

ÖZET

Mikroorganizmalar pek çok tür ve çeşitliliğe sahiptirler. Her sene çok sayıda insan ve hayvan, bakteriyel ya da fungal şikayetlerden dolayı tedavi gereksinimi duymaktadır. *Staphylococcus saprophyticus* (*S.saprophyticus*) gibi patojen mikroorganizmalar özellikle insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Bunun dışında *Alcaligenes faecalis* (*A. faecalis*), *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*) ve *Corynebacterium jeikeium* (*C.jeikeium*) gibi fırsatçı patojenlerin de her geçen gün insan sağlığı üzerindeki negatif etkileri artmaktadır.

Mikroorganizmaların tanımlanması, hastalıkların tanısı, ilaç-gıda kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi, gıda zehirlenmeleri, yeni antimikrobiyal koruyucuların geliştirilmesi gibi konularda önem arz etmektedir. Günümüzdeki çalışmalar hastalıklara doğrudan sebep olan patojen mikroorganizmalara yoğunlaşırken; fırsatçı patojenlerle ilgili literatürde daha az sayıda çalışma bulunmaktadır.

A. faecalis ve *E. faecalis* doğal olarak insan bağırsağında bulunur. Son dönemlerde ise, antibiyotiklere karşı dirençli hale gelmiştir. *A. faecalis*, *S. Saprophyticus*'ta olduğu gibi özellikle idrar yolu enfeksiyonları ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarda yaygındır. *C. jeikeium*, insan derisinde bulunur ve özellikle bağışıklığı zayıflamış hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Patojenlerin sebep olduğu bu hastalıkların tedavi stratejisinin belirlenmesi ve benzer klinik tablo gösteren bakteriler için doğru tedavinin seçilmesi amacıyla mikroorganizmaların tanımlanması günümüzde insan, halk ve çevre sağlığı için önemini sürdürmektedir.

Geleneksel tanı yöntemleri çeşitli dezavantajlar taşıdığından, alternatif yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebepten dolayı, bakterilerin ayrıştırılması ve tanımlanmasında Raman Spektroskopisi gibi yöntemler hakkında araştırmalar artış göstermektedir ancak; günümüze kadar spektrumları literatüre kazandırılmamış çok sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasıyla, literatürde ilk kez olmak üzere, son yıllarda özellikle artan direnç mekanizmaları ve hastane enfeksiyonlarında rastlanmalarıyla dikkat çeken ve benzer patojeniteye sahip, *A. faecalis*, *S.saprophyticus*, *E.faecalis* ve *C.jeikeium* bakterilerinin kemometrik yöntemlerle Raman spektrumları üzerinden ayrıştırılmasına olanak sağlayan istatistiksel modeller geliştirilmiştir. Saf bakteriler üzerinden elde edilen Raman spektral veriler

kullanılarak, PLS-DA ve PCA modelleri geliştirilmiş ve modellerin ayrıştırma yeteneği test edilmiştir. Spektral veriler test edilen her numune için parmak izi niteliği taşıdığından dolayı, mikroorganizmaların bu yöntemle ayrıştırılması, kısmi olarak daha pahalı olan, nükleik asit temelli identifikasyon yöntemlerinde olduğu gibi daha spesifik sonuçların elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Elde edilen modeller *A. faecalis*, *S. saprophyticus*, *E. faecalis* ve *C. jeikeium* olmak üzere tüm bakteri gruplarını cins-tür özellikleri bakımından birbirinden ayrıştırılmasına olanak sağlarken, Gram (-) *A. faecalis* ve Gram (+) *S. saprophyticus*, *E. faecalis*, *C. jeikeium* bakterilerinin hücre duvar yapısı farklılıklarına göre de gruplandığı görülmüştür. Böylelikle insan kaynaklı hata payı az, düşük maliyetli ve ek ekipman gerektirmeyen Raman spektroskopisi yönteminin geleneksel identifikasyon yöntemlerine tamamlayıcı nitelikte bir yöntem olarak kullanılabilirliği gösterilmiştir.

ABSTRACT

Microorganisms exhibit a wide range of species and diversity. Every year, numerous humans and animals require treatment due to bacterial or fungal complaints. Pathogenic microorganisms, such as *Staphylococcus saprophyticus* (*S. saprophyticus*), adversely affect human health. Additionally, the negative impacts of opportunistic pathogens like *Alcaligenes faecalis* (*A. faecalis*), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*), and *Corynebacterium jeikeium* (*C. jeikeium*) on human health are increasing daily.

The identification of microorganisms is crucial for diagnosing diseases, determining sources of drug and food contamination, preventing food poisoning, and developing new antimicrobial preservatives. Current research focuses primarily on pathogenic microorganisms that directly cause diseases, while fewer studies in the literature address opportunistic pathogens.

A. faecalis and *E. faecalis* are naturally found in the human intestine but have recently developed resistance to antibiotics. *A. faecalis*, like *S. saprophyticus*, is particularly common in urinary tract infections and hospital-acquired infections. *C. jeikeium*, present on human skin, can cause severe infections, especially in immunocompromised patients. Identifying microorganisms remains vital for human, public, and environmental health to determine treatment strategies for these pathogen-induced diseases and to select appropriate treatments for bacteria presenting similar clinical symptoms.

Traditional diagnostic methods have various disadvantages, necessitating the development of alternative approaches. Consequently, there has been increased research into methods such as Raman Spectroscopy for differentiating and identifying bacteria. However, many microorganisms' spectra have yet to be documented in the literature. This thesis aims, for the first time in the literature, to develop statistical models that enable the differentiation of *A. faecalis*, *S. saprophyticus*, *E. faecalis*, and *C. jeikeium*, bacteria noted for their increasing resistance mechanisms and prevalence in hospital infections in recent years, using chemometric methods based on their Raman spectra.

Using Raman spectral data obtained from pure bacterial samples, PLS-DA and PCA models were developed, and the differentiation capability of these models was tested. Since the spectral data serve as a fingerprint for each tested sample, differentiating microorganisms using this method allows for more specific results akin to nucleic acid-based identification methods, which are relatively more expensive. The developed models successfully distinguished all bacterial groups, *A. faecalis*, *S. saprophyticus*, *E. faecalis*, and *C. jeikeium*, at the genus-species level and grouped Gram-negative *A. faecalis* and Gram-positive *S. saprophyticus*, *E. faecalis*, and *C. jeikeium* according to cell wall structure differences. Thus, it has been demonstrated that the Raman spectroscopy method, with minimal human error, low cost, and no additional equipment requirement, can complement traditional identification methods.