer *P. aeruginosa*’da 0,35 U/ml ve en düşük değer ise *E. faecalis*’de 0,1666 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.6). Yapılan bir çalışmada ise *Bacillus* spp. proteaz üretimi incelenmiştir. Bu çalışmada kùltürler glukoz, pepton, ve tuz solüsyonu içeren bir ortamda 37 °C 200 rpm 24 saatte elde edilmiştir. (NH₄)₂SO₄ içeren ortamda gerçekleşen spesifik proteaz üretimi 10,32

U/ml bulunmuştur [84]. Literatürde yapılan çalışma ile bu tez kapsamındaki çalışma karşılaştırıldığında *Bacillus* spp.'in diğer bakterilere oranla daha yüksek proteaz üretimine sahip olduğu, *P. aeruginosa*'nın daha az bir aktiviteye sahip olduğu anlaşılmaktadır.

5.3.4 Bakterilerin KCl statik 30 °C ve 37 °C'de proteaz üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; 30 °C KCl ortamında en yüksek proteaz üretimi *E. coli*'de 0,2399 U/ml ve en düşük değer ise *P. aeruginosa*'da 0,1063 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.7). 37 °C KCl ortamında ise en yüksek proteaz üretimi *E. coli*'de 0,9237 U/ml ve en düşük *P. aeruginosa*'da 0,2950 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.8). Bu çalışma ile *P. aeruginosa*'nın daha az proteaz üretimi sahip olduğu gösterilmiştir. Literatürde; statik 30 °C ve 37 °C KCl varlığında gerçekleştirilen proteaz üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.3.5 Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 100 rpm'de proteaz üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; proteaz üretimi 30 °C 100 rpm KCl ortamında en yüksek değer *E. coli*'de 0,3735 U/ml ve en düşük değer ise *E. faecalis*'de 0,2504 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.9). 37 °C 100 rpm KCl varlığında en yüksek değer *E. coli*'de 2,4538 U/ml ve en düşük değer ise *E. faecalis*'te 0,591 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.10). Literatürde; 30 °C ve 37 °C 100 rpm KCl varlığında gerçekleştirilen proteaz üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.3.6 Bakterilerin KCl 30 °C ve 37 °C 200 rpm'de proteaz üretimi

Tez kapsamındaki bu çalışmada; proteaz üretimi 30 °C 200 rpm KCl ortamında en yüksek *E. faecalis*'te 0,8635 U/ml ve en düşük *E. coli*'de 0,1247 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.11). 37 °C 200 rpm KCl ortamında ise en yüksek değer *E. faecalis*'te 0,2373 U/ml ve en düşük *E. coli*'de 0,1299 U/ml bulunmuştur (Şekil 4.12). Literatürde; 30 °C ve 37 °C 200 rpm KCl varlığında gerçekleştirilen proteaz üretimi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.4 Bakteriyel hareketler

Bakteriler; kayma, yüzme ve titreme hareketini gerçekleştirebilmektedir. Bu tez çalışmasında hareketleri farklı sıcaklık aralıklarında ve KCl stres koşulu altında araştırılmıştır.

5.4.1 Bakterilerde 30 °C ve 37 °C Normal ve KCl içeren LB ortamlarında kayma hareketi

Kayma hareketi 30 °C ve 37 °C’de normal LB ve KCl içeren LB ortamlarında incelenmiştir. 30 °C’de en yüksek kayma hareketi yapan *P. aeruginosa*; 9,66 mm iken en düşük değer *E. faecalis*; 5 mm olarak ölçülmüştür. 37 °C’de ise en yüksek ortalama *P. aeruginosa*; 9 mm ve en düşük *E. faecalis*; 6,66 mm olarak ölçülmüştür. Yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa* 57RP suşunun kayma hareketi ile ilgili bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada % 0,5 Bacto agar, 8 gr Nutrient Broth ve 5 gr Dektroz kullanılmıştır. Kültürler 24 saat 30 °C’de inkübe edilmiştir. Bu suşun kayma hareketi yapabildiğini göstermişlerdir [63]. Başka bir çalışmada da *P. aeruginosa* PA14 suşunun kayma hareketi ile ilgili bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada da $MgSO_4$ ve $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ içeren petriler kullanılmıştır ve değişik oranlarda agarkullanmışlardır. Kültürler bu ortamda 16 saat 30 °C’ de inkübe edilmiştir. *P. aeruginosa* PA14 suşunun agar miktarının artması ile hareketliliğin azaldığını gözlemlemişlerdir. % 0,3’de hareketlilik oranı yüksek iken % 0,9’da bu hareketlilik iyice düşmektedir [62]. Literatürde genellikle kayma hareketini 30 °C’de incelemişlerdir fakat bizim tezimizin kapsamında yaptığımız çalışmada 30 °C’nin yanı sıra 37 °C’de kayma hareketi gözlemlenmiştir.

Tezimiz kapsamında yaptığımız kayma hareketinde 30 °C KCl varlığında en yüksek kayma aktivitesine sahip olan *P. aeruginosa*; 8 mm ve en düşük ise *E. faecalis* 5,66 mm olarak ölçülmüştür. 37 °C KCl varlığında en yüksek *P. aeruginosa*; 7,66 mm ve en düşük *E. faecalis*; 5,33 mm olarak ölçülmüştür. Literatürde; farklı sıcaklık ve koşullarda kayma hareketi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.4.2 Bakterilerde 25 °C’de Normal ve KCl içeren LB ortamlarında yüzme hareketi

Tezimiz kapsamında yaptığımız yüzme hareketi 25 °C’de normal LB ve KCl içeren LB ortamlarda incelenmiştir. 25 °C LB ortamında en yüksek yüzme hareketi yapan bakteri *P. aeruginosa*; 32,33 mm ve en düşük *E. coli*; 6,33 mm olarak ölçülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada *P. aeruginosa* 57RP suşunun yüzme hareketi ile ilgili bir araştırma yapmışlardır. Bu çalışmada yüzme hareketi için % 1 Tripton, % 0,5 NaCl ve % 0,3 agar kullanılmıştır. Kültürler 16 saat 25 °C inkübe edilmiştir. *P. aeruginosa* 57RP suşunun yüzme hareketini gerçekleştirebildiği gösterilmiştir [63].

Tezimiz kapsamında yaptığımız 25 °C KCl içeren LB ortamında en yüksek yüzme hareketi yapan *P. aeruginosa*; 36 mm ve en düşük *E. coli*; 5 mm olarak ölçülmüştür. Literatürde; 25 °C normal ve KCl varlığında gerçekleştirilen yüzme hareketi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

5.4.3 Bakterilerde 30 °C ve 37 °C Normal ve KCl içeren LB ortamlarında titreme hareketi

Titreme hareketi 30 °C ve 37 °C’de normal LB ve KCl içeren ortamlarda incelenmiştir. 30 °C LB ortamında en yüksek titreme hareketini gerçekleştiren *P. aeruginosa*; 7,26 mm ve en düşük titreme hareketi yapan *E. faecalis*; 3,66 mm olarak ölçülmüştür. 37 °C LB ortamında en yüksek titreme hareketi yapan bakteri *P. aeruginosa*; 12 mm ve en düşük *E. faecalis*; 8 mm olarak ölçülmüştür. Yapılan bir çalışmada *P. aeruginosa*’nın titreme hareketi üzerine bir araştırma yapmışlar ve bu çalışmada *P. aeruginosa* türlerini kullanmışlar. Bakteriler % 1,5 agar içeren LB ortamında üretilmiştir. Petrilerde bulunan bakteriler 30 °C veya 37 °C’de inkübe edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda ise ışık mikroskobu ile *P. aeruginosa*’nın yaptığı titreme hareketinin morfolojik görüntüsünü incelemişler ve çaplarının ölçümünü 0,5-0,6 mm olarak bulmuşlar [57]. Tezimiz kapsamında yaptığımız çalışma ile bakterilerin titreme hareketini gerçekleştirebilmenin yanı sıra hareketlerinin çapları da ölçülerek bir bakterinin ne kadar hareket edebildiği hakkında fikir sahibi olunmuştur.

Tezimiz kapsamında yaptığımız 30 °C KCl içeren LB ortamında en yüksek titreme hareketi yapan *P. aeruginosa*; 10,33 mm ve en düşük *E. faecalis*; 7,33 mm olarak ölçülmüştür. 37 °C KCl içeren LB ortamında en yüksek titreme hareketi yapan *P. aeruginosa*; 9 mm ve en düşük *E. faecalis* ve *E. coli*; 7,33 mm olarak ölçülmüştür. Literatürde; farklı sıcaklık ve koşullarda titreme hareketi ile ilgili yapılmış benzer çalışmalara daha az rastlanmıştır.

Bütün bu çalışmalar göz önüne alındığı zaman biyofilm aktivitesine en iyi *P. aeruginosa* (1,861)'nin ve en az *E. coli* (0,225)'nin sahip olduğu gösterilmiştir. KCl, *P. aeruginosa*'nın biyofilm aktivitesini olumsuz yönde çok etkilememiştir. *P. aeruginosa*; stres koşulları ve farklı sıcaklık aralıklarında biyofilm oluşturabilmektedir. Prolin üretiminde ise en iyi aktivite gösteren *E. faecalis* ve en düşük ise *E. coli*'nin olduğu gözlenmiştir. *P. aeruginosa*'nın *E. faecalis* ve *E. coli*'ye göre daha az prolin aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

KCl, *E. faecalis*'in prolin aktivitesini olumsuz yönde etkilememiştir. Aynı şekilde *E. faecalis* KCl'li ortamda da prolin aktivitesi (12,172 U/ml) gösterebilmektedir. *P. aeruginosa* KCl'li ortamda az da olsa prolin aktivite (9,226 U/ml) gösterebildiği gözlenmiştir.

Proteaz üretiminde sadece 30 °C normal ve çalkalamalı ortamlarında *P. aeruginosa* en yüksek proteaz aktiviteyi gerçekleştirebildiği gözlenirken, diğer sıcaklıklar ve koşullarda *E. faecalis* ve *E. coli*'nin daha iyi proteaz aktivitesi gösterebildiği gözlenmiştir. Diğer koşullarda *P. aeruginosa*'nın daha az proteaz aktivitesi gerçekleştirebildiği gözlenmiştir. KCl varlığında, *E. faecalis* ve *E. coli*'nin proteaz aktivitesinde az bir değişiklik göstermesine rağmen proteaz aktiviteyi gerçekleştirebilmektedir. *P. aeruginosa*'nın tezimiz kapsamında yaptığımız çalışmada, KCl içeren ortamda *E. faecalis* (0,3447 U/ml) ve *E. coli* (0,9237 U/ml)'ye göre daha düşük proteaz aktivitesi gösterdiği (0,295 U/ml) görülmektedir.

Yaptığımız bu çalışmaların diğer araştırmacılar ve çalışmalar için yol gösterici olacağı kanısındayız.

6 KAYNAKÇALAR

- [1] <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAAF6AA849816B2EFC437EFF56034C308>(Ağustos 2016).
- [2] Filiz Demirhan, *Çoklu Dirençli Pseudomonas aeruginosa Klinik Suşlarında Biyofilm Formasyonu. Farmasötik Mikrobiyoloji Bitirme ödevi*, Erciyes Üniversitesi. 2013.
- [3] <http://eyemicrobiology.upmc.com/Images/Sub/PhotoGallery/Biofilms/PhotoPaerugBiofilm.jpg>(Ağustos 2016).
- [4] Emrah Yelboğa, *Biyofilmde 16s rDNA yöntemi kullanılarak mikroorganizma tayini. Yüksek Lisans Tezi*, İstanbul Teknik Üniversitesi, 2008.
- [5] H. Uludağ Altun ve B. Şener, *Biyofilm enfeksiyonları ve antibiyotik direnci, Hacettepe Tıp Derg*, 39 (2008) 82-88.
- [6] http://www.etkinilac.com/sunum/Prof.Dr.Hakan_Yardimci.pdf, (Ağustos 2016).
- [7] Ş. Barçın Öztürk, S. Sakarya, S. Öncü ve M. B. Ertuğrul, *Biyofilmler ve Yabancı Cisim Enfeksiyonları, Klinik Derg*, 21: 3 (2008) 79-86.
- [8] M. T. Madigan and J. M. Martinko, *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi*, Ankara, 2010, 618-619.
- [9] İ. Gün ve F. Y. Ekinici, *Biyofilmler: Yüzeylerdeki Mikrobiyal Yaşam, GIDA Derg*, 34: 3 (2009) 165-173.
- [10] https://www.google.com.tr/search?q=biofilm+olu%C5%99Fum+ve+mekanizmas%C4%B1&espv=2&biw=1024&bih=445&site=webhp&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwi2g8nj_4fRAhUILhoKHdMhAPwQ_AUIBigB#tbn=isch&q=biofilm+olu%C5%99Fum+&imgsrc=1_hvqbM30MTaoM%3A, (Ağustos 2016).
- [11] http://www.novakim.com/_FILES_/dosyalar/icerik/a54e837a-biyo_film_cid2000.pdf (Ağustos 2016).
- [12] <http://www.dunyagida.com.tr/haber/biyo-film-ve-gida-hijyeni-ynunden-onemi/4335> (Ağustos 2016).

- [13] F. H. Kural, R. N. Gürsoy, *Biyosüpfaktanlar*, **Hacettepe Univ. Eczacı. Fak. Derg**, 31: 1 (2011) 71-82.
- [14] M. Kahyaoğlu ve V. Konar, *Şeker Fabrikası Atık Maddeler Kullanılarak P. aeruginosa'dan Ramnolipit Biyosüpfaktanı Elde Edilmesi*, **Sci. Eng. J. Fırat Univ**, 18: 4 (2006) 493-498.
- [15] http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders_Notlari/Tablolarla_Biyokimya/TB-Enzimler.pdf(Ağustos 2016).
- [16] N. Tekin, A. Çöleri Cihan, Z. S. Takaç, C.Yağcı Tüzün, K.Tunç ve C. Çökmüş, *Alkaline protease production of Bacillus cohnii APT5*, **Türk. J. Biol**, 36 (2012) 430-440.
- [17] P. Wilson and Z. Remigio, *Production and characterisation of protease enzyme produced by a novel moderate thermophilic Bacterium(EP1001) isolated from an alkaline hot spring*, **J. Microbiol. Res**, 6: 27 (2012) 5542-5551.
- [18] Muhammet Afşin, *Katı- Faz Fermentasyon (Solid State Fermentation; SSF) Yöntemiyle Bacillus licheniformis ATCC 14580'den Proteaz Üretimi*, **Yüksek Lisans Tezi**, Dicle Üniversitesi, 2010.
- [19] P. Vijayaraghavan and S. G. Prakash Vincent, *A simple method for the detection of protease activity on agar plates using bromocresolgreendye*, **J. Biochem. Technol**, 4: 3 (2013) 628-630.
- [20] Ö. Eren Kıran, U. Çömlekçioğlu ve N. Dostbil, *Bazı Mikrobiyal Enzimler ve Endüstrideki Kullanım Alanları KSU*, **J. Sci. Eng**, 9: 1 (2006) 12-19.
- [21] Ş. Topal, C. Pembeci ve M. Borcaklı, *Türkiye'nin Tarımsal Mikoflorasının Endüstriyel Öneme Sahip Bazı Enzimatik Aktivitelerinin İncelenmesi-I: Amilaz, Proteaz, Lipaz*, **Türk. J. Biol**, 24 (2000) 79-93.
- [22] Ş. Bulut, *Teredinobacter turnirae'den Proteaz Üretiminde Farklı Stratejilerin Araştırılması*, **Sci. Eng. J. Fırat Univ**, 19: 4 (2007) 561-568.
- [23] <http://www.tarimziraat.com/hammaddeler/aminoasitler/prolin/>(Ağustos2016).
- [24] <http://www.turkcebilgi.com/uploads/baslik/thumb/737348.png>(Ağustos2016).
- [25] R. A. Bayat, Ş. Kuşvuran, Ş. Ellialtıoğlu ve A. Sülün Üstün, *Tuz Stresi Altındaki Genç Kabak (Cucurbita pepo L. ve C. moschata Poir.) Bitkilerine Uygulanan Prolin'in, Antioksidatif Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi*, **Türk Tarım ve Doğa Bil. Derg**, 1: 1 (2014) 25-33.

- [26] C. O'May and N. Tufenkji, *The Swarming Motility of Pseudomonas aeruginosa Is Blocked by Cranberry Proanthocyanidins and Other Tannin-Containing Materials*, **Appl. Environ. Microbiol**, 77: 9 (2011) 3061-3067.
- [27] T. Inoue, R. Shingaki and K. Fukui, *Inhibition of Swarming motility of Pseudomonas aeruginosa by branched-chain fatty acids*, **Fems Microbiol. Lett**, 281 (2008) 81-86.
- [28] Jessica Lee Hewitt, *A Comparative Study of Pseudomonas aeruginosa strains*, **Yüksek Lisans Tezi**, University of Notre Dame, United States of America. 2010.
- [29] J. D. Morris, J. L. Hewitt, L. G. Wolfe, N. G. Kamatkar, S. M. Chapman, J. M. Diener, A. J. Courtney, W. M. Leevy, and J. D. Shrout, *Imaging and Analysis of Pseudomonas aeruginosa Swarming and Rhamnolipid Production*, **Appl. Environ. Microbiol**, 77: 23 (2011) 8310-8317.
- [30] M. Morse, A. Huang, G. Li, M. R. Maxey and J. X. Tang, *Molecular Adsorption Steers Bacterial Swimming at the Air/Water Interface*, **Biophys. J**, 105 (2013) 21-28.
- [31] E. Lauga, *Bacterial Hydrodynamics*, **Annu. Rev. Fluid Mech**, 48 (2016) 105-30.
- [32] A. B. T. Semmler, C. B. Whitchurch, and J. S. Mattick, *A re-examination of twitching motility in Pseudomonas aeruginosa*, **Microbiol**, 145 (1999) 2863-2873.
- [33] L. L. Burrows, *Pseudomonas aeruginosa Twitching Motility: Type IV Pili in Action*, **Annu. Rev. Microbiol**, 66 (2012) 493-520.
- [34] Aylin (Şen) Akoğlu, *Çiğ Sütte Pseudomonas aeruginosa Sayılması için Yöntem Modifikasyonları Üzerine Çalışmalar*, **Yüksek Lisans Tezi**, Ankara Üniversitesi, 2006.
- [35] M. W. Calfee, J. P. Coleman and E. C. Pesci, *Interference with Pseudomonas quinolone signal synthesis inhibits virulence factor expression by Pseudomonas aeruginosa*, **Pnas**, 98: 20 (2001) 11633-11637.
- [36] *Pseudomonas- Mikrobiyoloji. Org* (Ağustos 2016).
- [37] https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1186%2F1471-2180-10-38/MediaObjects/12866_2009_994_MOESM1_ESM.jpeg (Ağustos 2016).
- [38] Dr. Seher Baştürk, *E. coli, Klebsiella pneumoniae, P. aeruginosa ve Acinetobacter baumannii suşlarında çeşitli Kinolon grubu Antibiyotiklerin Duyarlılıklarının Araştırılması*, **Uzmanlık Tezi**, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 2005.

- [39] <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/yonlendir.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EFD5EDD58C62859A98>(Eylül 2016).
- [40] <http://www.bacteriainphotos.com/light%20microscopy%20of%20bacteria/Escherichia%20coli%20microscopy.jpg> (Eylül 2016).
- [41] G. Kayaoğlu, G. Akca, H. Erten, *Evaluation of Antibacterial activities on Enterococcus faecalis of conventional Endodontic Disinfectants*, **Gazi Univ. Diş Hek. Fak. Derg.**, 27: 3 (2010). 175-179.
- [42] <http://www.bacteriainphotos.com/light%20microscopy%20of%20bacteria/Enterococcus%20faecalis%20microscopy.jpg> (Ağustos2016).
- [43] Nilgün Tekin, *Türkiye Kaynaklı Bacillus spp.'lerin Alkalen Proteaz Üretim Kapasiteleri ve Enzimlerin Kısmen Karakterizasyonu*, **Yüksek Lisans Tezi**, Ankara Üniversitesi, 2008.
- [44] K. Morihara and H. Tsuzuki, *Production of Protease and Elastase by Pseudomonas aeruginosa Strains Isolated from Patients*, **Am. Soc. Microbiol. Infect. Immun.**, 15: 3 (1977) 679-685.
- [45] A. Beatriz Vermelho, M. N. Leal Meirelles, A. Lopes, S. D. Gonçalves Petinate, A. A. Chaia and M. H. Branquinha, *Detection of Extracellular Proteases from Microorganisms on Agar Plates*, **Mem. Inst.**, 91: 6 (1996) 755-760.
- [46] N. Mahanta, A. Gupta and S. K. Khare, *Production of protease and lipase by solventtolerantPseudomonas aeruginosa PseA in solid-state fermentation using Jatropha curcas seed cake as substrate*, **Bioresource Technol**, 99 (2008) 1729-1735.
- [47] M. Demir, N. Cevahir, İ. Kaleli, U. Yıldırım, R. Şahin ve E. Çevik Tepeli, *Alt Solunum Örnekleri Ve Solunum Yolu Dışı Örneklerden İzole Edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarında Siderofor, Total Matriks Proteaz ve Elastaz AktivitesininAraştırılması*, **Mikrobiol. Bül**, 42 (2008) 197-208.
- [48] L. Izrael- Zivkovic, G. Gojgic-Cvijovic and I. Karadzic, *Isolation and partial characterization of protease from Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853*, **J. Serb. Soc.**, 75:8 (2010) 1041-1052.
- [49] M. Pereira Rodarte, D. R. Dias, D. Marques Vilela and R. Freitas Schwan, *Proteolytic activities of bacteria, yeasts and filamentous fungi isolated from coffee fruit (Coffea arabica L.)*, **Agr. Microbiol**, 33 (2011) 457-464.

- [50] H. S. Alnahdi, *Isolation and screening of extracellular proteases produced by new Isolated Bacillus sp.*, **J. Appl. Pharm. Sci**, 2: 9 (2012) 071-074.
- [51] G. S. Smita, P. Ray and S. Mohapatra, *Quantification and Optimisation of Bacterial Isolates for Production of Alkaline Protease*, **J. Exp. Biol. Sci**, 3:1 (2012) 180-186.
- [52] A. J. Saleem, *Relationship Study between the Alkaline Protease Production and the Growth Phases of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Patients*, **Adv. Microbiol**, 2 (2012) 354-357.
- [53] J. Vinoth, S. Murugan and C. Stalin, *Optimization of alkaline protease production and its fibrinolytic activity from the bacterium Pseudomonas fulorescens isolated from fish waste discharged soil*, **J. Biotechnol**, 13: 30 (2014) 3052-3060.
- [54] S. M. Vater, S. Weiße, S. Maleschlijski, C. Lotz, F. Koschitzki, T. Schwartz, U. Obst and A. Rosenhahn, *Swimming Behavior of Pseudomonas aeruginosa Studied by Holographic 3D Tracking*, **Plos**, 9: 1 (2014) 1-11.
- [55] J. Tremblay, A. P. Richardson, F. Lépine and E. Déziel, *Self-produced extracellular stimuli modulate the Pseudomonas aeruginosa swarming motility behaviour*, **Environ. Microbiol**, 9: 10 (2007) 2622-2630.
- [56] J. Tremblay and E. Déziel, *Improving the reproducibility of Pseudomonas aeruginosa swarming motility assays*, **J. Basic Microbiol**, 48 (2008) 509-515.
- [57] J. M. Swiecickia, O. Sliusarenko and D. B. Weibel, *From swimming to swarming: Escherichia coli cell motility in two-dimensions*, **Integr. Biol**, 5: 12 (2013) 1490-1494.
- [58] A. B. T. Semmler, C. B. Whitchurch and J. S. Mattick, *A re-examination of twitching motility in Pseudomonas aeruginosa*, **Microbiol**, 145 (1999) 2863-2873.
- [59] G. A. O'Toole and R. Kolter, *Flagellar and twitching motility are necessary for Pseudomonas aeruginosa biofilm development*, **Mol. Microbiol**, 30:2 (1998) 295-304.
- [60] R. M. Miller, A. P. Tomaras, A. P. Barker, D. R. Voelker, E. D. Chan, A. I. Vasil and M. L. Vasil, *Pseudomonas aeruginosa Twitching Motility-Mediated Chemotaxis towards Phospholipids and Fatty Acids: Specificity and Metabolic Requirements*, **J. Bacteriol**, 190: 11 (2008) 4038-4049.

- [61] L. R. R. Perez, M. C. N. Costa, A. L. P. Freitas and A. L. Barth, *Evaluation of Biofilm Production by Pseudomonas aeruginosa isolates recovered from Cystic fibrosis and non Cystic fibrosis Patients*, **J. Microbiol**, 42 (2011) 476-479.
- [62] E. Mataracı ve A. A. Gerçeker, *Çeşitli Dezenfektanların Minimum Bakterisidal Konsantrasyonlarının Pseudomonas aeruginosa'nın Biyofilm Kültürlerine Karşı Araştırılması*, **Ankem Derg**, 25: 4 (2011) 209-214.
- [63] K. Wolska, P. Szveda, K. Lada, E. Rytel, K. Gucwa, B. Kot and M. Piechota, *Motility activity, slime production, biofilm formation and genetic typing by ERIC-PCR for Pseudomonas aeruginosa strains isolated from bovine and other sources (human and environment)*, **J. Vet. Sci**, 17: 2 (2014) 321-329.
- [64] E. Deizel, Y. Comeau and R. Villemur, *Initiation of Biofilm Formation by Pseudomonas aeruginosa 57RP Correlates with Emergence of Hyperpiliated and Highly Adherent Phenotypic Variants Deficient in Swimming, Swarming, and Twitching Motilities*, **J. Bacteriol**, 183:4 (2001) 1195-1204.
- [65] S. Chow, K. Gu, L. Jiang and A. Nassour, *Salicylic Acid Affects Swimming, Twitching and Swarming Motility in Pseudomonas aeruginosa, resulting in Decreased Biofilm Formation*, **J. Exp. Microbiol. Immunol**, 15 (2011) 22-29.
- [66] M. Klausen, A. A. Jorgensen, M. Soren and T. N. Tim, *Involvement of bacterial migration in the development of complex multicellular structures in Pseudomonas aeruginosa biofilms*, **Mol. Microbiol**, 50: 1 (2003) 61-68.
- [67] I. Fidan, S. Yüksel ve F. Çetin Gürelik, *Koagülaz Negatif Stafilokok Suşlarında Biyofilm Oluşumu ve Siprofloksasinin Biyofilm Üzerine Etkisi*, **Türk. Mikrobiol. Cem Derg**, 35 (2005) 149-152.
- [68] E. Banin, M. L. Vasil and E. P. Greenberg, *Iron and Pseudomonas aeruginosa biofilm formation*, **Pnas**, 31: 102 (2005) 11076-11081.
- [69] A. Kannan and P. Gautam, *A quantitative study on the formation of Pseudomonas aeruginosa biofilm*, **Springer Plus**, 4 (2015) 379-381.
- [70] A. J. Delauney, D. P. S. Verma, *Proline biosynthesis and osmoregulation in plants*, **The Plant J**, 4: 2 (1993) 215-223.
- [71] R. V. Krishna, P. Beilstein and T. Leisinger, *Biosynthesis of Proline in Pseudomonas aeruginosa*, **Biochem. J**, 181 (1979) 223-230.
- [72] L. Merle, L. Soldati and T. Leisinger, *Regulation of Proline Catabolism in Pseudomonas aeruginosa PAO*, **Arch. Microbiol**, 132 (1982) 189-193.

- [73] B. Faiza, Z. Halima and K. Nour- Eddine, *Physiological responses of salt stress and osmoprotection with proline in two strains of lactococci isolated from camel's milk in Southern Algeria African*, **J. Biotechnol**, 10: 83 (2011) 19429-19435.
- [74] V. J Dominic, T. Jithin, *Effect of NaCl and Boron Toxicity on Proline Biosynthesis of Oryza sativa (Pokkali VTL-4)*, **Int. J. Life Sci. Biotechnol. Pharm. Res**, 1 (2012) 2250-3137.
- [75] T. Köhler, L. Kocjancic Curty, F. Barja, C. V. Delden and J. C. Pechere, *Swarming of Pseudomonas aeruginosa Is Dependent on Cell-to-Cell Signaling and Requires Flagella and Pili*, **J. Bacteriol**, 182: 21 (2000) 5990-5994.
- [76] W. Adamus-Bialek, A. Kubiak and G. Czerwonka, *Analysis of uropathogenic Escherichia coli biofilm formation under different growth conditions*, **Appl. Biochimica**, 62: 4 (2015) 765-771.
- [77] Nilgün Tekin, *Türkiye Kaynaklı Bacillus spp.'lerin Alkalen Proteaz Üretim Kapasiteleri ve Enzimlerin Kısmen Karakterizasyonu*, **Yüksek Lisans Tezi**, Ankara Üniversitesi, 2008.
- [78] K. Liburdi, I. Benucci and M. Esti, *Study of Two Different Immobilized Acid Proteases for Wine Application*, **Food Sci. Technol**, 24 (2010) 282-292.
- [79] W. Troll and J. Lindsley, *A Photometric Method For The Determination of Proline*, **J.Biol. Chem**, 215 (1954) 655-660.
- [80] S. Kanamarua, H. Kurazono, A. Terai, K. Mondend, H. Kumond, Y. Mizunoe, O. Ogawa and S. Yamamoto, *Increased biofilm formation in Escherichia coli isolated from acute prostatitis*, **Int. J.Antimicrob. Ag**, 28 (2006) 21-25.
- [81] D. G. Allison, B. Ruiz, C. San Jose, A. Jaspe and P. Gilbert, *Extracellular products as mediators of the formation and detachment of Pseudomonas fluorescens biofilms*, **Fems Microbiol. Lett**, 167 (1998) 179-184.
- [82] B. Maal Keivan, G. Emtiazian and I. Nahvi, *Production of alkaline protease by Bacillus cereus and Bacillus polymixa in new industrial culture mediums and its immobilization*, **J. Microbiol. Res**, 3: 9 (2009) 491-497.
- [83] V. Maghsoodi, A. Kazemi, P. Nahid, S. Yaghmaei and M. A. Sabzevari, *Alkaline protease production by immobilized cells using B. Licheniformis*. **Scientia Iranica**, 20: 3 (2013) 607-610.
- [84] F. S. Josephine, V. S. Ramya, N. Devi, S. B. Ganapa, K. G. Siddalingeshwara, N. Venugopa and T. Vishwanatha, *Isolation, production and characterization of protease from Bacillus Sp isolated from soil sample*, **J. Microbiol. Biotechnol. Res**, 2: 1 (2012) 163-168.

7 ÖZ GEÇMİŞ

Ad Soyad :Cennet Canan KARADERİ
Doğum Yeri ve Tarihi :AKÇADAĞ 05/02/ 1988
Adres :Yakınca Mah. Hafız Çıkmaz Sok. No:30
MALATYA/YEŞİLYURT
E-Posta :ckaraderi@gmail.com
Lisans :Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2009-2014)
Yüksek Lisans: :Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı,
Moleküler Biyoloji (2014-2016)

BİLİMSEL FAALİYETLER

- 1) Bakteriyel Polimerler (Seminer-09.06.2015)
- 2) Hüseyin KAHRAMAN, Cennet Canan KARADERİ* *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *E. faecalis*'in hareketlerinin araştırılması, s: 355, 23. Ulusal Biyoloji Kongresi 05-09 Eylül 2016, **GAZİANTEP**
- 3) Hüseyin KAHRAMAN*, Cennet Canan KARADERİ, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *E. faecalis*'in Tuz Stersi ve Farklı Havalandırma Koşullarında Biofilm Üretimi, s: 149, 23. Ulusal Biyoloji Kongresi, 05-09 Eylül 2016, **GAZİANTEP**