

ORGANİK ALT TAŞLAR ÜZERİNE DEPOLANMIŞ GERMANYUM NANO TABAKASININ YÜZEY VE ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Zerrin PAT *

Alınma: 31.03.2016; düzeltme:02.05.2016; kabul: 27.07.2016

Öz: Germanyum elementi katı hal elektronik aygıt üretimi ve antibakteriyel uygulamalar için oldukça önemli bir elementtir. Elektronik cihazlar ve optoelektronik aygıtlarda oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Polietilentereftalat (PET) malzemeler ise yüksek geçirgenliğe sahip organik alt taş malzemelerden birisidir. PET malzemeler eğilebilir ve bükülebilir elektronik aygıtlarda kullanılmaktadır. Bu çalışmada PET üzerine, nano tabaka halinde kaplanmış germanyum elementinin antibakteriyel ve yüzey özellikleri incelenmiştir. Germanyum elementi başarılı bir şekilde PET malzeme üzerinde biriktirilebilmiş ve antibakteriyel özellikleri gram pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) ve gram negatif *Escherichia coli* (ATCC11775) bakterilerine karşı test edilmiştir. Üretilen germanyum kaplamanın kalınlığı yaklaşık 200 nm ve tanecik boyutu ise yaklaşık 40 nm civarındadır. Üretilen yapıların kristal yönelimleri (022), (133) ve (224) olarak belirlenmiştir. XRD ve EDX analizlerine göre, depolanmış germanyum elementinin; PET’i oluşturan yapılar ile reaksiyona girmediği ve safsızlık atomları içermediği görülmüştür. Ayrıca germanyum kaplanmış PET malzemenin; atomik kuvvet mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu görüntüleri ile yüzey analizleri yapılmıştır. Bunlara ilave olarak yine germanyum kaplı PET malzemenin yüzey pürüzlülüğü, tane yükseklik dağılımı, temas açısı değerleri, geçirgenlik ve soğurma analizleri de bu çalışma kapsamında belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Germanyum, Polietilentereftalat, Antibakteriyel, Yüzey Özellikleri

An Investigation of Antibacterial and Surface Properties of the Germanium Nano Layer Deposited on Organic Substrates

Abstract: The element germanium is an important material for the solid state device fabrication and antibacterial applications. It has been widely used for the optoelectronic applications. Polyethylene terephthalate (PET) materials are organic substrate materials with high transparency. It is used to in flexible and bendable electronic device in present and future. In this study, antibacterial and surface properties of the germanium layer deposition with nano thicknesses were investigated. Germanium material was successfully deposited on PET substrate and antibacterial properties against to gram positive *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) and gram negative *Escherichia coli* (ATCC11775) bacterias were tested. Germanium layer thickness was measured as 200 nm and grain size was calculated about 40 nm. Crystal formations of the deposited layer were determined as (022), (133) and (224) formation. According to XRD and EDX analysis, it found that deposited germanium layer was not containing any impurity and chemical bonds to atoms of PET substrate. Moreover, surface analysis of deposited PET sample was realized by scanning electron microscopy and atomic force microscopy. Furthermore, surface roughness, grain height distribution, contact angle, transparency and absorbance values were determined in this paper.

Keywords: Germanium, Polyethylene terephthalate, Antibacterial, Surface Properties

* Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
İletişim Yazarı: Zerrin Pat (zerrin.pat@bilecik.edu.tr)

1. GİRİŞ

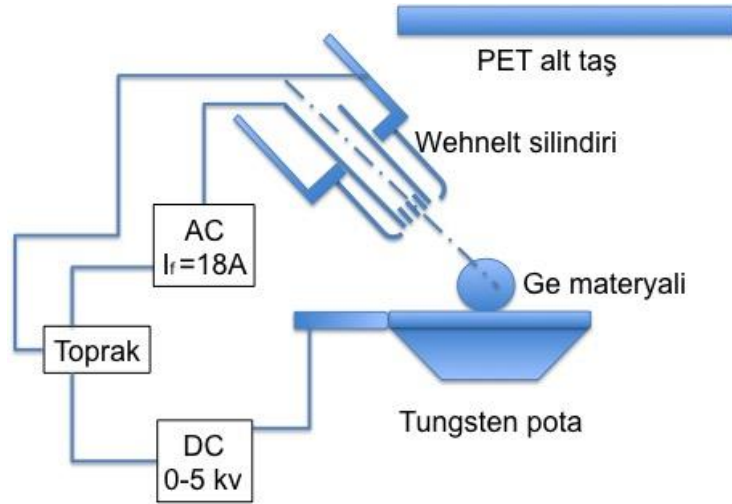
Nanoteknoloji başta modern malzeme bilimi olmak üzere pek çok bilim dalı için oldukça önemli ve değerlidir. Her geçen gün nanoteknolojinin kazandırdığı avantajlar ve yeni uygulama alanlarının sayısı hızla artmaktadır. Nanoteknoloji; yeni nesil iplik bileşiklerinde, gıda işlemede ve tarım alanları dahil (Sahoo, 2010, Sirelkhatim, et al 1988) ileri medikal ve biyoteknoloji gibi pek çok alanda karşımıza çıkmakta ve yeni çalışma alanları oluşturmaktadır. Bu teknoloji ile elde edilen yapıların boyutlarının, 100 nm'den küçük olması gerekmektedir (Sirelkhatim, et al 1988). Nano boyuttaki malzemeler fizikokimyasal ve biyolojik olarak çok farklı özellikler sergilemektedir. Bu özelliklerden bir tanesi de nano yapıların antibakteriyel özellikleridir. Medikal ürünlerin yada aletlerin topolojik ve kimyasal karakteristikleri; mikroorganizmaların tutunmaları için oldukça önemlidir. Çünkü mükemmel düz yüzeylerde, eğrisel yüzeylere göre çok daha az bakteri çoğalması meydana gelmektedir (Seil and Webster, 2012). Bakterilerin bir yüzeyde çoğalıp çoğalmaması ile yüzey alanı arasında da ilişki kurulmuştur (Knetsch and Koole, 2011). Mikroorganizma sayısı yüzey alanı başına meydana gelmektedir (Knetsch and Koole, 2011). Yüzey alanı ise yüzey pürüzlülüğü ile ilişkilendirilebilir. Yüzey pürüzlülüğü önemli bir malzeme özelliğidir ve çeşitli analiz cihazları ile ölçülebilmektedir. Bir malzemenin yüzey yapısının iyileştirilebilmesi için çeşitli kaplama yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler geçici olabildiği gibi plazma destekli yöntemle0r gibi kalıcı ve uzun ömürlü de olabilmektedir (Boks et al 2008, Oliveria et al 2001). Malzemelerin yüzey özellikleri bu kaplama yöntemleri kullanılarak değiştirilebilmektedir. Bu kaplama ve plazma yöntemlerden bir tanesi de termiyonik vakum ark (TVA) yöntemidir. Bu çalışmada TVA tekniği kullanılarak; yarı iletken teknolojisinin en popüler malzemelerinden birisi olan Germanyum elementi; esnek alt taş bir malzeme olan Polietilentereftalat (PET) üzerine nano yapılar halinde kaplanmıştır. Üretilen malzemenin antibakteriyel özelliği ise gram pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) ve gram negatif *Escherichia coli* (ATCC11775) bakterilerine karşı test edilmiştir. Antibakteriyel etkinlik genellikle kaplamaların yüzey özellikleri ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle üretilen malzemenin bazı yüzey özellikleri de aydınlatılmaya çalışılmıştır. Çalışmada ayrıca, üretilen yapıların doğrulamaları ve kristal yapıları da belirlenmiştir. Bu yayın kapsamında ilk defa termiyonik vakum ark kaplama tekniği ile üretilen Germanyum kaplı esnek alt taşların bu özellikleri ortaya çıkartılmıştır.

Germanyum ve bileşikleri 1970'lerden beri beslenmede ve sağlık alanlarında çeşitli şekillerde kullanılmaktadır. Germanyumun, antimikrobiyal, antitümör bağışıklık sistemi düzenleyici, oksijen zenginleştirici, serbest radikal oluşumunu azaltıcı, interferon tetikleyici, makrofajlar ve T- hücreleri için baskılayıcı, doğal öldürücü ve bazı hücre türlerinde büyüme durdurma ve engelleme özellikleri çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Ayrıca Germanyumun kandan hızla atılabilmesi ve hücrelerde birikmemesi germanyumu daha da önemli kılmaktadır (Sudha and Vinodhini 2011, Chiu et al 2003, Khalid 2014, Amtul et al 2007). Germanyum ve bileşikleri bu özellikleri sebebiyle, başta sağlık sektörü için malzeme üreten pek çok araştırmacının dikkatini çekmeyi başarmıştır. Bakteriler ise farklı yollarla taşınabilen ve pek çok ortamda yaşayabilen canlılardır. Örneğin tıbbi aletler, hastane ortamları, yiyecekler, ameliyat ekipmanları, diş implant ve malzemeleri, atıksular, evsel atıklar bakterilerin bulunabildiği ve rahatça çoğalabildiği ortamlardan bazılarıdır (Yasuyuki et al 2010). Seçilen, bakteriler ise sebep olduğu enfeksiyonlar nedeniyle klinik uygulamalarda ciddi sorunlara yol açabilmektedirler. Avrupa da stafilokok türlerinin sebep olduğu enfeksiyonlar %12.3 oranıyla ikinci sırada yer almaktadır. Ayrıca bazı zatürre ve deri hastalıklarına da stafilokok türlerinin sebep olduğu bilinmektedir (ECDC 2011, Campanile et al 2015). *E.coli* bakterisi ise üzerinde en fazla çalışılan bakteri türlerinden bir tanesidir. *E.coli* gibi koliform bakteriler, genellikle dünyada su kalitesini izlemek için belirteç olarak kullanılırlar (Kay et al 2008, Xinpeng et al 2015). Ayrıca *E.coli* %80-90 oranıyla, dünyada tedavisi milyarlarca dolara mal olan, kadın ve erkeklerde en sık karşılaşılan hastalıklardan birisi olan idrar yolu enfeksiyonlarının en önemli nedeni arasında

gösterilmektedir (Chomarat 2000, Foxmann 1990, Reygaert and Jusufi 2013, Moormandi and Dabaghzadeh 2015).

2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Esnek alt taş üzerine nano tabakalı germanyum kaplamalar için yüksek vakum şartlarında, *termiyonik vakum ark* (TVA) tekniği kullanılmıştır. TVA tekniği Şekil.1’de gösterilmektedir. TVA tekniğinde esnek alt taş malzeme olarak polietilentereflat (PET) kullanılmıştır. TVA tekniği yüksek vakum şartlarında saf materyal plazması üreten ve bu üretilen plazma ile kaplamaların yapılabildiği bir sistemdir. TVA tekniği ile üretilen ince filmler; oldukça hızlı ve iyi kalitede üretilebilirler. Bu filmler, sıkı yapıda, homojen, düşük pürüzlülükte ve oldukça iyi bir yüzey tutunmasına sahiptirler (Ozen et al 2015_1, Senay et al 2016, Pat et al 2016, ozen et al 2015_2). Nano kalınlıklı germanyum elementi kaplamaları, 18 A’lık filaman akımında 500 V hızlandırma potansiyeli kullanılarak yapılmıştır. Germanyum elemeti Alfa Aesar firmasından %99,999 saflığında parça olarak alınmıştır. Germanyum nano kalınlıklı tabakanın kalınlığı yaklaşık 200 nm’dir. Bu değer kalınlık ölçer cihazı ile depolama esnasında ölçülmüştür.



Şekil 1:
TVA kaplama sisteminin şematik gösterimi

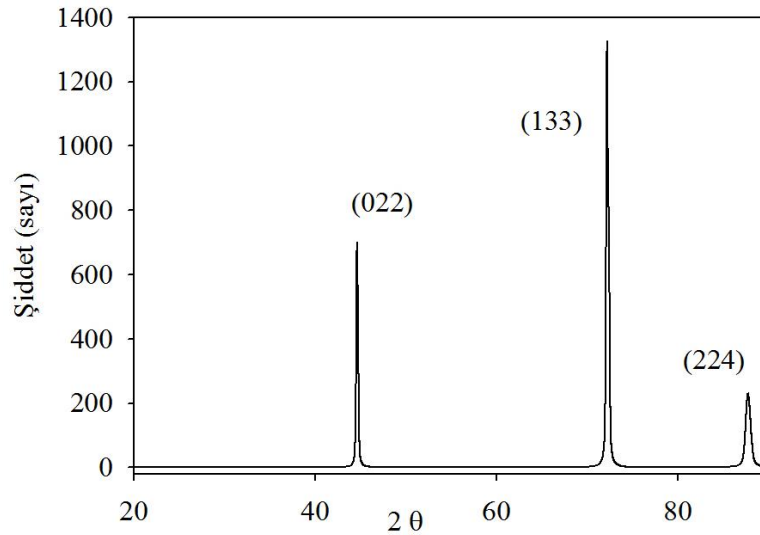
Germanyum kaplanmış PET malzemenin; mikroyapı ve yüzey özellikleri de bu çalışma kapsamında araştırılmıştır. Mikroyapı analizleri için X-ışınları kullanılmıştır. X-ışınları analizi cihazı ile PET üzerine kaplanmış germanyumun kristal yönelimleri ve tane boyutları belirlenmiştir. Yüzey analizleri için ise taramalı elektron mikroskobu ve atomik kuvvet mikroskobu (AKM) kullanılmıştır. Bu mikroskoplar ile kaplamanın; bileşimi, yüzey pürüzlülüğü, çarpıklık ve basıklık değerleri ve tanecik yükseklik dağılımları belirlenmiştir. Saf su için yüzeyin temas açısı değerinin belirlenmesinde, optik tensiyometre cihazı ve kaplanmış numunenin soğurma ve geçirgenlik analizleri için ise UV-Vis spektrofotometre cihazı kullanılmıştır.

Antibakteriyel test çalışmalarında ise; gram pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) ve gram negatif *Escherichia coli* (ATCC11775) bakterileri kullanılmıştır. Bakteri test çalışmasında Sharifahmadian ve arkadaşlarının çalışması örneklerimize modifiye edilerek uygulanmıştır (Sharifahmadian et al 2013). Bu amaçla ilk olarak 2x2cm boyutlarında hazırlanan, kaplama yapılmamış ve germanyum ile kaplanmış (kontrol ve deney grupları) PET malzemeler %96’lık etanol ile sterilize edilmiş ve daha sonra steril saf su ile yıkanarak aseptik koşullarda steril petriyer içine aktarılıp çalışma anına kadar saklanmıştır. Test bakterileri ise koyun kanlı agar ve eosin metilen blue agar ortamlarında 37°C’de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Katı

besiyerlerinde inkübasyonu tamamlanan bakteri kültürlerinden 10^7 CFU/mL olacak şekilde hazırlanan test solüsyonlarından alınan 100 μ l'lik örnekler; steril petriler içerisindeki kontrol ve deney grupları üzerine yayılmıştır. Temas süresinin etkisinin görülebilmesi için bakteriler test ortamlarında farklı sürelerde (1 ve 3saat) bekletilmiştir. 37°C'de 1 ve 3 saat sürelerle bekletilen herbir örnek üzerindeki bakterileri geri almak için ise 10 mL steril serum fizyolojik çözeltisi yıkama solüsyonu olarak kullanılmıştır. Koyun kanlı agar ve eosin metilen blue agar katı besiyerlerine yıkama solüsyonlarından alınan 100 μ l'lik örneklerin ekimi yapılarak 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonundaki kontrol ve deney gruplarına ait koloni fotoğrafları Şekil 9 ve Şekil 10'da gösterilmektedir.

3. DENEYSEL SONUÇLAR

Elde edilen nano kalınlıklı germanyum kaplamaların X-ışınları analizi için PANanalytical marka Empyrean model cihaz kullanılmıştır. Numunelerin XRD grafiği Şekil.2'de verilmiştir. Elde edilen XRD grafiğinin, 98-007-6146 referans kodlu numune ile yüksek derecede uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Bu referans koduna göre kaplanmış olduğumuz germanyum elementinin kristal sisteminin kübik olduğu görülmüştür. Uzay grubu ise Fd-3m'dir. Uzay grup numarası 227'dir. a, b ve c sabitlerinin değeri 5.6580 ve açı ise 90°'dir. XRD grafiğine göre germanyum elementi (022), (133) ve (224) yönünde büyüme göstermiştir.



Şekil 2:
Nano tabakalı Germanyum kaplanmış PET örneğin XRD grafiği

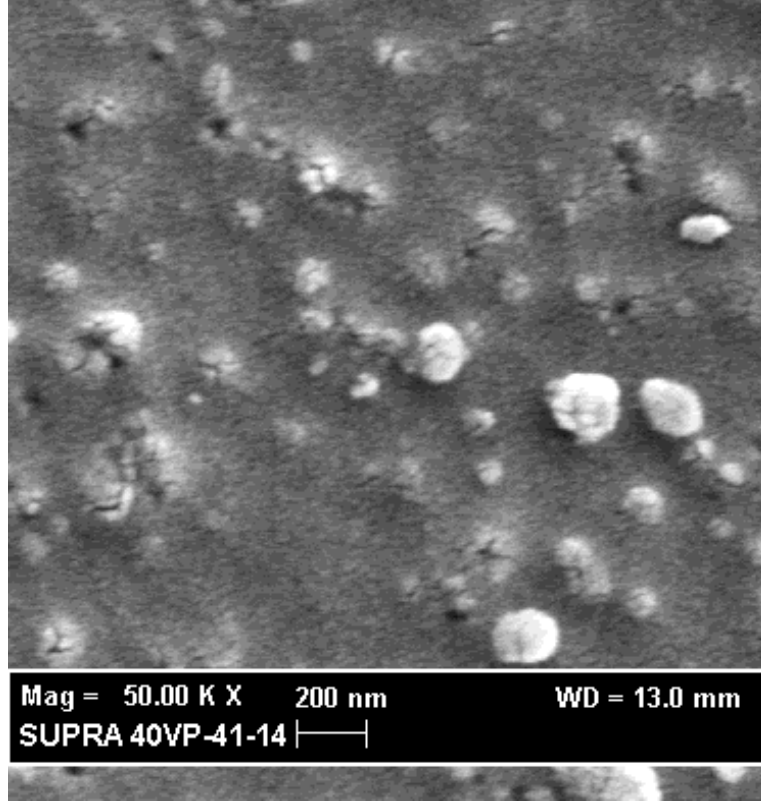
Debye-Scherrer bağıntısı kullanılarak germanyum kaplanmış PET numenlerinin sahip olduğu tanecik boyutları hesaplanmıştır. X-ışın kırınım desenleri kullanılarak bu bağıntı yardımı ile yapıdaki kristal bilgilerine ulaşılmıştır. Ayrıca bu bağıntı sayesinde elde edilen ortalama kristal boyutu, üst değerlere karşılık gelmektedir. Debye-Scherrer bağıntısı nano boyuttaki tanecikler için daha doğru sonuçlar vermektedir. Debye-Scherrer bağıntısı aşağıda gösterilmiştir (Zalesak et al 2016, Joshi et al 2016).

$$D = K\lambda/\beta\cos\theta \quad (1)$$

Bu eşitlikteki D tanecik boyutunu göstermektedir. K ise yapı faktörüdür ve değeri 0,94'tür. λ dalga boyuna karşılık gelir ve değeri 1.5406 Å'tur. β yarı pik genişliğini, θ ise kırınım açısını

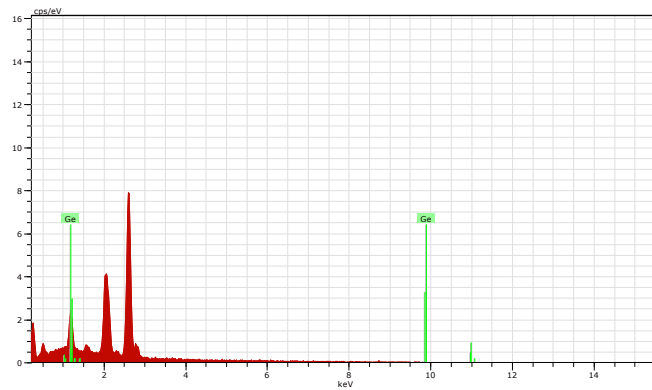
göstermektedir. Çalışmada (022) piki için hesaplanan tane boyutunun değeri yaklaşık 40 nm'dir.

Numunelerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri ise Zeiss Supra 40VP cihazı ile 50.000 büyütmede alınmıştır. Elektron mikroskobu görüntüsü Şekil.3'de gösterilmektedir. Şekil.3'ün görüntü ölçeği 200 nm'dir. PET alt taş üzerindeki meydana gelen kristal büyümeleri kolaylıkla görülebilmektedir. Bu sonuç XRD analiz sonuçları ile de uyumludur. Enerji dağılımlı X-ışın (EDX) analizleri ile germanyum atomunun %100 oranında yapılarda olduğu görülmüştür. EDX grafiği ise Şekil 4'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre nano kalınlıklı tabakanın PET alt taş ile reaksiyona girmediği ve safsızlık atomları içermediği sonucuna varılmıştır.



Şekil 3:

50.000 büyütmede taramalı elektron mikroskobu görüntüsü

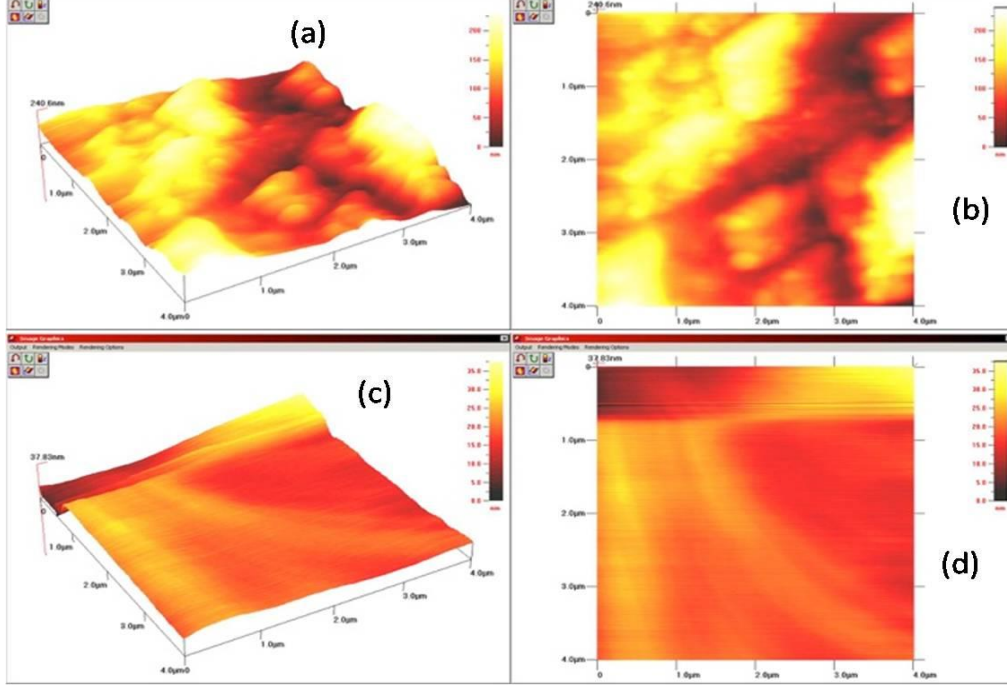


Şekil 4:

Germanyum kaplanmış PET numunesinin EDX grafiği

Ambios Q-Scope atomik kuvvet mikroskobu kullanılarak, 4µm x 4µm'lik alanda temassız moda alınan iki boyutlu ve üç boyutlu görüntüler Şekil 5.'de gösterilmiştir. Şekil 5(a) ve (b) de

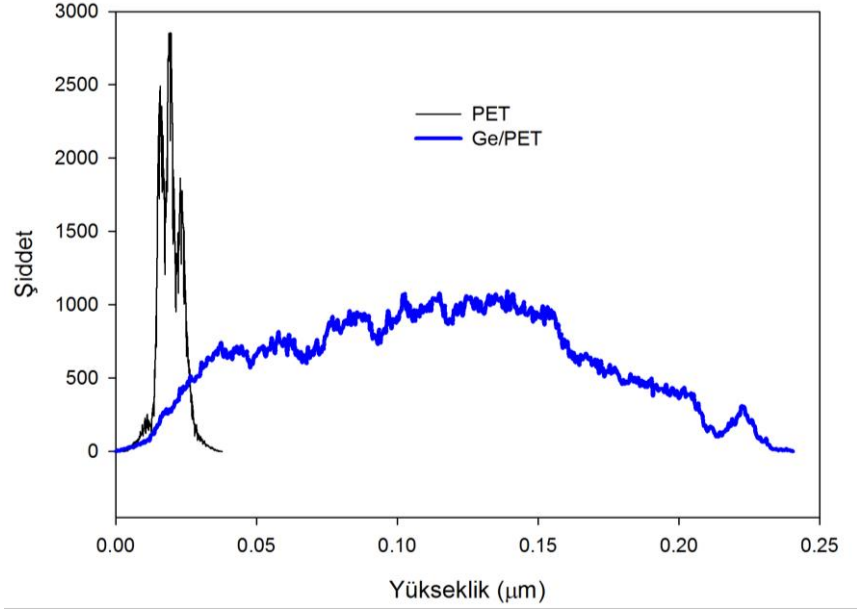
germanyum kaplanmış PET numunesinin, Şekil 5 (c) ve (d)'de ise kaplamasız PET numunesinin iki boyutlu ve üç boyutlu AKM görüntüleri verilmiştir. Görüntülerden de anlaşılacağı gibi PET üzerindeki germanyum kaplamaları kolaylıkla görülebilmektedir. Görüntüleri oluşturabilmek için NSC16 tip kullanılmıştır. Tarama frekansı ise 5 Hz'dir. Elde edilen kaplanmamış ve kaplanmış PET numunelerinin görüntüleri yayınlarda verilen görüntülere benzemektedir (Pour et al 2015).



Şekil 5:

Germanyum kaplanmış PET numunesinin (a ve b) ve kaplanmamış PET numunesinin (c ve d) AKM görüntüleri

AKM cihazı kullanılarak yüzey yapılarının yükseklik dağılımları da elde edilebilmektedir. Germanyum kaplanmış PET ve kaplanmamış PET numunelerin yükseklik dağılım grafikleri Şekil 6'da gösterilmiştir. Grafikten de görülebildiği gibi yükseklik dağılım fonksiyonunun maksimum değeri, germanyum kaplanmış numune için 113 nm, kaplanmamış PET numunesi için ise 19 nm civarındadır.



Şekil 6:
Germanyum kaplanmış PET numunesinin ve kaplanmamış PET numunesinin tane yüksekliği dağılımı

AKM cihazı ile yapılan yüzey analizlerinin sonucu Tablo 1 'de özetlenmiştir. Kaplanmış ve kaplanmamış numunenin yüzey pürüzlülük değerleri sırasıyla 43 nm ve 4 nm'dir. Ortalama yükseklik değerleri ise 113 nm ve 19 nm olarak ölçülmüştür. Çarpıklık değerleri 0.072 ve 0.087, basıklık değerleri ise 0.779 ve 0.706 nm olarak belirlenmiştir.

Tablo 1: Kaplanmamış PET ve kaplanmış PET'in yüzey analiz sonuçları

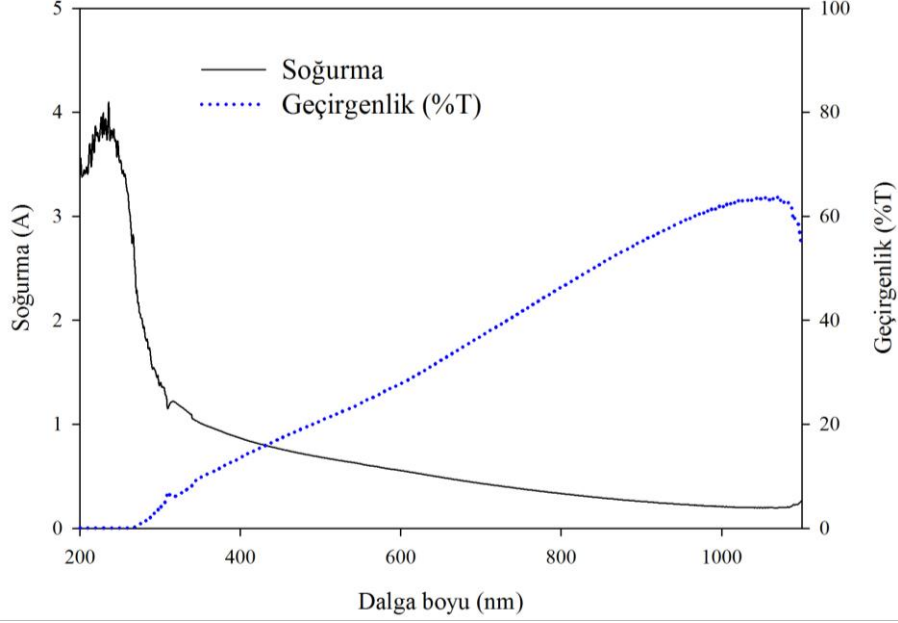
	Yüzey pürüzlülüğü (nm)	Ortalama Yükseklik (nm)	Çarpıklık (S_{sk})	Basıklık (S_{kr})
Ge/PET	43	113	0.072	0.779
PET	4	19	0.087	0.706

Kaplanmış ve kaplanmamış PET yüzeylerinin, saf su için temas açısı değerleri Attention Teta Lite marka optik tensiyometre cihazı ile ölçülmüştür. Elde edilen görüntüler Şekil 7'de gösterilmiştir. Boş PET için elde edilen temas açısı değeri, Pour et al 2015'de gösterilen değer ile uyumludur. Kaplama sonucunda temas açısı değerinin arttığı görülmüştür. Kaplama sonucunda yüzeyin hidrofobik karakteri artmış ve bu nedenle sıvı ortamlarda bulunan bakterilerin yüzeyde tutunması zorlaşmıştır.



Şekil 7:
Germanyum kaplanmış ve kaplanmamış PET numunesinin temas açıları

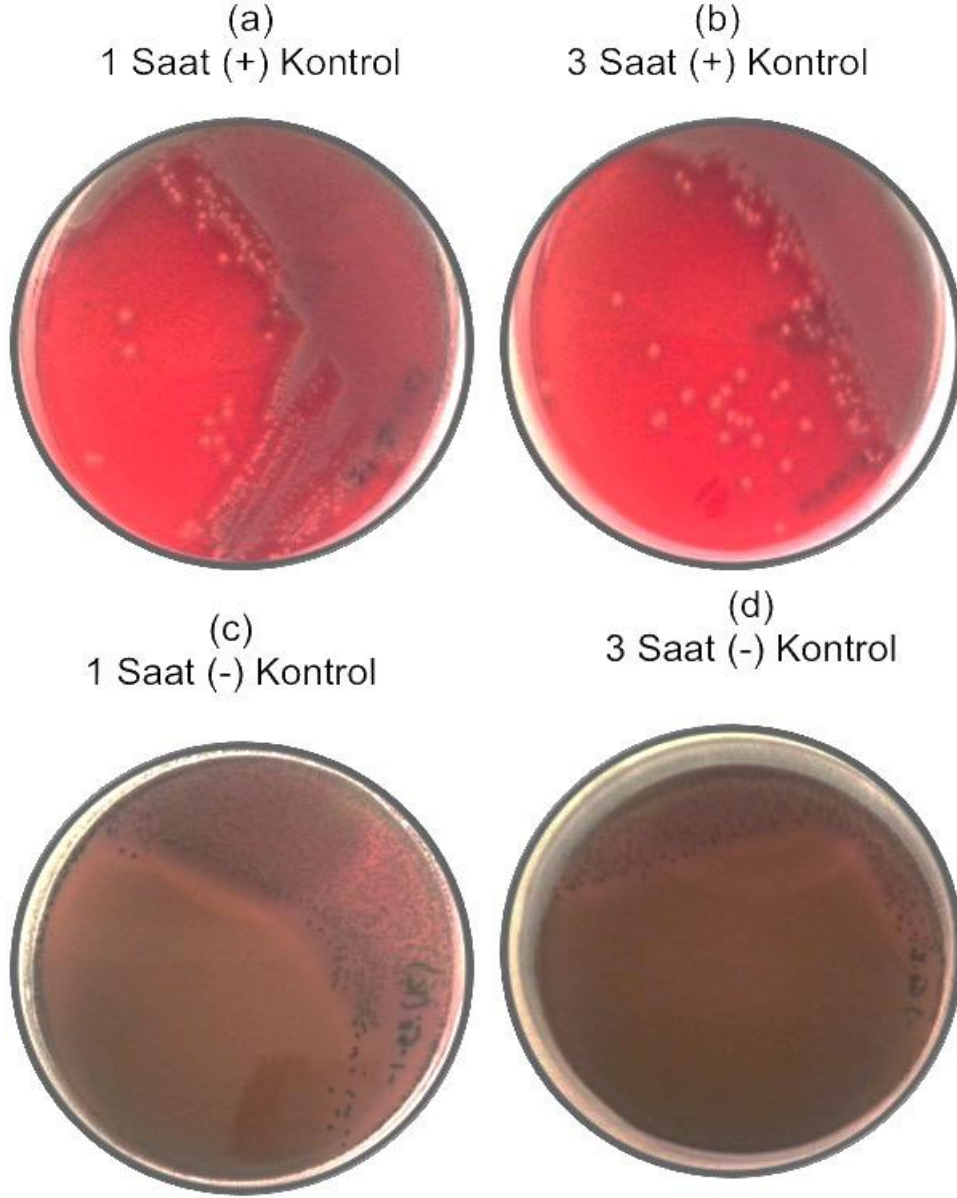
Germanyum kaplanmış PET numunesinin Unico UV-Vis spektrofotometre cihazı ile elde edilen soğurma ve geçirgenlik grafiği Şekil 8 'de gösterilmiştir. Geçirgenlik grafiğinden görüleceği gibi görünür bölgeden uzun dalga boylarında geçirgenlik %60 civarındadır. Dalga boyları kısaltıkça, geçirgenlik değeri düşmekte, soğurma ise artmaktadır..



Şekil 8:

Germanyum kaplanmış PET numunesinin soğurma ve geçirgenlik grafiği

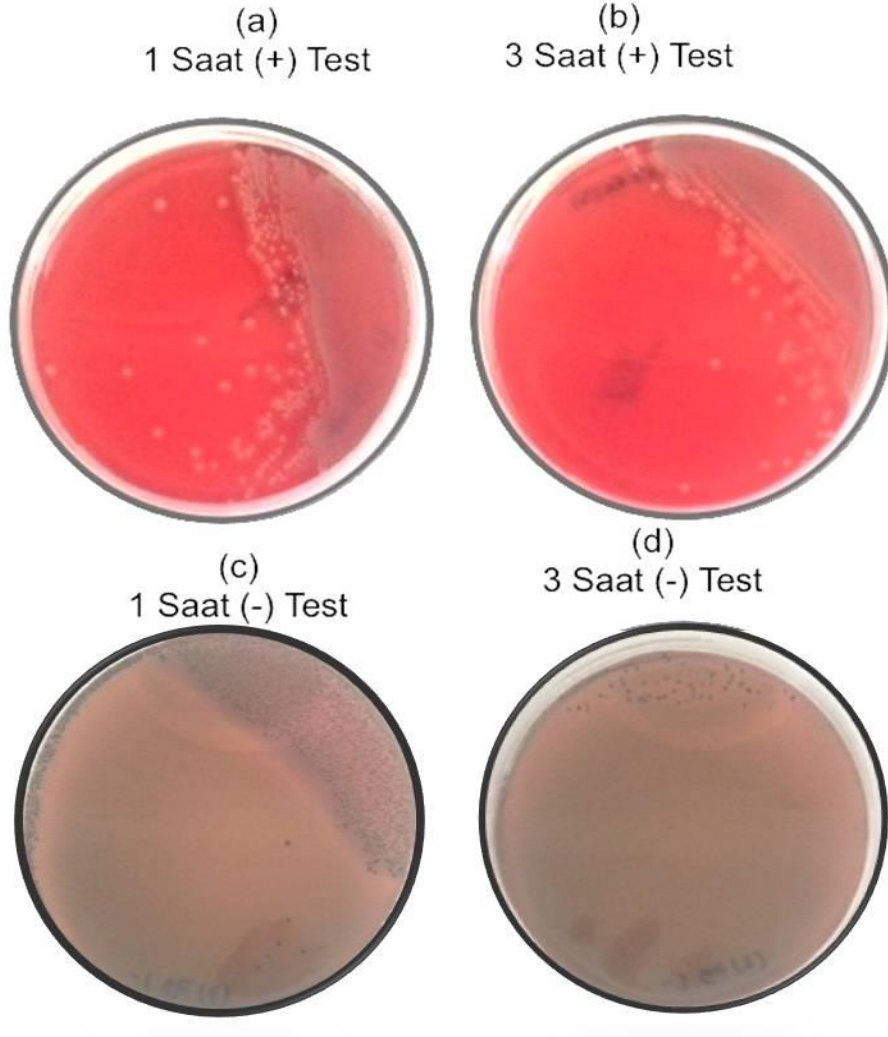
Şekil.9'da ise kontrol grubu PET örneklerinin gram pozitif ve gram negatif bakterilerle 1 ve 3 saat temas süresi sonundaki koloni fotoğrafları görülmektedir. Fotoğraflardan da açıkça görülebildiği gibi PET malzemeler üzerinde 1 ve 3 saat temas süresi sonunda her iki bakteri türü de gelişmesini sürdürebilmiştir. PET malzemenin bakteri gelişimi üzerine herhangi bir olumsuz etkisi görülememektedir.



Şekil 9:

Germanyum kaplanmamış PET numunesinin kontrol grubunun sonuçları

Germanyum ile kaplanmış PET örneklerinin gram pozitif ve gram negatif bakterilerle 1 ve 3 saat temas süresi sonundaki koloni fotoğrafları ise Şekil 10'da gösterilmiştir. Şekil 9 ve Şekil 10 karşılaştırıldığında özellikle gram negatif bakteride kontrol grubuna göre koloni sayısındaki azalış açıkça görülmektedir. Ayrıca germanyum ile temas süresi arttıkça koloni sayısı da azalmıştır. Elde edilen bu sonuç literatürde belirtildiği germanyum elementinin anti bakteriyel özellikte olduğu sonucu ile uyum içerisindedir.



Şekil 10:

Germanyum kaplanmış PET numunesinin gram (+) ve gram (-) bakteriler ile test sonuçları

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürdeki çalışmalarda germanyum bileşiklerinin antibakteriyel özellikleri bilinmektedir. Bu çalışmada ise, literatürdeki çalışmalardan farklı olarak ilk defa nano tabakalı germanyum kaplamalar PET alt taşlar üzerine üretilmiş ve bu kaplamanın mikro yapı, yüzey ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada germanyum nano tabakası PET yüzey üzerine, TVA tekniği kullanılarak başarılı bir şekilde yaklaşık 200 nm kalınlığında depolanmıştır. Bu depolanan germanyum elementinin kristal yönelimlerinin (022), (133) ve (224) oldukları gözlenmiştir. Depolanan germanyumun tane boyutları ise, Debye-Scherrer denklemi kullanılarak yapılan hesaplama sonucunda yaklaşık 40 nm olarak bulunmuştur. Elde edilen bakteri test sonuçlarına göre germanyum elementinin gram negatif bakteri için daha etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Amtul, Z., Follmer, C., Mahboob, S., Mazhar, M., Khan, K. M., Siddiqui, R. A., Muhammad S., Kazmi S.A., Choudhary, M. I. (2007) Germa- γ -lactones as novel inhibitors of bacterial urease activity. *Biochemical and biophysical research communications*, 356(2), 457-463. doi:10.1016/j.bbrc.2007.02.158.
2. Boks, N. P., Norde, W., van der Mei, H. C., Busscher, H. J. (2008) Forces involved in bacterial adhesion to hydrophilic and hydrophobic surfaces. *Microbiology*, 154 (10), 3122-3133. doi: 10.1099/mic.0.2008/018622-0.
3. Campanile F, Bongiorno D, Perez M , Mongelli G , Sessa L , Benvenuto S, Gona S, AMCLI -S. aureus Survey Participants, Varaldo P.E. , Stefani S. (2015) Epidemiology of Staphylococcus aureus in Italy: First nationwide survey 2012, *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 3, 247–254. doi: 10.1016/j.jgar.2015.06.006.
4. Chiu, S. J., Lee, M. Y., Chou, W. G., & Lin, L. Y. (2003) Germanium oxide enhances the radiosensitivity of cells, *Radiation Research*, 159(3), 391-400.
5. Chomarat, M. (2000) Resistance of bacteria in urinary tract infections, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16, 483-487. doi: 10.1016/S0924-8579(00)00281-8.
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Annual epidemiological report. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data.
7. Foxman, B. (1990) Recurring urinary tract infection: incidence and risk factors, *American Journal of Public Health*, 80, 331-333. doi: 10.2105/AJPH.80.3.331.
8. Joshi, L. P., Risal, L., Shrestha, S. P. (2016) Effects of Concentration of Triethanolamine and Annealing Temperature on Band Gap of Thin Film of Tin Sulphide Prepared by Chemical Bath Deposition Method, *Journal of Nepal Physical Society*, 3(1), 1-5.
9. Kay, D., Crowther, J., Stapleton, C.M., Wyer, M.D., Fewtrell, L., Edwards, A., Francis, C.A., McDonald, A.T., Watkins, J., Wilkinson, J. (2008) Faecal indicator organism concentrations in sewage and treated effluents, *Water Research*, 42, 442–454. doi: 10.1016/j.watres.2007.07.036.
10. Khalid, A. Q., AlJohny, B. O., Wainwright, M. (2014) Antibacterial effects of pure metals on clinically important bacteria growing in planktonic cultures and biofilms. *African Journal of Microbiology Research*, 8(10), 1080-1088. doi: 10.5897/AJMR2013.5893.
11. Knetsch, M. L., Koole, L. H. (2011) New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. *Polymers*, 3(1), 340-366. doi:10.3390/polym3010340.
12. Noormandi, A., Dabaghzadeh F. (2015) Effects of green tea on Escherichia coli as a uropathogen, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5, 15-20. doi: 10.1016/j.jtcme.2014.10.005.
13. Oliveira, R., Azeredo, J., Teixeira, P., & Fonseca, A. P. (2001) The role of hydrophobicity in bacterial adhesion, *Hydrophobicity and Adhesion*, 11-16.
14. Özen, S., Şenay, V., Pat, S., Korkmaz, Ş. (2015) AlGaAs film growth using thermionic vacuum arc (TVA) and determination of its physical properties, *The European Physical Journal Plus*, 130(6), 1-6. doi: 10.1140/epjp/j2015-15108-3.

15. Özen, S., Şenay, V., Pat, S., Korkmaz, Ş. (2015) Investigation on the morphology and surface free energy of the AlGa_N thin film, *Journal of Alloys and Compounds*, 653, 162-167. doi: 10.1016/j.jallcom.2015.08.225.
16. Pat, S., Korkmaz, Ş., Özen, S., Şenay, V. (2016) Heavily carbon doped GaAs nanocrystalline thin film deposited by thermionic vacuum arc method, *Journal of Alloys and Compounds*, 657, 711-716. doi:10.1016/j.jallcom.2015.10.150.
17. Pour, S. N., Ghugare, S. V., Wiens, R., Gough, K., Liu, S. (2015) Controlled in situ formation of polyacrylamide hydrogel on PET surface via SI-ARGET-ATRP for wound dressings, *Applied Surface Science*, 349, 695-704. doi:10.1016/j.apsusc.2015.04.181.
18. Reygaert, W., Jusufi I. (2013) Green tea as an effective antimicrobial for urinary tract infections caused by. *Escherichia coli*, *Frontiers in Microbiology*, 4, 162, 1-4. doi: 10.3389/fmicb.2013.00162.
19. Sahoo, S. (2010) Socio-ethical issues and nanotechnology development: perspectives from India, 10th IEEE Conference on Nanotechnology (IEEE-NANO), 1205-1210. doi: 10.1109/NANO.2010.5697887.
20. Seil, J. T., Webster, T. J. (2012) Antimicrobial applications of nanotechnology: methods and literature. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 2767-2781. doi: 0.2147/IJN.S24805
21. Şenay, V., Özen, S., Pat, S., & Korkmaz, Ş. (2016) Optical, morphological and mechanical properties of an Al–Al₂O₃ nanocomposite thin film grown by thermionic vacuum arc. *Optik-International Journal for Light and Electron Optics*, 127(6), 3383-3387. doi: 10.1016/j.ijleo.2015.12.109.
22. Sharifahmadian, O., Salimijazi, H.R., Fathi, M.H., Mostaghimi, J. and Pershin, L. (2013) Study of the Antibacterial Behavior of Wire Arc Sprayed Copper Coatings, *Journal of Thermal Spray Technology*, 22, 371-379. doi: 10.1007/s11666-012-9842-2.
23. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan H., Mohamad, D. (2015) Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism, *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219-242. doi: 10.1007/s40820-015-0040-x.
24. Sudha, S., & Vinodhini, J. (2011) Antibacterial properties of organic germanium against some human pathogens. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 854-859.
25. Xinpeng, L., Xinkai, X., Richard, M. P. (2015) A study of the surface charging properties of a standard strain of *Escherichia coli* (ATCC 11775) in aqueous solutions, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 135, 811–816. doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.08.048.
26. Yasuyuki, M., Kunihiro, K., Kurissery, S., Kanavillil, N., Sato, Y., Kikuchi, Y. (2010) Antibacterial properties of nine pure metals: a laboratory study using *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Biofouling*, 26(7), 851-858. doi: 10.1080/08927014.2010.527000.
27. Zalesak, J., Bartosik, M., Daniel, R., Mitterer, C., Krywka, C., Kiener, D., Keckes, J. (2016) Cross-sectional structure-property relationship in a graded nanocrystalline Ti 1– x Al x N thin film, *Acta Materialia*, 102, 212-219. doi:10.1016/j.actamat.2015.09.007.