



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KOZMETİK VE DERMOKOZMETİKLERDE SIK
KULLANILAN KİMYASAL KORUYUCULARIN CİLT
FLORASINDA BULUNAN BAZI PATOJEN
MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNDEKİ ANTİBİYOTİK
DİRENÇ GELİŞİMİ VE İN VİVO *GALLERIA MELLONELLA*
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ahmet Serhat AYVAZ

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nurten ALTANLAR

ANKARA

2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOZMETİK VE DERMOKOZMETİKLERDE SIK
KULLANILAN KİMYASAL KORUYUCULARIN CİLT
FLORASINDA BULUNAN BAZI PATOJEN
MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNDEKİ ANTİBİYOTİK
DİRENÇ GELİŞİMİ VE İN VİVO *GALLERIA MELLONELLA*
ÜZERİNE ETKİLERİ

Ahmet Serhat AYVAZ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurten ALTANLAR

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün
TYL-2022-2588 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
2024

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Kozmetik ve Dermokozmetiklerde Sık Kullanılan Kimyasal Koruyucuların Cilt Florasında Bulunan Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antibiyotik Direnç Gelişimi ve İn vivo *Galleria Mellonella* Üzerine Etkileri” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ahmet Serhat AYVAZ

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında
Ahmet Serhat AYVAZ tarafından hazırlanan “Kozmetik ve Dermokozmetiklerde Sık
Kullanılan Kimyasal Koruyucuların Cilt Florasında Bulunan Bazı Patojen
Mikroorganizmalar Üzerindeki Antibiyotik Direnç Gelişimi ve İn vivo *Galleria Mellonella*
Üzerine Etkileri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak
OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

Prof. Dr. Nurten ALTANLAR
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nilgün ÜNAL
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Üye

Doç Dr. Banu KAŞKATEPE
Ankara Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Kozmetik ve Dermokozmetiklerde Sık Kullanılan Kimyasal Koruyucuların Cilt Florasında Bulunan Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antibiyotik Direnç Gelişimi ve İn vivo *Galleria Mellonella* Üzerine Etkileri

Kozmetik ve dermokozmetik ürünlerde mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla, geniş antimikrobiyal spektruma sahip kimyasal koruyucu madde kullanımının, mikroorganizmaların yaşayabilmesi için uygun bir ortam olan ve birçok mikroorganizmayı bünyesinde barındırabilen insan cilt florasının doğal dengesini bozarak, mikroorganizmaların ilaçlara karşı direnç geliştirebileceği ve bu gelişimin İn vivo *Galleria mellonella* üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışmada, insan cilt florasında geçici veya kalıcı olarak bulunabilen ve patojenik etkiye sahip olabilen *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans*, birçok kozmetik ve dermokozmetik ürünün formülasyonlarında sıklıkla tercih edilen fenoksietanol, benzil alkol, potasyum sorbat, sodyum benzoat ve metil paraben kullanılmıştır. Koruyuculara belirli sürelerde maruz bırakılan mikroorganizmaların, maruziyet öncesi ve sonrasında belirlenen Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değerleri karşılaştırılarak, koruyucuların mikroorganizmalar üzerindeki antibiyotik direnç gelişimine etkileri in vitro koşullarda incelenmiştir. Daha sonra maruziyet geçiren mikroorganizmaların hazırlanan inokulumları, İn vivo *Galleria mellonella* model organizmasına enjekte edilerek, belirli periyotlarda yapılan kontrollerinde hayatta kalma oranları gözlemlenmiş ve bu oranlar ile İstatistiksel analiz yapılmıştır. Deney kontrolü için antimikrobiyal ajan olarak vankomisin, sefepim ve flukanazol kullanılmıştır. Çalışma sonucunda mikroorganizmaların, koruyucu maruziyeti sonrası antibiyotiklere karşı oluşturdıkları direnç gelişimlerinde farklılıklar gözlemlenmiş, fakat bu farklılıkların *Galleria mellonella* model organizmasını İstatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilemediği gözlemlenmiştir. Çalışmamızda elde edilen bilimsel verilerin, kozmetik ve dermokozmetik ürün kullanımının, insan cilt florası üzerindeki olası etkilerinin araştırılacağı diğer çalışmalara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Antibiyotik direnci, Cilt florası, *G. mellonella*, Koruyucu

SUMMARY

The Effects of Chemical Preservatives Commonly Used in Cosmetics and Dermocosmetics on Antibiotic Resistance Development of Some Pathogenic Microorganisms Found in Skin Flora and In vivo on *Galleria Mellonella*

In order to prevent microbial contamination in cosmetic and dermocosmetic products, the use of chemical preservatives with a broad antimicrobial spectrum is believed to disturb the natural balance of the human skin flora, which provides a suitable environment for microorganisms to thrive. This disruption may lead to the development of resistance by microorganisms against drugs, and it is hypothesized that this development could be effective In vivo on *G. mellonella*. In the study, microorganisms that can be transient or permanent in the human skin flora and may have pathogenic effects, such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*, were exposed to commonly preferred formulations in many cosmetic and dermocosmetic products, including phenoxyethanol, benzyl alcohol, potassium sorbate, sodium benzoate, and methyl paraben. The effects of these preservatives on microbial resistance to antibiotics were examined in vitro by comparing Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values before and after exposure. Subsequently, inoculums of microorganisms undergoing exposure were injected into the In vivo *G. mellonella* model organism, and survival rates were observed at specific intervals with statistical analysis performed on these rates. Vancomycin, cefepime, and fluconazole were used as antimicrobial agents for experimental control. Results of the study indicated differences in microbial resistance development to antibiotics after preservative exposure; however, these differences were observed not to have a statistically significant impact on the *G. mellonella* model organism. It is believed that the scientific data obtained from our study could contribute to further research on the potential effects of cosmetic and dermocosmetic product use on the human skin flora.

Key words: Antibiotic resistance, Skin flora, *G. mellonella*, Preservatives

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Kozmetik ve Dermokozmetikler	2
1.1.1. Tarihçe	3
1.1.2. Yasal Açıdan Kozmetik ve Dermokozmetikler	5
1.1.3. Sınıflandırma	6
1.2. Mikrobiyal Kontaminasyon	8
1.3. Koruyucu Madde Kullanımı	12
1.3.1. Koruyucu Aktivitesini Etkileyen Faktörler	14
1.3.2. Kullanımına İzin Verilen Koruyucular	17
1.3.3. Çalışmada Kullanılan Koruyucular	18
1.3.3.1. Fenoksietanol	18
1.3.3.2. Benzil Alkol	20
1.3.3.3. Potasyum Sorbat	21
1.3.3.4. Sodyum Benzoat	22
1.3.3.5. Metil Paraben	23
1.4. İnsan Cilt Florası	26
1.4.1. Cilt Florasında Bulunan Mikroorganizmalar	27
1.4.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma Türleri	30
1.4.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	30
1.4.2.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	32
1.4.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
1.4.2.4. <i>Candida albicans</i>	34
1.5. Antibiyotik Direnci	35
1.6. Patojenite ve Virülans	40
1.6.1. <i>Galleria mellonella</i>	41
2. GEREÇ VE YÖNTEM	42
2.1. Gereç	42
2.1.1. Sarf Malzemeler	42
2.1.2. Cihazlar	42
2.1.3. Mikroorganizmalar ve <i>Galleria mellonella</i>	42
2.1.4. Besiyerleri ve Besinler	42
2.1.5. Kimyasal Koruyucular	43
2.1.6. Antibiyotikler	44
2.2. Yöntem	45
2.2.1. Parametrelerin Optimizasyonu	45
2.2.1.1. Besiyeri ve Besin Hazırlama	45
2.2.1.2. Mikroorganizma ve <i>Galleria mellonella</i> Üretimi	46

2.2.1.3. Koruyucu Stok Çözeltileri	47
2.2.1.4. Antibiyotik Stok Çözeltileri	48
2.2.2. İn vitro Testler	49
2.2.2.1. Maruziyet Öncesi Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	49
2.2.2.1.1. Antibiyotiklerin Mikroorganizmalar İçin Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Testi	50
2.2.2.1.2. Koruyucuların Mikroorganizmalar İçin Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Testi	51
2.2.2.2. Maruziyet Testi	52
2.2.2.3. Maruziyet Sonrası Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	54
2.2.3. İn vivo Testler	55
2.2.3.1. Deney Hazırlığı	55
2.2.3.2. Enjeksiyon	56
2.2.3.3. Letal Doz Çalışması	57
2.2.3.4. Maruziyet Sonrası <i>G. mellonella</i> Çalışması	58
2.2.4. İstatistiksel Analiz	61
3. BULGULAR	62
3.1. İn vitro Test Sonuçları	62
3.1.1. Maruziyet Öncesi Yapılan Test Sonuçları	62
3.1.1. Maruziyet Sonrası Yapılan Test Sonuçları	64
3.2. İn vivo Test Sonuçları	68
3.2.1. Letal Doz Çalışması Sonuçları	68
3.2.2. Maruziyet Sonrası <i>G. mellonella</i> Çalışması Sonuçları	71
3.2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	71
3.2.2.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	74
3.2.2.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	77
3.2.2.4. <i>Candida albicans</i>	80
4. TARTIŞMA	84
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	97
KAYNAKLAR	98

ÖNSÖZ

Kozmetik ürünler çok uzun yıllardır üretilmekte ve insanlar tarafından sıklıkla tüketilmektedir. Zamanla farklılaşan kültürel ve ekonomik koşullar, ilerleyen bilim ve teknolojiyle birlikte, tüketicilerin daha etkili ve verimli ürün beklentileri üzerine araştırmacılar da biyolojik aktiviteleri olan ve etken madde içeren formülasyonlar keşfetmeye başlamışlardır. Dermokozmetik olarak adlandırılan bu yeni nesil ürünler, alışılmışın dışında birçok farklı etki gösterdiği için piyasada yerini bulmuş ve insanlar tarafından yoğun bir şekilde tüketilmeye başlanmıştır. Tüketicie ulaştırılmadan önce birçok rutin teste tabi tutulan bu ürünlerin, içeriğindeki madde güvenilirlikleri ve bu maddelerin insan cildi üzerindeki etkilerinin araştırılmaya açık olduğu gözlemlenmiştir.

Kozmetik ve dermokozmetik ürünlerde mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla, geniş antimikrobiyal spektruma sahip kimyasal koruyucu madde kullanımının, mikroorganizmaların yaşayabilmesi için uygun bir ortam olan ve birçok mikroorganizmayı bünyesinde barındıran insan cilt florasının doğal dengesini bozarak, mikroorganizmaların ilaçlara karşı direnç geliştirmesine ve canlı organizma üzerinde farklı etkiler göstermesine sebep olabileceği düşünülerek bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada elde edilen bilimsel verilerin ilgili konular üzerine yapılacak diğer çalışmalara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasını destekledikleri için Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim

Bu tez çalışmasının bütün aşamalarında desteğini esirgemedi, fikir ve görüşlerime değer vererek, bana olan güvenini her zaman hissettiren değerli hocam ve danışmanım sayın Prof. Dr. Nurten ALTANLAR'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım ve birçok farklı konuda yanımda olarak, büyük emek ve katkıları ile bizleri yetiştiren saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Gürol EMEKDAŞ'a, Prof. Dr. Murat ERTÜRK'e ve Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmama her açıdan destek sağlayarak anlayışları, samimiyetleri, bilgi ve birikimleri ile motivasyonumu hep yüksek tutan değerli dostlarım, hocalarım Doç. Dr. Engin KAPLAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Çınar SEVERCAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Gülay DİLEK'e, Arş.

Gör. Selen Duygu ÇEÇEN'e, Arş. Gör. Merve ÇETİN'e ve Arş. Gör. Duygu BERDİ'ye teşekkür ederim.

Bu tez çalışması kapsamında laboratuvar imkanları, gereç, yöntem ve İstatistiksel analiz katkıları için kıymetli hocam Doç. Dr. Şükran ÖZTÜRK'e, bana güvenerek eğitim sürecimde desteklerini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Banu KAŞKATEPE'ye teşekkür ederim.

Materyal, metot ve mikroorganizma standart suşları ile çalışmama destek veren Ankara Üniversitesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ailesine ve Antimikrop Ar-Ge ve Biyosidal Analiz Merkezi ailesine teşekkür ederim.

Bal peteği güvelerinin temini için Zongulak ili içerisindeki Ilıkso'dan Sadullah Bey ve kıymetli eşine, Kozlu'dan Eren Arıcılığa ve Karaman'dan Şendoğan Bey'e teşekkür ederim.

Son olarak, hiçbir zaman desteklerini esirgemedi, her geçen gün bir öncekinden daha da fazlasıyla, fedakarlığı, saygıyı, sevgiyi ve tüm güzellikleri, karşılıksız bir şekilde tüm kalbiyle bana hissettiren başta babam, annem ve ablam olmak üzere tüm aileme, isimlerini bu sayfaya sığdıramayacağım tüm dostlarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde işareti
<	Küçüktür işareti
±	Artı, eksi işareti
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AHA	Alfa hidroksi asit
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
ATP	Adenozin trifosfat
CAS	ABD Kimyasal Özetler Servisi
cc	Santimetre küp
CFU	Koloni oluşturan birim
cm	Santimetre
CMC	Kronik mukokutanöz kandidiyaz
df	Serbestlik derecesi
ETS	Elektron taşıma zinciri
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
g	Gram
GMP	İyi Üretim Uygulamaları
INCI	Kozmetik İçeriklerin Uluslararası İsimlendirmesi
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
kg	Kilogram
L	Litre
mg	Miligram
MHB	Mueller hinton broth
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyon
mL	Mililitre
MRSA	Metisiline dirençli <i>S. aureus</i>
MÖ	Milattan önce
PBS	Fosfat tamponlu salin

pH	Potansiyel hidrojen
PVC	Polivinil klorür
s/y	Yağ içinde su
SDA	Sabouraud dextrose agar
Sig.	Anlamlılık
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı
TİTCK	Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
TSA	Trypticasein soy agar
TSS	Toksik şok sendromu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
y/s	Su içinde yağ



ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kozmetik ve dermokozmetiklerde bulunabilen bazı patojen mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıklar	11
Şekil 1.2. Koruyucu etkinliğine katkıda bulunabilecek bileşenler	14
Şekil 1.3. Fenoksietanol molekül çizimi	18
Şekil 1.4. Benzil alkol molekül çizimi	20
Şekil 1.5. Potasyum sorbat molekül çizimi	21
Şekil 1.6. Sodyum benzoat molekül çizimi	22
Şekil 1.7. Metil paraben molekül çizimi	23
Şekil 2.1. Besiyerleri	43
Şekil 2.2. Besin malzemeleri	43
Şekil 2.3. Kimyasal koruyucular	44
Şekil 2.4. Antibiyotikler	44
Şekil 2.5. Çalışmaya hazır hale getirilmiş besiyerleri	45
Şekil 2.6. <i>G. mellonella</i> besini	45
Şekil 2.7. Mikroorganizma standart suşlarının kültürleri	46
Şekil 2.8. Cam kavanoz içerisinde <i>G. mellonella</i> larvalarının üretimi	47
Şekil 2.9. Üretim aşamasında bazı <i>G. mellonella</i> larvaları	47
Şekil 2.10. Koruyucuların stok çözeltileri	48
Şekil 2.11. Antibiyotiklerin stok çözeltileri	48
Şekil 2.12. Mikroorganizma inokulumu hazırlanması	49
Şekil 2.13. Antibiyotiklerin mikroorganizmalar için MİK testi	51
Şekil 2.14. Koruyucuların mikroorganizmalar için MİK testi	52
Şekil 2.15. Bakteriler ve koruyucuların maruziyet testi	53
Şekil 2.16. <i>C. albicans</i> ve koruyucuların maruziyet testi	54
Şekil 2.17. Maruziyet testi kontrol grubu	54
Şekil 2.18. Küçükten büyüğe <i>G. mellonella</i> larvaları	55
Şekil 2.19. Analizlerde kullanılmaya uygun <i>G. mellonella</i> larvaları	56
Şekil 2.20. <i>G. mellonella</i> larvasının enjeksiyon bölgesi	56
Şekil 2.21. <i>G. mellonella</i> larva enjeksiyonu	57
Şekil 2.22. Letal doz çalışması deney grupları	57
Şekil 2.23. Maruziyet testi öncesi ve sonrası <i>S. aureus</i> 'un <i>G. mellonella</i> larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması	58

Şekil 2.24. Maruziyet testi öncesi ve sonrası <i>S. epidermidis</i> 'in <i>G. mellonella</i> larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması	58
Şekil 2.25. Maruziyet testi öncesi ve sonrası <i>P. aeruginosa</i> 'nın <i>G. mellonella</i> larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması	59
Şekil 2.26. Maruziyet testi öncesi ve sonrası <i>C. albicans</i> 'ın <i>G. mellonella</i> larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması	59
Şekil 2.27. İn vivo testler için kontrol grupları	60
Şekil 2.28. İn vivo testlerin tamamlanması	60
Şekil 2.29. Test ve kontrol deney gruplarının analizler sonrası inkübasyonu	61
Şekil 2.30. İnkübasyon sonrası canlı ve ölü olarak sonuçlandırılan <i>G. mellonella</i> larvaları	61



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Kozmetik ve dermokozmetik preparatların sınıflandırılması	7
Çizelge 1.2. Kozmetik ve dermokozmetik ürün formülasyonlarında kullanımına izin verilen koruyucular	17
Çizelge 1.3. Koruyucuların, kozmetik ürünlerde kullanımı uygun görülen maksimum konsantrasyon ve çalışma sıcaklıkları	25
Çizelge 3.1. Antibiyotiklerin mikroorganizma standart suşları için belirlenen MİK testi sonuçları	62
Çizelge 3.2. Koruyucuların mikroorganizma standart suşları için belirlenen MİK testi sonuçları	62
Çizelge 3.3. <i>S. aureus</i> ATCC 6538 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları	63
Çizelge 3.4. <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları	63
Çizelge 3.5. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları	63
Çizelge 3.6. <i>C. albicans</i> ATCC 14053 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları	63
Çizelge 3.7. Vankomisin koruyuculara maruz bırakılan <i>S. aureus</i> ATCC 6538 için yapılan MİK testi sonuçları	64
Çizelge 3.8. Vankomisin koruyuculara maruz bırakılan <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984 için yapılan MİK testi sonuçları	64
Çizelge 3.9. Sefepimin koruyuculara maruz bırakılan <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 için yapılan MİK testi sonuçları	64
Çizelge 3.10. Flukanozolün koruyuculara maruz bırakılan <i>C. albicans</i> ATCC 14053 için yapılan MİK testi sonuçları	64
Çizelge 3.11. Vankomisin, sefepim ve flukanozolün, sadece besiyerine maruz bırakılmış kontrol grubu mikroorganizmalar için yapılan MİK testi sonuçları	65
Çizelge 3.12. <i>G. mellonella</i> larvaları üzerinde yapılan <i>S. aureus</i> ATCC 6538 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları	68
Çizelge 3.13. <i>G. mellonella</i> larvaları üzerinde yapılan <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları	68

Çizelge 3.14. <i>G. mellonella</i> larvaları üzerinde yapılan <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları	69
Çizelge 3.15. <i>G. mellonella</i> larvaları üzerinde yapılan <i>C. albicans</i> ATCC 14053 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları	69
Çizelge 3.16. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. aureus</i> ATCC 6538'in enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 24. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	72
Çizelge 3.17. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. aureus</i> ATCC 6538'in enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 48. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	72
Çizelge 3.18. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. aureus</i> ATCC 6538'in enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 72. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	72
Çizelge 3.19. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. aureus</i> ATCC 6538'in enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	72
Çizelge 3.20. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. aureus</i> ATCC 6538'in enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 120. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	72
Çizelge 3.25. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 72. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	75
Çizelge 3.26. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	75
Çizelge 3.27. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 120. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	75
Çizelge 3.31. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442'nin enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 48. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	78
Çizelge 3.32. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>P. aeruginosa</i> 'nın enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 72. Saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	78

Çizelge 3.33. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442'nin enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	78
Çizelge 3.35. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 çalışmasında larvaların 24. saat ölü skorlarının yüzdelik oranları ve İstatistiksel analizi	80
Çizelge 3.36. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 çalışmasında larvaların 24 ve 96 saatler arasındaki ölü sayılarının İstatistiksel analizi	80
Çizelge 3.37. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>C. albicans</i> ATCC 14053'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 24. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	81
Çizelge 3.38. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>C. albicans</i> ATCC 14053'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 48. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	81
Çizelge 3.39. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>C. albicans</i> ATCC 14053'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 72. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	81
Çizelge 3.40. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>C. albicans</i> ATCC 14053'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	81
Çizelge 3.41. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan <i>C. albicans</i> ATCC 14053'ün enjekte edildiği <i>G. mellonella</i> larvalarının 120. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları	81
Çizelge 3.42. <i>C. albicans</i> ATCC 14053 çalışmasında larvaların 24. saat ölü sayılarının yüzdelik oranları ve İstatistiksel analizi	83
Çizelge 3.43. <i>C. albicans</i> ATCC 14053 çalışmasında larvaların 24 ve 96 saatler arasındaki ölü sayılarının İstatistiksel analizi	83
Çizelge 3.44. Deney kontrol gruplarının 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki canlı ve ölü sayıları	83

1. GİRİŞ

İnsanlar yüzyıllardır güzelleşebilmek, genç görünebilmek, kendilerini başkalarına beğendirebilmek, ciltlerindeki kırıksıklık, yara, sivilce gibi çeşitli izleri gizlemek veya iyileştirebilmek, ağız ve diş sağlığını koruyabilmek, güneş, rüzgar, soğuk ve böcekler gibi dış etkenlerden korunmak, vücutlarındaki istenmeyen tüyleri uzaklaştırmak, saçlarının sağlığını korumak ya da görüntüsünü değiştirmek gibi bir çok amaçla vücutlarının herhangi bir kısmına sürebileceği, dökülebileceği, püskürtebileceği veya başka formlarda kullanılabileceği çözelti, emülsiyon, krem, merhem, losyon, spre, sabun, şampuan, serum, boya ve parfümler yapmışlardır (Bashir ve Lambert, 2020; Çomoğlu, 2014).

Steril olması zorunlu olmayan bu ürünlerin, kontaminasyon riski olan hammaddeler ile hazırlanması, tekrar kullanılabilen ve mikroorganizma üremesinin kolay olduğu ambalajlarda tüketicilere sunulması olumsuz durumlara yol açabilmektedir (Özer, 2004). Başta su olmak üzere ürünlerin içeriğindeki organik ve inorganik maddeler, mikrobiyal kontaminasyon için uygun ortamı oluşturmaktadırlar (Halla vd., 2018; Özalp, 1998).

Mikrobiyal kontaminasyona sebep olarak gösterilen ve patojenik olduklarında dünya çapındaki tüketiciler için ciddi risk oluşturan mikroorganizmaların üremesini engellemek amacıyla bu ürünlere koruyucu kimyasal maddeler eklenmektedir (Campana vd., 2006; Sasseville, 2004). Ürünlerdeki bozulmayı engellemek amacıyla da kullanılan bu koruyucular genellikle ürün formülasyonlarına sonradan eklenen maddelerdir (Sasseville, 2004).

Doğumdan önce steril bir ortam olan insan derisi, doğumdan sonra birçok sebepten dolayı mikroorganizmalar tarafından kolonize edilir. Zamanla geçici veya kalıcı mikroorganizmalardan oluşan, giderek daha da karmaşılaşan bir ekosistem oluşur. Bu topluluğun mikrobiyal üyeleri farklılık gösterebilirler (Christensen ve Brüggemann, 2014). Sağlıklı bir insan derisi için koruyucu kimyasalların etkili olması beklenen ve kozmetik ürünlerde sıklıkla rastlanan birçok mikroorganizma vardır (Aras ve Eryılmaz, 2022). Normal insan derisi üzerinde bu organizmalardan bazıları yerleşik bazıları ise geçici olarak yaşamlarını devam ettirip çeşitli roller üstlenmektedirler (Onurdağ vd., 2010; Verraes vd., 2013; Wang vd., 2019).

Ürünlerde kullanılan antimikrobiyal etkiye sahip koruyucu kimyasallar, mikroorganizmalar üzerinde büyümeyi inhibe edici öldürme etkisine sahip olsalar da, bir mikroorganizma daha önce duyarlı olduğu antimikrobiyal maddeye karşı direnç

gösterebilmektedir (Verraes vd., 2013). Antimikrobiyal bir maddenin etkinliği, mikroorganizmaların geliştirdiği olası tolerans veya direnç nedeniyle zayıflar. Çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar bu gelişen direnci yönlendirebilir (Aslam vd., 2018).

Antimikrobiyal maddelere karşı patojen mikroorganizmaların direncinin artması virülans özelliklerinde farklılık göstererek enfeksiyon tedavilerinin farklılaşmasına sebep olmaktadır (Demir vd., 2018). Mikroorganizmalarda birçok faktör tarafından tayin edilerek desteklenen virülans etkisine, farklı canlı organizmalar üzerinde rastlanabilmektedir. Bu mikroorganizmalar canlı veya cansız koşullarda üretildiğinde toksik ve toksin maddeler sentezleyerek konakçıyı hastalandırma etkinliği göstermektedir (Mikrobiyoloji, 2021).

Kozmetik ve dermokozmetik ürünler tüketicilere ulaştırılmadan önce birçok teste tabi tutulmaktadır fakat bu ürünlerin içeriğindeki maddelerin güvenilirlikleri ve insan cildi üzerindeki etkileri hakkında tartışmalar devam etmektedir. Ürünlerin formülasyonlarına eklenen koruyucu kimyasalların olumlu ve olumsuz etkileri birçok kaynakta detaylıca açıklanmıştır. Ancak bu kimyasalların, cildimiz üzerinde patojen olarak yaşam formunu devam ettirebilen mikroorganizmaların direnç gelişimlerine etkisi ve canlı organizma üzerindeki etkilerinin incelenmesi gibi detaylı bir çalışma bulunmaması, özgün bir çalışma planlamamıza katkı sağlamıştır.

1.1. Kozmetik ve Dermokozmetikler

Kozmetikler, insanın dış görünüşünü değiştirmek, güzelleştirmek, temizlemek, çekiciliği arttırmak ve sağlığını korumak amacıyla deri, saç, sakal, tırnak ve ağız bölgeleri sık olmak üzere vücudun tüm bölgelerine sürülmek veya püskürtmek gibi uygulamalar ile uygulanan preperat, madde ve gereçlerdir (Kışlalıoğlu, 2010).

Dermokozmetikler ise ilaç teknikleri kullanılarak üretilen, klinik testlerden geçirilen, insan cilt, saç ve vücudunun yapı ve fonksiyonlarını biyofizyolojik etkiyle olumlu yönde değiştirerek kozmetik tanımından farklılık gösteren preperatlardır (Choi ve Berson, 2006; Dermokozmetik, 2023; Draelos, 2011).

Bu genel tanımlar, her ülkenin gereksinimine, yasalarına ve yaşam standartlarına göre değişiklik gösterebilir. Örneğin; ABD’de güneş ışınlarını süzen madde ve ürünler dermokozmetik kategorisinde kabul edilirken, AB ülkelerinde kozmetik olarak nitelendirilmektedir (Kışlalıoğlu, 2010).

Kozmetik ve dermokozmetik ürünler günümüzde her yaş grubundan insan tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Zamanla farklılık gösteren kültürel ve ekonomik koşullar, her geçen gün ilerleyen bilim ve teknoloji, kullanıcıların daha verimli ve etkin ürünler talep etmesine neden olmuştur. Araştırmacılar, tüketicilerin bu talebi üzerine biyolojik aktiviteleri daha etkin olan yeni maddeler keşfetmeye, inovatif formülasyonlar üretmeye ve yeni teknikler kullanmaya başlamışlardır (Arıkan, 2007).

1.1.1. Tarihçe

Kozmetik terimi, kökenini Yunanca kendini süsleme ve güzelleştirme sanatı anlamına gelen kosmein sözcüğünden alır (Kışlalıoğlu, 2010). Bu terim yazılı tarihin öncelerine dayanmaktadır. Kozmetik ürünlerin üretim ve kullanımı, insanoğlunun benliğini farkederek, bir toplumda yaşamasıyla başladığı varsayılabilir (Kışlalıoğlu, 2010; Parish, 1988). Bu ürünlerin kullanımı insanlık tarihi ile öyle bütünleşmiştir ki günümüzde yapılan çalışmalarda çok eski tarihlere dayanan bulgulara hala ulaşılabilmektedir (Parish, 1998).

Yüze sürülen boyaların hazırlandığı kaselere, bitkilerden, tohum ve yağlardan elde edilen merhemlerin yapıldığı güzel koku formunu hala koruyan kaplara, Eski Mısır'da yapılan arkeolojik kazılarda rastlanmıştır. Şahsi eşyaların ölümlerle birlikte mezara konulduğu dönemlerde, rahiplerin hazırladığı bilinen bu ürünlere rastlanması, MÖ 4000'lü yıllarda kozmetik ürünlerin kullanıldığının kanıtı olarak kabul edilmektedir (Çomoğlu, 2014). Mısırlıların bu alanındaki bilgi ve tecrübeleri Babillilere, Perslere, Asurlulara, İbranilere ve Yunan mitolojisine kadar ulaşmıştır. Anadolu'nun geçmişinde ise farklı kültürlerden gelen ürünlerin, İpek Yolu üzerinden geçmesinden dolayı göze sürme çekilmesi, kına ile saçların ve vücudun boyanması gibi geleneksel uygulamalara rastlanılmaktadır (Çomoğlu, 2014; Sungur vd., 2018).

Eski çağlarda sedir ağacı, kekik, ıtır, misk gibi çeşitli bitkilerin yanısıra sakız, reçine, çay yağı, pirinç tozu ve süt gibi maddelerin cilt bakım ürünlerinin yapımında, yasemin, gül, sandal, lotus, nergis, zambak gibi bitkiler ise güzel kokmak amacıyla parfüm yapımında kullanılmıştır. Susam tohumu, zeytin, badem, kabak unu gibi ürünler ve balıklardan elde edilen yağlardan ise vücudu etkileyen güneş ışınlarını engellemek amacıyla ürünler yapılmıştır. Kadınların çekici görünmek için dudak ve tırnaklarını, çeşitli yağ ve boyalarla karıştırılmış demir oksit yanısıra, balmumu ve kül karışımlarıyla renklendirmesine de yapılan araştırmalarda rastlanmıştır. Günümüzde de bu ürünlerden bazılarının aynı amaçla kullanıldığı bilinmektedir (Çomoğlu, 2014; Draelos, 2011; Parish, 1998; Secchi, 2008).

Tarih boyunca kozmetik ve cilt bakım ürünlerinin gelişimi, çeşitli teknolojik alanlardaki ilerlemeleri yansıtmıştır. Toplumlar karmaşıklaştıkça kozmetik ürünlere olan ihtiyaç da artmıştır. Bu alanlardaki öncü kişiler, zamanla gelişen kozmetik tekniklerini benimseyip geliştirerek ilerleme kaydetmişlerdir. Bu tarihsel ilerleme, karmaşık toplumların gelişimi ile kozmetik uygulamaların yenilikçiliği arasındaki yakın bağlantıyı vurgulamaktadır (Sungur vd., 2018).

Klasik kozmetikler olarak adlandırılan ve etkileri yüzeysel olan ürünler 1980’li yıllara kadar sadece güzel görünmek, makyaj yapmak veya cildin yumuşatılıp nemli tutulması amacıyla kullanılmaktaydı. Yüzeysel olarak nitelendirilmesinin sebebi formülasyonlarında bulunan maddelerin derinin sadece üst tabakasında etkili olarak, uygulandıkları bölgenin yapı ve fonksiyonlarında değişime sebep olmamalarıdır (Türk Eczacılar Birliği, t.y.).

Yıllar geçtikçe normal cilt yapısı üzerine yapılan çalışmaların artması ve bilgilerin güncellenmesi üzerine kozmetik biliminde bir devrim başlamıştır. Cilt bakımında kozmetiklerin gelişen bu rolü normal cilt yapısı anlayışımızı, kozmetik ürünlerin hem biyolojik aktivitelerini hem de fizyolojik yapılarını değiştirmiştir. Başlangıçta cilde doğrudan uygulanarak kişisel görünümü iyileştirmeye yönelik tasarlanan kozmetikler, birçok cilt bozukluğunun tedavisinin desteklenmesiyle artık dermatolojide yeni bir rol üstlenmiştir (Dreno vd., 2014). Kozmetiklerin popüleritesinin artması, sağlık ve kimya alanlarındaki hızlı gelişmeler tüketicileri farklı arayışlara itmiştir. Bu gelişmeler doğrultusunda yeni formülasyonlar bulmaya başlayan araştırmacılar, tıbbi veya ilaç benzeri faydaları olduğu söylenen, içeriğinde aktif maddeleri bulunduran yeni formülasyonlar keşfetmeye başlamışlardır (Bellad vd., 2017; Çomoğlu, 2014).

Bu keşifler doğrultusunda, sağlıklı cilt için gerekli besinleri sağlayarak görünümü iyileştirmeyi, kırışıklıkları azaltmayı, cilt elastikiyetini koruyarak yaşlanmayı geciktirmeyi, cilt tonunu, dokusunu, parlaklığını iyileştirmeyi, farklı dermatolojik durumları tedavi etmek gibi bir çok iyi amacı hedefleyen ürünlere “Dermokozmetik” çatısı altında yer verilmiştir (Bellad vd., 2017; Sungur vd., 2018). Dermokozmetik ve benzeri kelimelerinin tanımı ilk olarak 1946 yılında yapılmıştır. Bu terimlere neden ihtiyaç olduğunu açıklayarak popüler hale gelmesini sağlayan dermatolog Albert Klingman, ileriki zamanlarda yaşanılacak karmaşıklıkları önlemek amacıyla farklı önerilerde bulunmuştur (Çomoğlu, 2014).

Bu ürünlerin kullanılması, ön plandaki süslenme öğeleri olarak, insanlar arasında modayı takip etme göstergelerinden biri olmuştur. Özellikle sahne sanatlarında rol alan önemli oyuncular kozmetik ürünlere olan bu eğilimi tetiklemişlerdir. Sinema endüstrisi,

kozmetiklere olan ilginin bu denli hızlı ilerlemesinde ve insanlar arasında yayılmasında en önemli faktörlerden olmuştur. Bu yayılmanın ardından kozmetik sektörü sanayileşerek ülkeler için ciddi gelir kaynağı oluşturmuştur. Birçok ülke bu konuda önlem almak amacıyla ağır yaptırımlar içeren yasalar çıkarmaya başlamışlardır (Çomoğlu, 2014).

1.1.2. Yasal Açıdan Kozmetik ve Dermokozmetikler

İlaçlar ile kozmetik ürünler, formülasyon ve spesifikasyonlarının yanısıra kullanım amaçlarından kaynaklanan, ürünlerin mevcut tanımlarında da açıkça belirtilen farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar neredeyse tüm dünya ülkelerinin yasal düzenlemelerine yansıtılmıştır (Uzuner, 2004). Kozmetik ürünler, farmasötik preparatlar gibi katı kurallar çerçevesinde üretilmemektedir (Kışlalıoğlu, 2010). Kozmetik ürünler ve ilaçlar arasındaki ayrımın iyi yapılmadığı bazı ülkelerde bu ürünlerin üretim, ithalat ve dağıtımından önce izin alınması zorunluluğu bile bulunamamaktadır. Özel veya tüzel kişilerin sorumluluğunda olan bu aşamaların kontrolü resmi otoriteler tarafından yapılmaktadır (Uzuner, 2004).

Ülkemizde ilaçlar ve kozmetik ürünler ayrı yasalarda tanımlanmaktadır. Ülkemizin ilk Kozmetik Yönetmeliği 1979 tarihinde 16778 sayılı Resmi Gazetede, ilk Kozmetik Kanunu ise 1994 tarihinde 21861 sayılı Resmi Gazete’de duyurularak yürürlüğe girmiştir. Bu belgelerin yayımlanma amacı ürünlerin tanıtımı ve kapsamını, teknik esaslarını, izin zorunluluklarını, ithalat ve satış konularını, formülasyonlarında içerebileceği ve içermemesi gereken maddeleri bildirmektir (Uzuner, 2004; Türk Eczacılar Birliği, t.y.). Bir ilaç, kozmetik ve/veya ikisinin bir kombinasyonu olan dermokozmetiklerin ise ülkemizde yasalara göre bir karşılığı yoktur. Ancak, ABD ve Japonya bu ürünleri kabul ederek ilgili yasalarında belirtmektedir. Gün geçtikçe yenileri eklenen bu ürünlerin sınıfı yasallaşırsa bunlarla ilgili yaptırımların kozmetiklerden daha sıkı ve ağır olacağı ilgili kişi ve kurumlar tarafından bildirilmektedir (Bellad vd., 2017; Türk Eczacılar Birliği, t.y.).

Ürünlerden üreticilerin sorumlu olması, pazardaki ürün denetiminin resmi otoriteler sorumluluğunda olması, satış kanallarının sınırlandırılması, tüketicinin yanlış bilgilendirilmemesi, etiketlerin yanıltıcı olmaması ülkeler tarafından uygulanan yönetmeliklerin ortak paydalarındandır. Ortak payda dışındaki farklılıklar olarak formülasyonlardaki hammadde listeleri, etiketler ve bu bilgilerin nasıl aktarılacağı, ürünlerin piyasaya sürülmeden önce yapılmasının zorunlu olduğu güvenlik veya etkinlik olarak gösterilebilir. Piyasa denetimlerinin getirilmesi, eksik bilgilerin eklenmesi ve gelişmelerin güncellenmesi adına 2005 yılında AB Mevzuat Uyumuna kapsamında yürütülen Sağlık Bakanlığı ortak çalışmaları sonucunda yeni Kozmetik Kanunu Yönetmeliği ve ürünler için

kullanılacak analiz yöntemlerinin yer aldığı tebliğler yayınlanarak ilk kez AB Kozmetik Direktifine uyum sağlanmıştır (Uzuner, 2004).

Kozmetik ürünlere olan talebin artması karşısında bazı firmalar ikinci kalite malzeme kullanma yolunu tercih edebilmektedir. Bu gibi durumlarda sorumluluk kısmen tüketiciye geçmektedir. Bireylerin alışveriş yaparken detaylı araştırma yapması ve ürün içeriğini titizlikle incelemesi gerekmektedir (Çomoğlu, 2014).

1.1.3. Sınıflandırma

Kozmetik ve dermokozmetik ürünlerin geniş dünyasında tek bir sınıflandırma yoktur. Bunun yerine, sınıflandırmalar genellikle insanların ürün kullanmalarının birincil nedenlerinden, kökenlerinden ve hatta biyokimyasal bileşimlerden yararlanılarak yapılır. Bu sınıflandırmalar kullanıcıların kendilerine özgü ürün tercih etmesine olanak tanımaktadır (Foster, 2020).

Ürünler, uygulama bölgelerine (deri, saç, tırnak, göz, ağız, diş ve genital organ), kullanım amacına (temizleyici, nemlendirici, besleyici, leke ve kırışıklık giderici, güneşten koruyanlar, bronzlaştırıcılar ve bebek ürünleri), ürünün yapısına (çözelti, süspansiyon, emülsiyon, krem, pat, jel, toz) ve temel etki alanına (keratinli, sebatrop, tabaka oluşturan, endirekt dermatrop ve direkt dermatrop maddeler) göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir (Çomoğlu, 2014; Türk Eczacılar Birliği, t.y.).

Kozmetik ürün olmanın yanısıra ağız suları, güneşten koruyucular, kepek şampuanları, ciltteki lekeleri gidericiler, terlemeyi engelleyiciler (antiperspiranlar), selülit kremleri/hapları vb. ürünler, vitaminler, alfa hidroksiasitler (AHA'lar), bitkiler ve bitkisel ekstraktlar, biyolojik kökenli maddeler gibi koruyucu ve tedavi edici etken maddeleri içerdikleri için dermokozmetik ürün olarak sınıflandırılabilir (Türk Eczacılar Birliği, t.y.). Dermokozmetik ürünler krem, süspansiyon, losyon ve solüsyon gibi geleneksel formlarda üretilir gibi formülasyonlarında özel taşıyıcı sistemler de kullanılabilir. Mikrokapsül, nanopartikül ve lipozom gibi taşıyıcı sistemler içinde hazırlanan bu maddelerin cilt üzerinde istenilen etkiyi göstererek klasik kozmetik ürünlerden ayrılabilmesi ve yeni bir kategoride tanımlanabilmesi için derinin daha alt tabakalarında etkilerini göstermeleri gerekmektedir (Türk Eczacılar Birliği, t.y.; Yapar ve Tanrıverdi, 2016). Canlı epidermis ve dermis tabakalarına kadar emildiği için tıbbi alana daha yakın olan bu farmasötik preparatlara, ilaç benzeri, fonksiyonel kozmetik, kozmesötik veya dermokozmetik gibi terimler uygulanarak kozmetik ile tıp alanı arasındaki çizgileri ayrıştırılmaktadır. Bu ayrım, ürünlerde cildi dış

etkenlerden koruyan ve hücre yenilenmesini destekleyen aktif maddelerin varlığından kaynaklanmaktadır (Yapar ve Tanrıverdi, 2016). Ancak bazı kozmetik ürünler düşük konsantrasyonda aktif madde içermelerine rağmen yine de kozmetik olarak sınıflandırılmaktadır (Örn; Hidrokinonun). Bundan dolayı farmasötiklerin etkin madde içermesi kozmetiklerden ayrılması için yeterli değildir (Bellad vd., 2017; Türk Eczacılar Birliği, t.y.; Kışlalıoğlu, 2010).

Çizelge 1.1. Kozmetik ve dermokozmetik preparatların sınıflandırılması

Yüze Uygulanan Preparatlar	
Nemlendirici ürünler	Gliserin, polimer, losyon ve α -hidroksi asit içeren krem
Temizleyici ürünler	Sabun, emülsiyon, süspo-emülsiyonlar, losyon, çözelti
Gençleştirici ve cilt yenileyen ürünler	Botox, vitamin A ve α -hidroksi asit içeren çözelti, krem, losyon, ve maskeler
Güneş koruyucu ürünler	Sprey, çözelti, krem, losyon
Bakım ve kondüsyon düzenleyici ürünler	Krem, masaj ürünleri, maske ve yağlı çözeltiler
Renk açıcı ürünler	Emülsiyon, süspo-emülsiyon, çözelti
Diğer ürünler	Diğer
Vücuda Uygulanan Preparatlar	
Banyo ürünleri	Sabun, şampuan, jel ve yağlar
Güneş ışını süzen ürünler	Krem, losyon, süspo-emülsiyon, sprej, yağ bazlı çözeltiler
Antiperspiran ve deodoranlar	Sprej, emülsiyon ve çözelti
Depilasyon ürünleri	Krem, ağda, sprej, yama
Kondüsyon artırıcı ürünler	Krem
Renk açıcı ürünler	Emülsiyon, süspo-emülsiyon, süspansiyon
Hayvan sokmasında kullanılan ürünler	Sprej, çözelti, emülsiyon ve losyon
Diğer ürünler	Diğer
Saç Uygulanan Preparatlar	
Temizleyici ürünler	Sabun, şampuan
Kondüsyon artırıcı ürünler	Çözelti, emülsiyon
Şekil verici ürünler	Krem, sprej, jel ve briyantın
Perma ürünleri	Çözelti ve emülsiyon (krem)
Saç boyaları ve açıcı ürünler	Çözelti ve emülsiyon (krem)
Diğer ürünler	Diğer
Saçlı Deriye Uygulanan Preparatlar	
Saçlı deriye uygulanan ürünler	Şampuan ve nemlendirici losyonlar, saç çıkarıcı ve uzama hızını etkileyen sprej ve losyonlar
Diğer ürünler	Diğer
Tırnağa Uygulanan Preparatlar	
Tırnak cilaları	Çözelti, süspansiyon
Tırnak sertleştiriciler	Çözelti
Tırnak boyası temizleyicileri	Çözelti
Diğer ürünler	Diğer
Ağız Mukozasına Uygulanan Preparatlar	
Diş ürünü	Pat, süspansiyon
Ağız sıvıları	Sprej, çözelti
Diğer ürünler	Diğer

Çizelge 1.1. Devam Kozmetik ve dermokozmetik preperatların sınıflandırılması

Cilde Uygulanan Makyaj Preperatları	
Göz çevresi ürünleri	Süspansiyon (maskara) göz kalemleri ve far
Cilt makyajı ve yanak ürünleri	Pudra, allık (krem, sıkıştırılmış pudra), fondöten (krem, süspansiyon)
Dudak makyaj ürünleri	Ruj, krem, pigment ve süspansiyon
Diğer ürünler	Diğer

(Kışlalıoğlu, 2010; Kozmetik Yönetmeliği, 2005)

1.2. Mikrobiyal Kontaminasyon

Steril olması zorunlu olmayan kozmetik ve dermokozmetik ürünler formülasyonlarında mikroorganizmaların besin olarak kullandığı ve çoğalmalarını destekleyen karbonhidratları, proteinleri, şeker ve yağları, vitamin ve bitkisel hammaddeleri fazlaca içerdikleri için mikrobiyal kontaminasyon riski altındadırlar (Kozmetik Yönetmeliği, 2005; Sivri, 2005). Aynı zamanda bu ürünlerin yüksek su içeriğine sahip olmaları, kullanım sırasında kontaminasyonu takiben mikrobiyal büyümeyi de desteklemektedir (Bashir ve Lambert, 2020).

Mikrobiyal risk oluşturan bulaşanlar, genellikle ürünlerin üretim aşamaları ve tüketicilerin kullanımı esnasında olmak üzere iki farklı kökenden meydana gelirler. Ürünlerin açıldığı andan son kullanımına kadar kalıcı, değişken ve aditif bir mikrobiyal kontaminasyon ortaya çıkar. Ürünlerdeki kontaminasyon belirtileri genellikle kıvam ve renk değişmesi, faz ayrımı ve kötü koku oluşumudur (European Commission, 2016a; Özer, 2004). Kullanıcı sağlığı üzerinde ürünlerin oluşturduğu risk, mikroorganizmaların türü, sayısı ve salgıladıkları toksinlere ve/veya kullanıcıya bağlı etkenler ile doğrudan ilişkilidir (Halla vd., 2018; Sivri, 2005). Kozmetik ürünlerin mikrobiyal kontaminasyonu, önemli sağlık sorunlarına sebep olarak potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olabilir (Siya vd., 2019). Kontamine ürünlerden kaynaklanan enfeksiyonun oluşumu tüketicilerin direncine bağlı olduğu için özellikle bağışıklığı baskılanmış kişiler, üç yaşın altındaki çocuklar ve yaşlılar risk altındadır (Çevikbaş vd., 2017; Michalek ve ark. 2019). Birden fazla kişi tarafından ürünler kullanıldığında da kontaminasyon ve enfeksiyon riskinde artış gözlemlenmektedir (Özer, 2004).

İlk olarak Yeni Zelanda’da talk pudrasının 1946 yılında kullanılması sonucunda gözlemlenen bebek ölümlerinin ardından pudraların *Clostridium tetani* bakterisi ile kontamine olduğu gözlemlenmiş ve kozmetik ürünlerin mikroorganizmalar ile kontamine olabildikleri farkedilmiştir (Tan ve Tüysüz, 2013). 1969’da Amerika Gıda ve İlaç Kurumu’nun (FDA) yaptığı araştırmalar sonucunda kozmetik ürünlerin %25 oranında

kontamimasyona uğradığı tespit edilmiş ve kontamine olmuş ürünlerde Gram negatif bakterilerin diğer mikroorganizmalara göre fazla olduğu gözlemlenmiştir (Curry vd., 2006). Gram negatif bakteriler aynı zamanda, kozmetik ürünlerde kullanılan koruyucuların etkin olmadıkları konsantrasyonlarda formülasyonlara eklenmesi sonucu bu koruyucuları metabolize edebilmektedir (Baird, 2004).

Kozmetik dünyasında bir ürün içindeki mikroorganizmaların ömrü, onların kendi özel ortamlarında gelişebilme ve çoğalabilme yeteneklerine bağlıdır. Metabolik aktiviteleri sadece onları ayakta tutmakla kalmaz, aynı zamanda diğer mikroorganizmaların gelişmesine olanak sağlayan koşulları da yaratır. Gram negatiflerin sebep olduğu kontaminasyon, şeker metabolizması ve lipolitik aktivite yoluyla yağlı maddeleri parçalayarak bozulmaya yol açabilir. Bu süreç asidik, protein açısından zayıf bir ortam oluşturarak ürünün bozulmasını tetikler. Lipitleri dış katmanlarına dahil eden bazı mikroorganizmalar, fenolik koruyucular ve para-hidroksibenzoik asit esterleri gibi koruyuculara karşı direnç gösterir. Ayrıca, ayrışma sırasındaki pH değişiklikleri, klorbütanol ve benzoik asit gibi çeşitli koruyucuların aktivitesini etkiler. Çeşitli maddeler içeren kozmetik ürünler için bozulma, genellikle bir faktör tarafından başlatılan ve diğerleri tarafından şiddetlendirilen karmaşık bir süreçtir. Organizma büyümesiyle mücadele etmek için birincil bozulma kaynağını belirlemek çok önemlidir. Bu karmaşık dinamikleri anlayarak kozmetik ürünleri etkili bir şekilde kullanabilir ve kalitelerini koruyabiliriz (Özer, 2004).

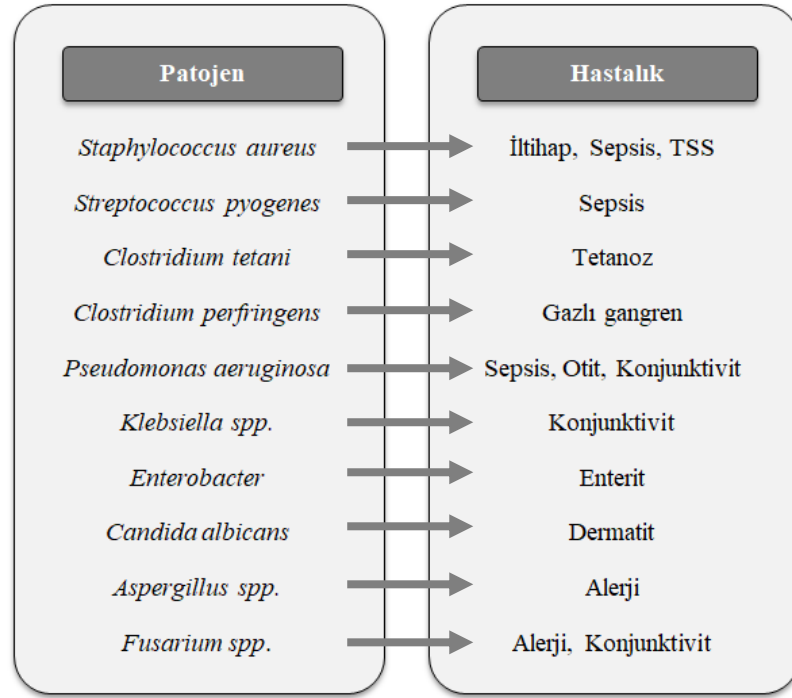
Kozmetik ve dermokozmetik ürünlerde görülen organizmalar, sağlığı tehdit eden ve preperatı bozanlar olarak iki sınıfa ayrılır. Sağlık riski oluşturan mikroorganizmalar, evde kullanılan ürünlere oranla hastanede ve kliniklerde kullanılan ürünlerde daha çok görülür. Preperatları bozan mikroorganizmalar farklı koşullarda kolaylıkla büyüyüp çoğalabilirler. Suyun zengin olduğu ortamlarda kolay çoğalabildiklerinden y/s (su içinde yağ) emülsiyonları, s/y (yağ içinde su) emülsiyonlarına göre daha riskli ortamlardır. Preperatların pH değerinin 2-9 olması mikroorganizmaların üremesi için uygundur. Ürünlerin muhafaza edildiği sıcaklıklar da bu kısımda önem taşır. 0°C altında üreme görülmez ve 15°C üzerinde yavaş bir üreme gözlemlenir. Bu nedenle ürünlerin serin ortamlarda muhafaza edilmesi mikrobiyolojik kontaminasyonun önüne geçmek için daha uygundur. Ayrıca yüzey etkin maddeler ve proteinler de mikroorganizma büyümesini artırırlar. Kozmetik ve dermokozmetik sistemleri etkileyen bakteri ve mantarlar kararlı bir şekilde kendi başlarına yaşamlarını sürdürebilen ve tekrar üreyebilen özerk varlıklardır. Bu mikroorganizmalar üremeleri için ortamın uygun olduğu herhangi bir maddenin içerisinde veya yüzeyinde oluşabilirler. Mikroorganizmaların varlığı gözle görülmeyebilir. Bu durumlarda alınan

örnekler kültür ortamlarına ekilerek büyümeleri incelenir. Büyüme sonrasında oluşan koloniler sayılarak toplam sayı belirlenir (Özer, 2004).

Enfeksiyon kaynağı olan mikroorganizmalar aynı zamanda formülasyonlardaki aktif bileşenleri parçalayarak ürünlerin bozulmalarına sebep olabilmektedir. Bu bozulma sonrasında ürünlerin toksik maddeler ile kontaminasyonu veya fiziksel/kimyasal olarak kararsız olmaları gözlemlenmektedir (Denyer vd., 2004). Mikroorganizmaların türü, sayısı, ürettikleri metabolitler ve kullanılabilir enerji kaynakları formülasyonda bulunan kimyasal maddelerin bozulma hızını etkilemektedir. Aynı zamanda kimyasalların moleküler yapısı, ortamın fizikokimyasal özellikleri de bu durumda etkilidirler (Baird, 2004).

Mikroorganizmalar büyüme sırasında ürünlere yerleşerek, açığa çıkardıkları enzimler ile polimer yapıların bozulmasına sebep olurlar. Emülsiyonlarda polimer yapıların bozulması sonucu kıvam değişikliği ve faz ayrımı gözlemlenir. Oksijen yetersizliği nedeniyle görülen fermantasyon sonucu oluşan gazlar ve organik asitler ürünlerin pH'nın düşmesine ve köpük oluşumuna sebep olurlar. Bazı ürünler parfüm içerdiği için fermantasyon sonucu oluşan kötü kokular hemen duyulmaz fakat preperatın kokusunda farklılığa neden olur. Formülasyon bileşenlerinin sülfür veya oksidasyon oluşumu ile renk değişimleri ortaya çıkar (Özer, 2004).

Kozmetik sistemlerde sağlığı tehdit eden ve mikrobiyolojik bozulmaya sebep olan bakteri ve mantarlardan Pseudomonadaceae ve Enterobacteriaceae familyalarına şampuanlarda rastlanmaktadır. *Staphylococcus* cinslerine tıraş kremlerinde, *Candida* cinsleri, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* türlerine ise diş macunu ve ağız sularında rastlanmaktadır. Küflere ve Gram negatiflere göz ve dudak kalemlerinde, pudra formundaki ürünler ve rujlarda, *Klebsiella* türlerine ise krem ve losyonlarda rastlanmaktadır. *Klebsiella* türleri tarafından krem ve losyonların içeriğinde bulunan gliserin metabolize edilebilmektedir. Yapılan incelemelerde bebek losyonlarında *Klebsiella*'nın varlığı konjunktiviteye, el kremlerinde *Klebsiella* varlığı ise septisemiye neden olduğu gözlemlenmiştir (Sivri, 2005). Virüslerden ise *Herpes simplex* virüsün kullanılan bazı preperatlara geçebileceği düşünülmektedir fakat virüsler hakkında bilinen kesin bir bilgi bulunmamaktadır (Özer, 2004).



Şekil 1.1. Kozmetik ve dermokozmetiklerde bulunabilen bazı patojen mikroorganizmaların sebep olduğu hastalıklar

Kaynak: (Sivri, 2005)

Kozmetik ve dermokozmetik farmasötik ürünlerin mikrobiyolojik açıdan uygunluğu üreticilerin imaj ve ekonomik durumları, tüketicilerin sağlığı, ürünlerin kalite ve stabilitesi için çok önem taşımaktadır (Çevikbaş vd., 2015; Scholtyssek, 2004). Mikrobiyal kontaminasyon sağlığı tehdit ettiği için ürünlerdeki mikroorganizma sayılarının otoritelerce belirlenen limitlerin altına indirilmesi gerekmektedir (Sivri, 2005). Kozmetik Kanunu düzenlemeleri uyarınca bebek ürünleri ve göz etrafına uygulanan ürünlerin gram veya mililitre başına 100'den fazla mikroorganizma içermemesi gerekmektedir. Ağız çevresine uygulanan ürünlerde 500 mikroorganizma sınırı bulunmalı, diğer ürünlerde ise 1000 mikroorganizmaya kadar izin verilmektedir. Ayrıca bu ürünlerde zararlı mikroorganizmalar bulunmamalı, kozmetik ürünlerin güvenliği ve kalitesi sağlanmalıdır (Kozmetik Yönetmeliği, 2005).

Koruyucu madde eklenmesi ile bir preparatta kontaminasyona sebep olan mikroorganizmaların üreme ve büyümesi engellenebilir. Bu işlemde gereksiz miktarda koruyucu kullanılmamasına, aşırı koşullardan kaçınarak koruyucu miktarının preparatın normal üretim ve kullanım koşullarındaki duyarlılığına göre ayarlanmasına dikkat edilmedilir. Endüstride mikrobiyal kontaminasyondan gelebilecek zararların önlenmesi

için İyi İmalat Uygulamaları (GMP) kurallarının da uygulanması gerekmektedir (arıkı Yavaşal vd., 2008; Özer, 2004). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ilaç, gıda ve kozmetik ürün üreticilerine İyi İmalat Uygulamaları (GMP) kuralları iletilmiştir. Ülkemizde ise bu kurallar Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK) tarafından yayımlanan kılavuz ile bildirilmiştir (Tüysüz, 2010).

1.3. Koruyucu Madde Kullanımı

Yaşamımızın hemen her yerinde bulunabilen mikroorganizmalar maddelerin ürümesinden ve geri dönüşümünden sorumludur. Bu mikroorganizmalar kozmetik, dermokozmetik ve ilaç gibi endüstriyel ürünlerin, özellikle emülsiyon şeklindeki formülasyonlarında topikal kontaminasyona ve bozulmaya sebep olur (Dortunç, 2015; Özer, 2004; Sasseville, 2004). Mikrobiyal üremenin önlenmesi, ürünlerdeki stabilizasyonun sağlanabilmesi ve kimyasal bozulmanın mümkün olduğunca engellenmesi amacıyla ürünlerin dozaj formlarına antimikrobiyal etkiye sahip koruyucular eklenmektedir (Onurdağ vd., 2010; Sasseville, 2004).

Genellikle son kullanma tarihi bulunmamasından dolayı çok dozlu preperatlar olan kozmetik ve dermokozmetik ürünlerin kullanım esnasında rekontamine olma riski bulunduğundan ürün formülasyonlarına antimikrobiyal maddeler eklenmesi alınabilecek en etkili tedbirlerdendir (Dortunç, 2015; Onurdağ vd., 2010). İlaçlarda bu durum koruyucu eklenmesinin yanısıra tek dozluk ambalajlarda steril edip saklanarak önlenabilir (Dortunç, 2015).

Geniş spektrumlu etki göstermeleri, irritasyon ve diğer toksisite olasılıklarını azaltmak için düşük ancak en etkin olduğu derişimlerin kullanılması, formülasyon içindeki diğer maddelerle geçimli olması ve kendisi ile birlikte diğer maddelerin etkinliğinde değişime yol amaması, çapraz direnci, su aktivitesi, ürünün renk ve kokusunda değişiklik oluşturmaması, üretim sırasındaki tüm sıcaklık ve pH koşulları altında kararlı kalabilmesi, belirtilen derişimde ve şekilde kullanıldığı zaman insan cildi üzerinde güvenilir olması, etkenliğinin saptanması ve analizlerinin kolay yapılabilmesi, düşük maliyetli olması, çözünürlüğünün, kullanımının ve taşınmalarının kolay olması koruyucularda istenilen genel özelliklerdendir (Orth vd., 2006; Yazan, 2004).

Bakteriler, koruyuculara ve diğer biyosit tiplerine karşı geniş bir tepki gösterirler. Bu yanıt esas olarak antimikrobiyal ajanın doğası ve organizma tipi tarafından belirlenir (Russell, 1991). Birçok koruyucu Gram negatifler tarafından metabolize edilmektedir

(Beveridge, 1998). Gram pozitif ve negatif bakterilere birlikte etki ederek geniş spektrumuna sahip koruyucular oldukça rağbet görmektedir fakat bu özellikte olan az sayıda koruyucu madde bulunmaktadır (Denyer, 2007).

Hem bakterilere hem de mayalara etki gösteren koruyucu sayısı azdır. Böyle durumlarda tek bir koruyucu ile hedeflenen etkiye ulaşılamamaktadır. Kozmetik ve dermokozmetik sistemlerde kullanılacak ideal tek bir koruyucu olmadığından, etkin bir koruma sağlama amacıyla ürünlere koruyucu kombinasyonları eklenir. Kombinasyonlar sonrasında görülen etki tek bir koruyucunun etkinliğinden fazla ise sinerjistik etki elde edilir. Bu durum sonrasında hedeflenen geniş etki spektrumuna ulaşılır ve her bir koruyucu daha düşük konsantrasyonlarda ürünlerin dozaj formlarına eklenir. Günümüzde birçok koruyucu kombinasyonunun ticari olarak kullanımı sinerjistik etkiyle elde edilen bu dikkat çekici sonuçlara dayanmaktadır (Doorne, 2007; English, 2006; Yazan, 2004).

Antimikrobiyal özelliğe sahip koruyucular mikroorganizmaların yapısını bozarak onlara zarar verir (Talaro, 2005). Genellikle hücre duvarı ve zarına, sitoplazma ve sitoplazma zar yapılarına etki ederek nükleik asit sentezini engeller veya hücre proteinlerinin işlevini değiştirirler (Hugo ve Russell, 1998; Talaro, 2005). Sitoplazmada (nükleik asitlere, koagülasyona, ribozomlara, amino ve tiyol gruplarına), sitoplazma zarında ise zar yapısı ve zarındaki enzimlere (ATP, ETS ve tiyol grupları) etki ederler (Denyer ve Russell, 2004).

Tiyol grubu enzimleri ile etkileşime giren koruyuculardan bazıları formaldehit, formaldehit salanlar, bronopol ve gluteraldehitlerdir. Gluteraldehitler, formaldehit ve formaldehit salanlar aynı zamanda amino grupları ve bakteri hücre duvarıyla etkileşime girerler. Klorheksidin ve gluteraldehit gibi koruyucular genel koagülasyona etki ederler. Sitoplazma zarına etki eden koruyuculardan bazıları sorbik asit, kuarternar amonyum bileşikleri, alkoller, klorheksidin ve parabenlerdir. Parabenler aynı zamanda nükleik asitlerle etkileşime giren koruyuculardır (Denyer ve Baird, 2006).

pH değeri çok düşük olan, taşıdığı su miktarı sıfır veya çok az olan kozmetik ve dermokozmetiklere, bileşiklerin kendisinin (orta zincirli yağ asitleri, uçucu yağlar, alkoller, alifatik glikoller ve antioksidan ajanlar) antimikrobik etki göstermesi durumunda ayrıca bir koruyucu eklenmesi gerekmez. Bazı koruyucu maddeler kozmetik etkin madde olarak da kullanılabilir. Enzimlerle birlikte glukoz içeren ve çinko oksit içeren ürünlere koruyucu eklenmesine gerek yoktur (Yazan, 2004).



Şekil 1.2. Koruyucu etkinliğine katkıda bulunabilecek bileşenler

Kaynak: (Orth, 2007)

1.3.1. Koruyucu Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Koruyucuların ürün formülasyonlarında kullanıldıkları konsantrasyon değişiklikleri ile koruyucu sistemlerin aktivitesi doğru orantılı bir etkileşim göstermektedir (Denyer, 2007; Çevikbaş vd., 2015). Konsantrasyon değişikliklerinin koruyucu aktiviteleri üzerine etkisi kullanılan koruyucunun tipine göre değişiklik gösterebilmektedir (Baird, 2004). Koruyucular tarafından mikroorganizmaların inhibe edildiği en düşük konsantrasyon düzeyi MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyon) olarak ifade edilir. Koruyucuların ürünlerde kullanılacağı bu konsantrasyonlar ve antimikrobiyal etki spektrumu yapılan çalışmalar sonucunda belirlenir (English, 2006). Koruyucu bileşikler tipik olarak çok düşük konsantrasyonlarda kullanılır ve ürün formülasyonunun %1'inden azını oluşturur (Ravita vd., 2009).

Sıcaklık, koruyucu aktivitesini ve reaksiyon hızını etkileyen temel etmenlerdendir. Koruyucuların aktivitesi genellikle sıcaklık artışı ile artış göstermektedir (Denyer, 2007; Özer, 2004). Koruyucular farklı formülasyon işlemlerinde ve kullanım sırasında sıcaklığa karşı dayanıklı olmalıdır (Özer, 2004).

Kozmetik ve demokozmetik ürünlerde pH değeri mikroorganizma üremesine ve kimyasal stabilitesi üzerinde etkilidir (Rigler ve Schimmel; 1957; Özer, 2004). Bu modern kozmetik ürünlerinde pH değerinin 3.5 ve daha düşük değerlerde olması asidik koşullarda

üreyen maya ve mantarların üremesi, 5.5-8.0 arasında olması ise bakterilerin üremesi için uygun ortamlar olduğundan dolayı koruyucuların 2-11 pH değeri arasında etkili olmaları istenir. (Çevikbaş vd., 2015; Özer, 2004). Koruyucu kullanılan ortamın pH'ı mikroorganizma üremesini önleyecek şekilde değişirken koruyucunun etkinliğinde de değişiklik gösterebilir (Özer, 2004). Benzoik asit ve sorbik asit gibi düşük asidik özellik gösteren koruyucular, düşük iyonizasyonun meydana geldiği ortamda etkin pH değerine ulaşarak noniyonize moleküller içerisinde daha iyi antimikrobiyal etki gösterirler. Parabenler ve iyonize olmayan ester gruplarının en iyi etki gösterdikleri seviye ise nötral pH seviyeleridir (Baird, 2014).

Organik ve inorganik koruyuculardan bazıları (Sorbik asit, Bronopol, Irgasan DP300) güneş ışığına karşı hassasiyet gösterdikleri için bozulabilirler (Çevikbaş vd., 2015; Farrington vd., 1994; Özer, 2004). Kullanılan ambalaj materyalinin ultraviyole ışığa geçirgenlik göstermemesi bu durumu engellemek için alınabilecek önlemlerdendir (Çevikbaş vd., 2015; Farrington vd., 1994).

Koruyucunun etkinliği için ürünlerde çözünebilmesi ve formülasyon fazlarında uygun konsantrasyonlarda bulunması gerekmektedir (Greenwood ve Harman, 2007). Koruyucunun sudaki çözünürlüğü önemlidir. Sulu fazda mikroorganizmalar kolaylıkla çoğalabildiğinden bu fazda etkili miktarda koruyucu bulunmalıdır (Özer, 2004). Koruyucuların su içerisinde çözünabilirliğinin artması aktivitesinde de artış göstermektedir (Rigler ve Schimmel; 1957). Emülsiyonlar gibi sulu ve yağlı faz içeren sistemlerde ise koruyucu maddenin dağılılabilirlik katsayısı önem taşır (Özer, 2004). Formülasyon fazları arasında koruyucunun çözünürlüğünün azalmaması ve çökelti oluşturmaması tercih edilmektedir (Greenwood ve Harman, 2007).

Koruyucular, ürünlerin içeriğinde bulunan diğer maddeler ile etkileşime girdiklerinde aktiviteleri artabileceği gibi azalma da gözlemlenmektedir. Bu sebeple koruyucu maddelerin ürünler içerisindeki etkinliğinin sürdürülebilmesi için formülasyonlarda kullanılan bu maddeler ile geçimli olması gerekmektedir (Çevikbaş vd., 2015; Özer, 2004). Yüksek konsantrasyonda orta derecede antimikrobiyal etki gösteren, düşük konsantrasyonda kullanıldığında ise Gram negatif bakteri ve mantarların üremesini arttırabilen anyonik yüzey etkin maddeler ve antimikrobiyal etki göstermeyerek mikroorganizmaların gelişmesi için uygun ortam oluşturan noniyonik yüzey etkin maddeler koruyucu etkinlikleri ile girişim gösterebilirler. Ürünlerde iyi derecede antimikrobiyal etki gösteren katyonik yüzey etkin maddeler ise koruyucular ile nadiren girişim yapar ve genellikle koruyucu etkinliğini

arttırlar. Çinko, demir, alüminyum gibi metal tuzlarının varlığında da koruyucularla geçimlilik durumuna dikkat edilmelidir (Özer, 2004).

Formülasyondaki maddeler, koruyucuların kimyasal kararlılığını hidroliz (klorhekzidin, bronopol ve 5-hidroksibenzoik asit esterleri), redüksiyon (bronidoks, hidrojen peroksit, tiyol ve sülfürler), oksidasyon (benzil alkol, sorbik asit) ve tuz etkisi (klorhekzidin, kuaterner amonyum bileşikleri) gibi reaksiyonlarla etkileyebilir. Kararlılığı etkileyen diğer faktör ise koruyucunun polisakkaritlere (agar, aljinatlar), poliakrilatlara, katı maddelere (pigment, talk, kil), ambalaj malzemelerine (PVC, kauçuk) tutunması sonucu, sulu fazda etkili olacak düzeyde kalmamalarıdır. Misel oluşumundan dolayı koruyucuların sulu faz dışarısında kalması etkinliklerinin azalmasına sebep olduğu için de kararlılık etkilenir (Özer, 2004).

Ambalaj materyali ile ürünler arasında çeşitli sebeplerden dolayı koruyucu maddelerin aktivite değişimleri, etkin maddelerin parçalanması, bileşenler arasında girişim, ambalaj maddesine sorpsiyon sonucu etkin madde kaybı gibi olumsuz durumlar gözlemlenebilir (English, 2006; Özer, 2004). Kuaterner amonyum bileşiklerinin plastik ve cam yüzeyler tarafından, koruyuculardan benzoik asit, sorbik asit ve parabenlerin plastik yüzeyler tarafından absorbe edilmesinden dolayı formülasyonlardaki miktarlarında önemli ölçüde azalma gözlemlenmektedir (Baird, 2004; Çevikbaş vd., 2015).

Mikrobisidal özellikte olması gereken koruyucuların pek çoğunun oda ısısında sporisidal aktivitesi sınırlandırılmış olmasına rağmen mikroorganizmaların vejetatif formlarına karşı iyi bir etki göstermeleri ve mikrobiyal zorluk seviyelerine dayanabilmesi beklenmektedir. Ortam koşullarına bağlı olarak koruyucu aktivitesi, mikroorganizmaların cinsi ve sayısına göre değişebilmektedir (Denyer, 2007).

1.3.2. Kullanımına İzin Verilen Koruyucular

Çizelge 1.2. Kozmetik ve dermokozmetik ürün formülasyonlarında kullanımına izin verilen koruyucular

<u>Benzoik Asit ve Sodyum Tuzları</u> Sodyum Benzoat, Amonyum Benzoat, Kalsiyum Benzoat, Potasyum Benzoat, Magnezyum Benzoat, MEA-Benzoat, Metil Benzoat, Etil Benzoat, İzopropil Benzoat, Propil Benzoat, İzobütil Benzoat, Butil Benzoat, Pentil Benzoat	<u>Propiyonik Asit ve Tuzları</u> Propiyonik Asit, Amonyum Propiyonat, Kalsiyum Propiyonat, Magnezyum Propiyonat, Potasyum Propiyonat, Sodyum Propiyonat, Salisilik Asit, Kalsiyum Salisilat, Magnezyum Salisilat, MEA-Salisilat, Sodyum Salisilat, Potasyum Salisilat, TEA - Salisilat	<u>4-Hidroksibenzoik Asit, Esterleri ve Tuzları</u> 4-Hidroksibenzoik Asit, Metilparaben, Potasyum Etilparaben, Potasyum Paraben, Sodyum Metilparaben, Sodyum Metilparaben Etilparaben, Sodyum Paraben, Potasyum Metilparaben, Kalsiyum Paraben
<u>5-Kloro-2-(2,4- diklorofenoksi) Fenol</u> Triklolan	<u>Kloroksilenol</u> Kloroksilenol	<u>Poliheksametilen biguanid hidroklorür</u> Poliaminopropil biguanid
<u>Hekza-2,4-dienoik Asit ve Tuzları</u> Sorbik Asit, Kalsiyum Sorbat, Sodyum Sorbat, Potasyum Sorbat	<u>Benzalkonyum klorür, bromür ve sakkarinat</u> Benzalkonyum klorür, Benzalkonyum bromür, Benzalkonyum sakkarinat	<u>1,3-Bis (hidroksi- metil)-5,5-dimetil- imidazolidin-2,4-dion</u> DMDM Hidantoin
<u>2,4-Diklorobenzil Alkol</u> Diklorobenzil Alkol	<u>1-(4-Klorofenil)-3- (3,4-diklorofenil)</u> Triklorokarban	<u>Klorokrezol</u> p-Kloro-m-Kresol
<u>Bifenil-2-ol</u> o-Fenilfenol	<u>Klorobutanol</u> Klorobutanol	<u>Tiyomersal</u> Timerosal
<u>Fenilmerkürük Tuzları</u> Fenil Cıva Asetat, Fenil Cıva Benzoat	<u>N,N''-metilen- bis[N'-(3-(hidroksi- metil)-2,5-dioksimidazolidin-4-il]üre</u> İmidazolidinil Üre	<u>1-(4-Klorofenoksi)-1-(imidazol-1il)-3,3-dimetilbutan-2-on</u> Klimbazol
<u>İnorganik Sülfidler ve Hidrojen-Sülfidler</u> Sodyum Sülfat, Amonyum Sülfat, Potasyum Sülfat, Potasyum Hidrojen Sülfat, Amonyum Bisülfat, Sodyum Bisülfat, Sodyum Metabisülfat, Potasyum Metabisülfat	<u>N,N''-bis(4-kloro- fenil)-3,12-diümino- 2,4,11,13-tetraazatetra-dekandiamidin ve onun diglukonat, diasetat ve dihidroklorür</u> Klorheksidin, Klorheksidin Diasetat, Klorheksidin Diglukonat, Klorheksidin Dihidroklorür	<u>Alkil (C12-22) trimetil amonyum bromür ve klorür</u> Behentrimoniyum klorür, Setrimoniyum bromür, Setrimoniyum klorür, Laurtrimonyum bromür, Laurtrimonyum klorür, Steartrimonyum bromür, Steartrimonyum klorür
<u>1,2,3-Propantrikarboksilik asit, 2-hidroksi-, monohidrat ve 1,2,3-Propantri karboksilik asit, 2-hidroksi-, Gümüş(+1) tuzu, monohidrat</u> Sitrik asit ve Gümüş sitrat	<u>Undek-10-enoik Asit ve Tuzları</u> Undesilenik asit, Potasyum undesilenat, Sodyum undesilenat, Kalsiyum undesilenat, TEA-undesilenat, MEA-undesilenat	<u>Benzenkarboksimidamid, 4,4'-(1,6-hekzandiil-bis (oksi))bis- ve tuzları</u> Heksamidin, Heksamidin diizetiyonat, Heksamidin paraben
<u>3-Asetil-6-metil-piran-2,4 (3H)-dion ve Tuzları</u> Dehidroasetik Asit, Sodyum Dehidroasetat	<u>Formik Asit ve Sodyum Tuzu</u> Formik Asit, Sodyum Format	<u>3,3'-Dibromo-4,4'-hekzametilen- dioksidi-benzamidin ve Tuzları</u> Dibromoheksamidin İzetiyonat
<u>5- Pirimidinamin, 1,3-bis hekzahidro-5-metil-</u> Heksetidin	<u>5-Bromo-5-nitro-1,3-dioksan</u> 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioksan	<u>Bronopol</u> 2-Bromo-2-nitropropan-1,3-diol

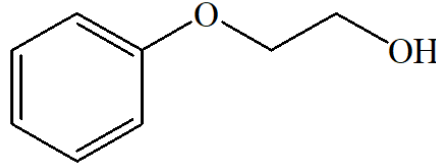
Çizelge 1.2. Devam Kozmetik ve dermokozmetik ürün formülasyonlarında kullanımına izin verilen koruyucular

1-Hidroksi-4-metil- 6-(2,4,4-trimetil- pentil) 2-piridon ve Monoetanolamin Tuzu 1-Hidroksi-4-metil-6- (2,4,4-trimetilpentil) 2-piridon, Pirokton Olamin	Benzenmetanaminyum, N,N-dimetil-N-[2-[2-[4-(1,1,3,3-tetrametil-butil) fenoksi]etoksi]etil]- klorür Benzetonyum Klorür	5-Kloro2-metil-izotiyazol-3(2H)-on ve 2-metilizotiyazol-3(2H)-on karışımı Metilkloroizotiazolinon, Metilizotiazolinon
2,2'-metilenbis Bromoklorofen	4-İzopropil-m-kresol o-Cymen-5-ol	1-Fenoksipropan-2-ol Fenoksizopropanol
4,4-Dimetil-1,3- oksazolidin Dimetil Oksazolidin	Glutaraldehit (Pentan-1,5-dial) Glutaral	5-Etil-3,7-dioksa-1-azabisiklo [3.3.0] oktan 7-Etilbisiklooksazolidin
2-Fenoksietanol Fenoksietanol	Metenamin Metanamin	Benzil Alkol Benzil Alkol
N-(Hidroksimetil)- N-(dihidroksimetil- 1,3-diokso-2,5-imid- azolidinil-4)-N'-(hidroksimetil) üre Diazolidinil Üre	Etil-N-alfa-dodekanoil-L-arjinat hidroklorür Etil Lauroyl Arginat HCl	Titanyum dioksit üzerinde biriken gümüş klorür Gümüş klorür
3-(p-Klorofenoksi)-propan-1,2 diol Klorfenesin	Sodyum N-(hidroksimetil)glisinat Sodyum Hidroksimetilglisinat	4-(3-etoksi-4-hidroksifenil) butan-2-on Hidroksietoksifenil Bütanon
Metanol, (fenilmetoksi-) Benzilhemiformal	3-İyodo-2- propinilbutilkarbamat İyodopropinil bütilkarbamat	2-Metil-2H-izotiyazol-3-on Metilizotiyazolinon

Kaynak: (Kozmetik Yönetmeliği, 2005)

1.3.3. Çalışmada Kullanılan Koruyucular

1.3.3.1. Fenoksietanol



Şekil 1.3. Fenoksietanol molekül çizimi

Birincil ad ve/veya INCI adı fenoksietanol, IUPAC adı 2-fenoksietanol olan ve etilen glikol monofenil eter, fenoksitol, 1-hidroksi-2-fenoksietan, (2-hidroksietoksi) benzen eş anlamlı isimleriyle de adlandırılan bu madde, fenol ester ve aynı zamanda aromatik bir alkoldür (Arabacı ve Alisawi, 2021; European Commission, 2016b). Ampirik formülü C₈H₁₀O₂, CAS numarası 122-99-6 ve moleküler ağırlığı 138,17 g/mol'dür (European Commission, 2016b). En belirgin özelliği koruyucu bir kimyasal özelliğe sahip olmasıdır (Arabacı ve Alisawi, 2021). Katyonik ve anyonik yüzey aktifleri ile uyumludur (Denyer,

2007). Renksiz, oda sıcaklığında yağlı, hafif viskoz sıvı fiziksel forma sahip bu organik kimyasal bileşenin kaynama sıcaklığı 247°C'dir (Arabacı ve Alisawi, 2021; Çevikbaş vd., 2015; European Commission, 2016b).

Fenoksietanol ideal oranda kullanıldığında cilde, mukozaya, gözlere zarar vermemesi ve ciltte hassasiyet göstermemesi sebebiyle farklı sektörlerde kullanımı yaygındır. Genel olarak kozmetik ürünlerde ve aşılarla kullanımının yanısıra, topikal ilaç üretimi, akne tedavisi, el dezenfeksiyonu, caprylyl glycol ile kullanımda cilt kırıksıklıklarının giderilmesi, saç ve cilt için protein kaynaklı üretim, humektan içerikli preparatların üretimi, kulak damlası imalatı, ıslak mendil ve mürekkepli kalem gibi ürünlerde koruyucu madde olarak kullanılır (Arabacı ve Alisawi, 2021; Dreno vd., 2019). Formaldehit salan koruyuculara da alternatif olarak kullanılırlar. Tıpta anestezi ilacı olarak sedasyon işlemlerinde tercih edilir (Arabacı ve Alisawi, 2021). Çözücü özelliğe sahip olmasından dolayı farklı koruyucuları içeren preparatlarda çözücü olarak kullanılabilir (European Commission, 2016b). Ayrıca koku karışımlarında bir koku bileşeni olarakta kullanılabilirler (Dreno vd., 2019).

Fenoksietanol preparatlarda yüksek antimikrobiyal koruyucu aktivitesi gösterebilmesi ve geniş pH skalasına hitap edebilmesi sayesinde mikroorganizmalara karşı spektrumu geniş bir etkiye sahiptir (Arabacı ve Alisawi, 2021; European Commission. (2016b). Solunumdan oksidatif fosforilasyonu ayırarak ve malat dehidrogenazı rekabetçi olarak inhibe ederek antimikrobiyal etkisini gösterir. Ayrıca, hücre zarının potasyum iyonlarına geçirgenliğini artırır ve bakterisidal bir etki göstererek mikrobiyal DNA ve RNA sentezini direkt olarak inhibe ederler (Dreno vd., 2019).

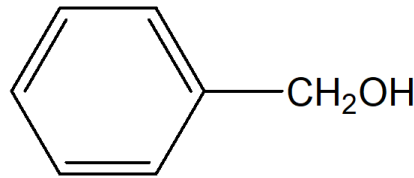
Fenoksietanol kozmetik formülasyonlarda maksimum %1,0 konsantrasyonda kullanılır (European Commission, 2016b). Meksika'da bu değer %0,3 miktarına kadar sınırlandırılmıştır. Fenoksietanolün %1'lik konsantrasyona kadar kullanımı zararsız olarak tasvir edilir. 3 yaş altındaki çocuklara bez bölgesi için en fazla %0,4 oranda kullanımı ön görülmektedir. Fenoksietanol kozmetik formülasyonlarda bazı koruyucu kimyasallar ve sorbik asit ile birlikte %0,2-%0,5 konsantrasyonlarda kullanılır. Reçetesiz satılan dezenfektan ürünlerde %2'lik konsantrasyon ile pazara sunulduğu da bilinmektedir (Arabacı ve Alisawi, 2021). El dezenfektanlarında ise %5'e kadar konsantrasyonları kullanılmaktadır (Dreno vd., 2019).

24/03/2005 tarihli ve Resmî Gazete 5324 sayılı Kozmetik Kanunu'na göre Kozmetik Yönetmeliği, kozmetik ürünlerde fenoksietanol kullanımının genel olarak %1'lik

konsantrasyon miktarı üzerinden değerlendirmekte ve bu miktardan fazla kullanılması durumunda insan sağığına kasti zarar gerekçesi ile ilgili üreticilere yaptırımlar uygulamaktadır. Yapılan çalışmalarda bu konsantrasyon üzerinde kullanımlarda dermatit, ürtiker gibi istenmeyen durumlar gözlemlenmiştir. Fenoksietanolün yutulması ve gözle teması halinde ciddi toksik etki ve tahrişlere yol açtığı belirtilmiştir. Bu risklerden dolayı çocuklarda kullanımı önerilmemektedir (Arabacı ve Alisawi, 2021).

Fenoksietanol, diğer kozmetik kimyasal koruyuculara (örneğin metilizotiyazolinon, iyodopropinil butilkarbamat, etilheksilgliserin ve metil paraben) göre normal ciltteki bakteriler üzerinde daha zayıf bir inhibisyon etkisi gösterir. Hayvanlarda ve insanlarda hem oral hem de topikal yollardan yapılan birçok kinetik çalışma, fenoksietanolün hızlı emildiğini, dağıtıldığını, metabolize edildiğini ve atıldığını göstermiştir. Fenoksietanol cildin içinde veya karaciğerde metabolize edilebilir ancak karaciğerde metabolizma oranı daha yüksektir (Dreno vd., 2019). Cildin emilim bazında ilerleyen bir yapıya sahip olmasından dolayı fenoksietanolün, ürünlerde farklı konsantrasyonlarda kullanılması zaman içerisinde ciltte birikime yol açabilir ve cilt tarafından emilen bu kimyasal zaman içerisinde deri altında toksik madde biriktirmeme riski oluşturabilir. Bu durumlardan dolayı fenoksietanol kullanımı ve fayda/zarar ilkesi hala araştırılmaya açık bir konudur (Arabacı ve Alisawi, 2021).

1.3.3.2. Benzil Alkol



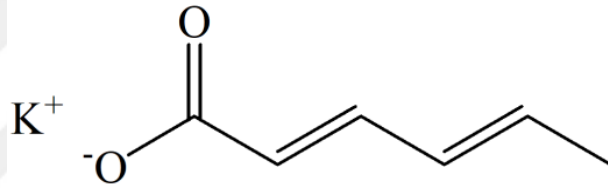
Şekil 1.4. Benzil alkol molekül çizimi

Birincil ad ve/veya INCI adı benzil alkol, IUPAC adı fenilmetanol olan bu bileşiğin molekül formülü C₇H₈O, CAS numarası 100-51-6 ve moleküler ağırlığı 108,14 g/mol'dür (National Center for Biotechnology Information, 2023a). Benzil alkol kozmetik formülasyonlarda koruyucu, çözücü, koku maddesi ve viskozite azaltıcı olarak kullanılan bir aromatik alkoldür (Johnson vd., 2017; Nair, 2001). Zayıf lokal anestezik özelliğe sahip olan bu bileşik benzaldehit ve benzoik asitle havada oksitlenmektedir ve noniyonik yüzey aktifler tarafından aktivitesi azaltılmaktadır (Denyer, 2007; Gorman ve Scott, 2004).

Benzil alkol, hem bakterilere hem mantarlara etkilidir (English, 2006). Toksisitesi düşük olduğu için sabun, şampuan, yüz temizleyici, cilt losyonu gibi kozmetik ve dermokozmetik ürünlerde sıklıkla tercih edilmektedir (Sulaiman vd., 2020). Benzil alkol aromatik alkolü yasemin, sümbül, ylang-ylang gibi birçok bitkinin uçucu yağında yaygın olarak bulunmaktadır (Nair, 2001; Sulaiman vd., 2020).

Benzil alkolün kozmetik ürünlerde kullanım konsantrasyonu %1-3 aralığındadır (Denyer, 2007). Düşük konsantrasyonlarda ise intravenöz ve topikal ilaçlarda kullanılabilirler. Yetişkin ve çocuklarda baş biti tedavisinde de kullanılmaktadır. Bu tedavide tercih edilen konsantrasyon %5'tir (Ataman Chemicals, t.y.). Yaygın olarak çeşitli ev temizlik ürünlerinde de kullanılan benzil alkolün, bir temas alerjisi olduğu bildirilmiş ve bu ürünleri kullanan nüfusun önemli bir kısmında alerjik kontakt dermatite yol açtığı belirtilmiştir (Ataman Chemicals, t.y.; Sulaiman vd., 2020).

1.3.3.3. Potasyum Sorbat



Şekil 1.5. Potasyum sorbat molekül çizimi

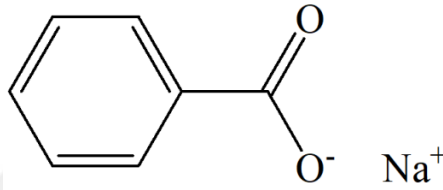
Birincil ad ve/veya INCI adı potasyum sorbat, IUPAC adı potassium;(2E,4E)-hekza-2,4-dienoat olan ve sorbistat potasyum, potasyum (E,E)-sorbitat, sorbik asit potasyum tuzu gibi birçok eş anlamlı isimleriyle de adlandırılır. Ampirik formülü C₆H₇O₂K, CAS numarası 590-00-1 veya 24634-61-5, moleküler ağırlığı 150,22 g/mol'dür (National Center for Biotechnology Information, 2023b). Suda çözünürlüğü yüksek olan bu tuz, sıvı stok çözeltiler için geliştirilmiştir. Beyaz renkli, kristal toz formda, kokusuz, yumuşak ve parlak bir yapıdadır (Chichester ve Tanner, 1972; Saldamlı, 1985).

Suda çok iyi çözünmesinden dolayı kozmetik, dermokozmetik ve gıdalarda mikroorganizmalara karşı koruyucu olarak sık sık kullanılmaktadır (Davidson vd., 2005; National Center for Biotechnology Information, 2023b). Geniş antimikrobiyal aktivitesi olduğundan dolayı ilaç olarak kullanıldığı da bilinmektedir (National Center for Biotechnology Information, 2023b). Küf ve mayalara karşı etkinliği bakterilere karşı olan etkinliğinden daha fazladır. Ayrıca katalaz-pozitif mikroorganizmalara etkinliği de

bilinmektedir. Mikrobiyal kültür ortamlarında ve gıdalarda farklı küf mitotoksinlerini inhibe etmektedir. Düşük sorbat miktarının ise küfün cinsine ve çevresel faktörlere bağlı olarak mikotoksinleri canlandırabildiği gözlemlenmiştir (Furia, 1972).

Belirtilen bu ürünlerin formülasyonlarında %0,6'ya kadar kullanımında, insan vücuduna temas sonrasında birincil tahriş edici maddeler değildir. Bu konsantrasyonlarda test edilen potasyum sorbatın insanlarda nadiren intolerans vakaya sebep olduğu bildirilmiştir (National Center for Biotechnology Information, 2023b).

1.3.3.4. Sodyum Benzoat



Şekil 1.6. Sodyum benzoat molekül çizimi

Birincil ad ve/veya INCI adı sodyum benzoat, IUPAC ismi sodyum;benzoat olan kimyasal madde sobenat, antimol, benzoik asit sodyum tuzu gibi birçok eş anlamlı isimleriyle de adlandırılır. Ampirik formülü $C_7H_5O_2Na$, CAS numarası 532-32-1, moleküler ağırlığı 144,10 g/mol'dür (National Center for Biotechnology Information, 2023c).

Bu madde beyaz kristal veya granüler bir toz halinde görünür. Başlıca uygulamaları arasında soda ve meyve suyu gibi ürünlerde yaygın olarak kullanıldığı gıda endüstrisi bulunmaktadır. Ayrıca kozmetik ve farmasötik ürünlerde de sıklıkla kullanılmaktadır. Suda iyi çözünür ve benzoik asitle karşılaştırıldığında suda çözünürlüğü artar. Özellikle suda değil, aynı zamanda etanol ve metanolde de dikkate değer bir çözünürlük sergileyerek çeşitli formülasyonlardaki çok yönlülüğünü göstermektedir (Davidson vd., 2005; Pylypiw ve Grether, 2000).

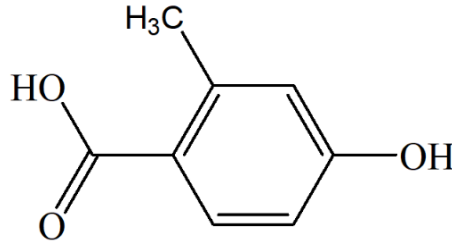
Tarçın, kurutulmuş karanfil, yoğurt ve kuru erik gibi gıdalarda doğal bir şekilde bulunabilen benzoik asit, sodyum benzoat olarak bilinen sodyum tuzu formunda uzun süredir koruyucu olarak kullanılmaktadır. Serbest benzoik asidin sınırlı çözünürlüğü nedeniyle sodyum tuzuna bu dönüşüm tercih edilir. Uygulama sırasında tuz tekrar aktif asit formuna dönüşür. Araştırmalar, sodyum benzoatın antimikrobiyal özellikler sergilediğini ve lipofilik yapısının mikroorganizmaları engellemede veya öldürmede etkili olduğunu kanıtlıyor.

Mikropları engellemek için optimal pH aralığı 2,5 ila 4,0 arasındadır. Bu aralık sorbik veya propiyonik asit değerlerinden düşüktür. Bu bilgi, gıda muhafaza süreçlerinde sodyum benzoatın önemini vurgulamaktadır (Altuğ ve Demirağ, 1993).

Sodyum benzoat özellikle asidik koşullar altında etkili olup, maya, küf ve bakteri üremesinin engellenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Davidson vd., 2005). Benzoik asitler için kozmetik formülasyonlarda maksimum kullanım %0,5'tir. Sodyum benzoatın ağız ürünlerinde kullanılan konsantrasyonları %1.7 oranına kadar çıkabilirken durulanamayan ürünlerde maksimum %0,5 oranında kullanılmaktadırlar (Johnson vd., 2017).

Araştırmacılar, diğer koruyuculara benzer şekilde benzoik asitlerin sinerjistik etkilerini aktif şekilde araştırmaktadırlar. Dikkate değer bir bulgu olarak, sodyum klorür ve sodyum benzoat arasındaki önemli sinerji bildirilmiştir. Ek olarak çalışmalar, benzoik asidin ısıyla kombinasyonunun, özellikle maya ve küf oluşumunun engellenmesinde sinerjistik bir etki gösterdiğini göstermiştir. Bu keşifler, koruyucu maddeler ve diğer faktörler arasındaki karmaşık etkileşimlere ışık tutarak, gelişmiş kozmetik ve gıda koruma tekniklerinin önünü açmaktadır (Ova, 2001).

1.3.3.5. Metil Paraben



Şekil 1.7. Metil paraben molekül çizimi

Birincil ad ve/veya INCI adı metil paraben, IUPAC ismi metil 4-hidroksibenzoat olan ve metil parahidroksibenzoat, metil p-hidroksibenzoat, 4-hidroksibenzoik asit metil ester, p-metoksikarbonilfenol gibi birçok eş anlamlı isimleriyle de adlandırılır. Ampirik formülü C₈H₈O₃, CAS numarası 99-76-3 ve moleküler ağırlığı 152,15 g/mol'dür (National Center for Biotechnology Information, 2023d). Düşük toksisiteye ve düşük maliyetleri nedeniyle tercih edilirler (Türkoğlu ve Pirinç, 2016). Renksiz veya beyaz kristal toz forma sahip bu madde kokusuz veya hafif karakteristik kokuya sahiptir. Kaynama sıcaklığı 270,5°C'dir (National Center for Biotechnology Information, 2023d).

Kimyasal madde grubu parabenler, ilk olarak 1920'lerde farmasötik ürünlerde kullanılan antimikrobiyal özelliğe sahip koruyucu maddeler olarak bilinmektedir (Hakimoğlu ve Tan, 2020). Parabenler adını para-hidroksibenzoik asitin esterleri olmasından almıştır. Yaygın kullanılanlar metil, etil, propil, bütül ve heptil parabenlerdir (Türkoğlu ve Pirinç, 2016). Metil paraben 4-hidroksibenzoik asidin karboksi grubunun metanol ile formal olarak yoğunlaştırılmasından elde edilen 4-hidroksibenzoat esteridir (Cheebi, t.y.).

Birçok kozmetik ve kozmesötik üründe, bakteriyel ve fungal kontaminasyonun önlenmesinde popüler olarak propil ve metilparaben esterleri kullanılır (Rietschel ve Fowler, 2008). Yaygın olarak ilaçlar, kozmetikler ve gıda maddelerinde kullanılan metil parabenin kozmetik ürünlerde en sık tercih edilen antimikrobiyal koruyucu olduğu bilinmektedir (Cheebi, t.y.; Hakimoğlu ve Tan, 2020). Parabenlerin antifungal aktiviteleri antibakteriyel aktivitelerinden daha fazla olduğu bildirilmektedir (Rietschel ve Fowler, 2008).

Parabenler doğal olarak birçok meyvede bulunmaktadır. Yaban mersini bu meyvelerin başında gelmektedir (Cheebi, t.y.). Parabenler tek başına kullanımlarının yanı sıra sık sık diğer koruyucular ile birlikte de kombine şekilde kullanılmaktadır (Rietschel ve Fowler, 2008). Yapılan bazı çalışmalarda metilparaben etkinliğinin *Salvia officinalis*, *Eucalyptus globulus* ve *Laurus nobilis* yağları ile kombine edildikten sonra 200 kat arttığı gözlemlenmiş, metilparaben ile kombine edilmiş *Mentha piperita* ve *Okaliptüs globosus* yağlarının *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Herman, 2019).

Metil, etil, propil ve bütül esterlerin kombine kullanımları formülasyonun su ve yağ fazını korumaktadır (Block, 2001). Alkil zincirlerindeki karbon sayısının artması yağdaki çözünürlüklerini arttırırken sudaki çözünürlüklerini azaltmaktadır (Soni vd., 2002). Propil parabenin yüksek aktivitesi ve metil parabeninin suda iyi çözünmesi bu iki maddenin birlikte kullanılmasında avantaj sağlamaktadır (Block, 2001).

Parabenler ciltten hızlı emilirler ve nötral pH düzeylerde en yüksek etkiyi göstermektedirler (Baird, 2004; Darbre vd., 2004). Nükleik asitlerle etkileşime girerler ve sitoplazmik zar geçirgenliğini etkileyerek etki göstermektedirler (Denyer ve Baird, 2006). Parabenlerin kozmetik ürün formülasyonlarında, %1 konsantrasyona kadar kullanımına izin verilmektedir (Darbre vd., 2004). Yapılan incelemelerde insanlar bir günde 76 mg parabene maruz kalmaktadır (Hakimoğlu ve Tan, 2020).

Bonnevie, parabenlerin tetiklediği alerjik kontakt dermatitin ilk örneğini ortaya çıkardığında Danimarka'da dermatoloji alanında çığır açan bir keşif ortaya koydu. Atlantik'in

diğer tarafında, Amerika'da Schorr'un çalışması bu keşifi onadı ve ABD'de alerjik kontakt dermatitin tanımlanmasına olanak sağladı. Dahası, araştırmalar formaldehit yayıcılar kategorisine ait formaldehit ve koruyucuların neden olduğu alerjik reaksiyonlara ışık tuttu. Bu bulgular, alerjik kontakt dermatitin ardındaki çeşitli tetikleyicilerin anlaşılmasının ciddiyetini belirterek daha fazla araştırma gerektiğinin önemini vurgulamaktadır (Sasseville, 2004).

Alerjik reaksiyonlara neden olmanın yanı sıra, koruyucular kanserle de ilişkilendirilmiştir ve yaygın olarak kullanılan bazı parabenlerin, hem laboratuvar çalışmaları (in vitro) hem de canlı organizmaları içeren çalışmalar (In vivo) tarafından östrojenik aktivite sergilediği gözlemlenmiştir. Araştırmalar, bu maddelerle ilişkili potansiyel sağlık sorunlarını vurgulayarak, bunların yaygın kullanımıyla ilgili önemli soruları gündeme getirmektedir (Routledge vd., 1998; Ye vd., 2006). Parabenlerin bu normal dışı östrojenik aktivitelerinin göğüs kanseri oranını arttırdığı bildirilmiştir (Darbre, 2006). Yapılan diğer çalışmalara bakıldığında ise araştırmacılar anne sütü ve kordon kanında metilparaben tespit etmişlerdir (Ye vd., 2006). 2012 senesinde yapılan bir çalışmada, özellikle sağlıklı göğüs dokusunun dış çeyreğinde yüksek düzeyde propilparaben keşfedildi. Bu çalışma aynı zamanda göğsün diğer kısımlarında da farklı türdeki parabenlerin benzer konsantrasyonlarına dikkat çekmektedir. Ayrıca, parabenler ve endometriyal kanser arasındaki bağlantıyı araştıran 2016 tarihli bir çalışmada çok önemli bulgular elde edildi. Analiz edilen örnekler arasında propilparaben ve izobütilparaben ile bütülpaben kombinasyonu en sık tespit edilen moleküller oldu. Bunlar 10 örnekten 7'sinde gözlemlendi. Bu bulgular, belirli paraben türlerinin insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkisini vurgulayarak bu alanda devam etmesi gereken araştırmaların önemini göstermektedir (Doğan, 2016; Öztürkcan ve Keleş, 2016).

Çizelge 1.3. Koruyucuların, kozmetik ürünlerde kullanımı uygun görülen maksimum konsantrasyon ve çalışma sıcaklıkları

Koruyucular	Konsantrasyon (g/mL)	Çalışma Sıcaklığı
Fenoksietanol	%1	80°C
Benzil alkol	%1-3	80°C
Potasyum sorbat	%0,6	80°C
Sodyum benzoat	%0,5	80°C
Metil paraben	%0,6	80°C

Kaynak: (Darbre, 2004; Denyer, 2007, European Commission, 2016b; Johnson vd., 2017; National Center for Biotechnology Information, 2023b).

1.4. İnsan Cilt Florası

Cilt yapısını oluşturan deri, vücudu tam anlamıyla saran biri yapıya sahiptir. Deri, cildin dış dünya ile temas etmesini, kontrol etmesini ve iletişimini sağlayan bir organ olarak tanımlanmaktadır. Cildi fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik açıdan korumaktadır. Ayrıca sıvı, elektrolit ve sıcaklık dengesini de korumaktadır. İnsan cildi çok sayıda yapısal proteinin, glikanın ve lipid yapılarının bulunduğu, sistemler arasında çok sayıda bağlantının kurulduğu, sinyal moleküllerinin işlendiği ve metabolize edildiği oldukça aktif ve büyük bir biyolojik yapıya sahiptir (Chuong vd., 2002).

İnsan derisi epidermis en üstte, ortada dermis ve altta bulunan hipodermis tabakalarından oluşmaktadır. Epidermis, olgunlaşmanın farklı aşamalarındaki hücrelere sahip 5 katmana sahiptir. En kalın tabaka olarak nitelendirilen dermis tabakası elastin, yağ kanalları, kollajen lifleri, saç kökleri, ter bezleri ve duyu sinir bağlantılarından oluşmaktadır (Sato vd., 1996). Dermis tabakasının devamı olan hipodermis tabakası ise bağ dokusu yapısındadır ve yağ hücrelerince zengindir. Bu tabaka deriyi alttaki organlara bağlama görevi görmektedir (Junquera ve Carneiro, 2009).

İnsan derisi mikroorganizmaların yaşam formlarını sürdürebilmeleri için oldukça müsait bir ortamdır. Farklı mikroorganizma grupları insan derisinde kolonize olabilirler (Castillo vd., 2019; Hadaway, 2003; Roth ve James, 1988). Kolonizasyon, topoŞekil konuma, endojen konakçı faktörlere ve ekzojen çevresel faktörlere bağlı olarak, cilt yüzeyinin ekolojisi tarafından yönlendirilmektedir (Grice ve Segre, 2011). İnsan cildinin bariyer fonksiyonu için bu mikroorganizmaların hassas dengesi çok önemlidir (Castillo vd., 2019). Cilt üzerindeki bu kolonizasyonları oluşturan tüm mikroorganizma toplulukları cilt florası olarak adlandırılır. İnsan vücudunda bulundukları bölgeye, yaşa, cinsiyete ve insanların yaşam biçimine göre mikroorganizmaların sayıları ve türleri farklılık göstermektedir (Hadaway, 2003). Bu farklılıklardan dolayı cilt florasında yaşayan mikroorganizmaları kategorize etmek ve genelleme yapmak oldukça zordur. Flora üzerinde yapılan mikrobiyal çalışmalar genellikle sağlıklı, tüysüz, özel uzantıları olmayan, sıradan ciltler yerine farklı özelliklere sahip kafa derisi, koltuk altı vb. bölgeler üzerinde yapılmıştır (Evans vd., 1950). Florada bulunan mikroorganizmalar sadece cilt yüzeyinde değil, cildi oluşturan tüm katmanlarda bulunmaktadır (Sato vd., 1996).

Mikroorganizmaların cilt içinde ve yüzeyinde gelişmesini birçok faktör etkilemektedir. Bu faktörlere vitaminler, şekerler, elektrolitler ve aminoasitler gibi besinler örnek verilebilir. İnsan cildindeki farklılıklar deri üzerindeki çalışmalarda çok önemlidir.

Derideki lipitler, kolestrol, serbest yağ asitleri ve trigliseritlerden oluşmaktadır. Bu lipitlerin genel deri formuna etkisi belirsizdir fakat lipitler, bazı mikroorganizmaların gelişmesini engeller. Ciltteki lipitlerin alkol ile uzaklaştırılması mikroorganizmaların cilde yapışmasını ve hayatta kalma süresini artırır. Derideki nem de mikroorganizmaların çoğalmasındaki hızı arttırmaktadır (Hadaway, 2003). Mikrobiyal büyümeyi doğrudan inhibe edebilen, bağışıklık tepkilerinin aktivatörleri ve aracıları olarak hizmet veren, indüklenebilir veya yapısal olarak ifade edilen antimikrobiyal peptidler, proteazlar, sitokinler ve kemokinler, sağlıklı bir insan derisinin korunmasına katkıda bulunurlar (Christensen ve Brüggemann, 2014).

İnsan derisinin kuru, nemli ve yağlı olarak gruplandırılması farklı mikroorganizma profillerinin gözlemlenmesine olanak sağlamaktadır (Hartmann, 1990). Mikroorganizmaların en fazla sayıda ve türde görüldüğü yerler insan cildinin nemli bölümlerinden olan koltuk altı ve kasık bölgeleridir. En az sayıda ve türde mikroorganizma barındıran bölge ise kuru olması sebebiyle ekstremitelerin derisidir (Hadaway, 2003). Normal sayıda ve türde mikroorganizmanın bulunduğu bölgeler ise sebum açısından zengin olan alın, boyun ve göğsün üst kısımlarıdır (Pearson ve Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, 1996).

1.4.1. Cilt Florasında Bulunan Mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar insan cildinde yerleşik flora üyesi ve geçici flora üyesi olarak adlandırılan iki farklı şekilde bulunmaktadır. Geçici flora üyeleri, insan cildinin sadece yüzeyinde bulunurlar. Geçici flora, yüksek patojenik özelliğe sahip *Stafilokok*, *Pseudomonas* ve *Candida* gibi mikroorganizma türleri olmak üzere birçok farklı türü içerebilir. Yerleşik flora da geçici flora gibi cilt yüzeyinde bulunabilir fakat geçici floradan farklı olarak derinin bez katmanlarında da bulunurlar. Bu tabakalar olgunlaştıkça ve hücreler açığa çıktıkça mikroorganizmalar da cilt yüzeyine çıkarlar (Hadaway, 2003). *Stafilokok*, mikrokok, Gram negatif basil, korineform bakteriler ve mikoflora mantarları gibi mikroorganizmalar yerleşik floranın daimi üyelerindendir (Hadaway, 2003; Roth ve James, 1988).

Yaş ve cinsiyet farkı gibi birçok özelliğe bağlı olarak insan cilt florasında bulunan mikroorganizma miktarları farklılık göstermektedir. Koloni başına hücre içeren mikroorganizma sayısı erkeklerde daha fazladır. Yaşlılarda cilt kuru görünse de genç kişilere göre ciltleri daha yüksek su içeriğine sahiptir. Bunun sebebi yaş ilerledikçe aktif ter ve yağ bezlerinde azalma görülmesidir. Örneğin mayalar yaşlı insanların cildinden daha fazla kültürlenebilirler (Larson vd., 2000). Yenidoğanlar doğumdan sonra steril uterustan çıkıp *Staphylococcus epidermidis* ile kolonize olabilirler. Mikrokokların cilt kolonizasyonu

erkekler ve yaşlılarda, kadınlar ve çocuklara göre daha az görülmektedir. Nadiren hastalık oluşturdıkları için bu mikroorganizmalar hakkında araştırma sayısı azdır (Hadaway, 2003; Larson vd., 2000).

Mikrokok ve stafilokoklar, Gram pozitif ve katalaz pozitif koklardır (Baird-Parker, 1963). Stafilokoklar insan cilt florasında mikrokoklardan daha fazla görülürler. Cildin birçok özelliği stafilokok türlerinin büyümesine ve gelişmesine katkıda bulunmaktadır. (Larson vd., 2000). İnsan derisinde stafilokok türlerinin çoğu bulunmaktadır. Deri ve mukoz membranlardan kültür edilen ve otuzdan fazla türü olan koagülaz negatif satafilokoklardan *S. epidermidis*, baş ve göğüs bölgesinde yaygındır. İnsan bacak ve kollarında ise *Staphylococcus hominis* daha sık görülür (Isada vd., 2001). Mikrokokların ise insan derisinden en az sekiz farklı türü kültürlenmiştir. Bunlardan bazıları çocuklarda daha belirgin olabilen ve soğuk aylarda sık görülen *Micrococcus lylae* ve *Micrococcus kristinae* mikroorganizmalarıdır (Roth ve James, 1988).

Koagülaz negatif stafilokoklar son yıllarda kan dolaşımı enfeksiyonlarında en fazla rastlanan patojenler olmuştur. En yaygın patojen *Staphylococcus aureus*'un ardından Enterekok türleri gelmektedir (O'Grady vd., 2011). Dünyada antibiyotik tüketimi ve ortaya çıkan antibiyotik direnç problemi sebebiyle hastanede yatanlarda metisiline direnci olan *S. aureus*'a, ayakta tedavi gören insanlarda ise metisiline duyarlı *S. aureus* ve mikrokoklara daha fazla rastlanmaktadır (Hadaway, 2003; Larson vd., 2000). Kısa süreli olmayan hastanede yatışlarda Gram negatif bakterilerin de arttığı gözlemlenmiştir (Larson vd., 2000). Yatan hastaların cildinden kültürlenen mikroorganizmaların, hastalık tipinden ve hastaların beslenmelerinden etkilendiği gözlemlenmektedir (Hadaway, 2003).

Omurga ameliyatının öncesi ve cerrahi işlemlerin ardından yapılan fırçalama sonrasında numune edilen deri örneklerinde 14 stafilokok türüne rastlanmıştır (Sato vd., 1996). Başka bir çalışmada kalp pili ameliyatı öncesinde pektoral bölgeden alınan kültürlerin %88'inin bakteri üremesi için pozitif olduğu, kültürden elde edilen mikroorganizmaların %85'inin ise stafilokoklar olduğu belirtilmiştir (Da Costa, 1998).

Sağlık çalışanlarının ciltlerinden alınan kültürler, sürekli eldiven kullanımı ve sık bir şekilde ellerin yıkanması sebebiyle oluşan kontakt dermatitten etkinlenmektedir. Lipitlerin sızmasına ve epidermal su kaybına sebep olan eldiven kullanımı ve ellerin sık yıkanması gibi işlemler sonrasında hasarlı ellerin *S. aureus*, Enterekoklar, Gram negatifler ve mayalar ile kontamine olma olasılığı daha fazladır (Larson vd., 1998).

Kan kültürlerini kontamine edici olarak bilinen koliform bakteriler ise endokardite ve bakteriyemiye sebep olmaktadır. Aerobik olan bu grup insan derisinde küçük kolonizasyonlarda bulunur ve difteroidler olarakta adlandırılırlar (Isada vd., 2001).

Gram negatif basiller, derinin kurumasına bağlı olarak insan cildinde bulunabilirler. Geçici flora üyeleri olarak, genellikle gastrointestinal sistemden kaynaklanan kirleticiler şeklinde kolonize olurlar. Bazen ise *Acinobakter* türleri gibi ayak parmakları, koltuk altı gibi nemli, burun gibi mukozal yüzeylerde yerleşik flora üyesi olabilirler (Roth ve James, 1988). Gram negatif basillerden olan *Acinobakter* türleri doğada yaygın bir şekilde görülürler (Isada vd., 2001). Bu bakteri türleri fermentatif olmayan aerobik Gram negatif basillerdir ve insanların yaklaşık %25'inde flora üyesi olarak bulunmaktadır. Bu bakteri, toplum kökenli bulaşıcı hastalıklara neden olabilmektedir (Isada vd., 2001; Roth ve James, 1988). Erkeklerde fazla ve kadınlarda az görülmektedir. Bu bakterilerin hayatta kalabilmeleri için nemli ortama ihtiyacı olduğundan terlemeye bağlı olarak, sıcak havalarda cilt kolonizasyonlarında ciddi artış gözlemlenmektedir (Roth ve James, 1988).

Gram pozitif bakterilerden olan ve ilgili literatürdeki eski adı ile *Propionibacterium* olarak bilinen *Cutibakterium* türleri, yağ bezlerinin ve saç foliküllerinin normal sakinleri olarak cilt florasında kolonize olmaktadır. *Cutibakterium* türleri spor oluşturmaz ve cilt florasında en fazla rastlanan anaeroblardır (Roth ve James, 1988). Dünya çapında en fazla rastlanan, uzun bir tedavi gerektiren, kronik tekrarlayan ve antibiyotik direnci oluşturma özelliğine sahip dermatolojik bir hastalık olan akne vulgarisin etkeni *Cutibakterium aknes*, insan cilt florasının baskın kommensal mikroorganizmasıdır. Sağlıklı bireylerin cilt florasında yaklaşık %90 oranla görülebilmektedir. Toplumda sık antibiyotik kullanımı, antibiyotiğe dirençli *C. aknes* bakterilerinin yüksek oranda çoğalmasına sebep olmuştur (Castillo vd., 2019). *C. aknes*, ergenlik döneminde cilt florasında bulunma süresi en üst seviyeye ulaşır ve yetişkin yaşamı boyunca sabit kalabilmektedir. *Cutibakterium granulosum* mikroorganizması, *Cutibakterium* türlerinin yaklaşık %20'sini oluşturarak, yaygınlık olarak bakıldığında ikinci sıradadır. *Cutibakterium avidum* ise özellikle koltuk altı bölgesinde kolonize olmaktadır (Roth ve James, 1988).

Korineform bakteriler, Gram pozitif pleomorfik basillerdir. Özellikle cildin nemli bölgelerinde yerleşik flora üyesi olarak çok sayıda bulunabilmektedirler. Bu bakteriler bağışıklık sistemi baskılanmış konakçıların florasında, normal bireylerin florasına göre daha fazla kolonize olmaktadır. Hastanelerde yatan hastaların yaklaşık %35'inde görülebilmektedir (Roth ve James, 1988).

İnsan cilt florası düzenli olarak Mikoflora mantarlarını da barındırırlar. Cilt damarları iltihaplanmalarında yapılan Mikoflora çalışmaları maya organizmasının baskın olduğunu göstermektedir. *Candida* türleri bu maya grubundadır ve insan vücudunda genelde yerleşik şekilde yaşarlar. *Candida albicans*, mikrobiyotanın yaklaşık %50'sinde bulunur ve mikolojik enfeksiyonların yaklaşık %70'ini oluştururlar (Roth ve James, 1988; Talapko vd., 2021). Lipofilik mayalardan olan *Malassezia* türleri ise gelişmeleri için lipitlere ihtiyaç duyarlar (Roth ve James, 1988). Cilt florasında blastospor olarak bulunan *Malassezia furfur* insanların %97'sinde görülebilmektedir (Roth ve James, 1988; Schmidt, 1997). Varlığı direkt olarak sebum miktarına bağlı olduğu için vücut gövdesi, saçlı deri ve alın gibi sebum miktarı yüksek olan yerlerde kolonizasyonları fazla, ekstremitelerde ise kolonizasyonları azdır. *Ma. furfur* mikroorganizmasının prevalansı yenidoğanda nadir görülmekte, çocuklukta artmakta ve yaşlılıkta azalmaktadır (Schmidt, 1997).

1.4.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma Türleri

1.4.2.1. *Staphylococcus aureus*

Hareketsiz bir yapıya sahip olan *S. aureus* bakterisi 1 mikrometre çapındadır ve Gram pozitiftir. Mikroskopik incelemede tek, çift ve üzüm salkımı şeklinde gözlemlenmektedir. Biyokimyasal aktivitelerinden oksidaz negatiftir. Koagulaz enzimi bu bakterinin identifikasyonunda en önemli belirteçtir (Deurenberg vd., 2007; Monk vd., 1994). Hücre duvarı incelendiğinde ise lizozime dirençli ve lizostafine duyarlı olduğu görülmektedir. Fakültatif anaerob olduğu bilinmekte ve aerob koşullarda daha iyi üreme gösterdiği gözlemlenmektedir. Bu gözlem sonucunda *S. aureus*'un asetoin maddesini ürettiği belirtilmiştir (Monk vd., 1994).

Dünyada enfeksiyon etkenine bağlı olarak mortalite ve morbiditenin ciddi sebeplerinden birisi olan *S. aureus*, son derece öldürücü sonuçlara yol açabilen ve çok yönlü yaygın bir bakteriyel patojendir (Cheung, 2021; Esposito vd., 2023). *S. aureus* insanlarda her yıl komplikasyonsuz cilt enfeksiyonları ve ciddi invaziv enfeksiyonlar oluşturmaktadır (Cheung, 2021). Bağışıklık sisteminden kaçma yeteneği sayesinde fırsatçı patojen olarakta nitelendirilir. Bu özelliği sistemik enfeksiyonlara da sebep olmaktadır (Pollitt vd., 2018).

S. aureus insan cilt florasında yaygın olarak görülmektedir. Hastalıklı ve sağlıklı insanlarda normal floranın %80'ini oluştururlar (Esposito vd., 2023; Roth ve James, 1988). İnsan derisi, burun, boğaz ve gastrointestinal kanal *S. aureus*'un vücutta kolonize olduğu ve kültür edildiği noktalar (Esposito vd., 2023; Kim vd., 2014). *S. aureus* nazofarenksin

geçici florasında da bulunabilir (Roth ve James, 1988). Anakolonizasyon bölgesi olarak burun delikleri kabul edilmektedir (Cheung, 2021). Yetişkinlerin %20-%40'ında burun bölgesinde kalıcı olarak bulunurlar (Roth ve James, 1988). İnsanların burun bölgelerine sık dokunmasından dolayı farklı bölgelere yayılımın bu anakolonizasyon bölgesinden başladığı düşünülmekte ve bu durumun *S. aureus*'un kalıcı cilt kolonizasyonunun yanında tekrarlayan enfeksiyonlara yol açabileceği belirtilmektedir (Cheung, 2021; Roth ve James, 1988).

S. aureus yüzeysel cilt lezyonları, ciddi cilt enfeksiyonları, ölümlü sonuçlanabilen sepsis ve zatürre gibi insan yaşamını tehdit eden birçok hastalığa sebep olabilmektedir (Cheung, 2021; Pollitt vd., 2018). Taşıyıcılık *S. aureus*'ta genellikle asemptomatik olmaktadır. Belirli koşullar altında farklı toplum kökenli ve çevresel etkilere kaynaklı hastalıklar ortaya çıkmaktadır (Esposito vd., 2023). Hastalıkların çeşitliliği, bu hastalıkların temel ilkelerinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Pollitt vd., 2018). Siville, selülit, follikülit, impetigo, enterit, mastit, süpüratif hidradenit, ekzfoliyatif dermatit, apse/çıban, ritter hastalığı, fronkül ve karbonkül, cerrahi ya da posttravmatik yara enfeksiyonları, *S. aureus* organizmasının oluşturduğu bazı cilt enfeksiyonlarıdır (Esposito vd., 2023; Evans vd., 1950; Kim vd., 2014).

S. aureus, cerrahi alan enfeksiyonları, pnömoni, osteomyelit gibi solunum yolu enfeksiyonları, kardiyovasküler enfeksiyonlar, menenjit, toksik şok sendromu, septik artrit, nozokomiyal bakteriyemi gibi insanlar için ciddi risk oluşturan hastalıkların etkeni, bu hastalıkların %30'unun ise ana etkeni olarak bilinmektedir. Yenidoğan ve yaşı beşin altında olan çocuklar için ciddi ölüm riski oluşturmaktadır (Esposito vd., 2023; Evans vd., 1950; Kim vd., 2014; Nwabuife vd., 2023). Orta dereceli kategorisine alınan *S. aureus* kaynaklı cilt hastalıkları genelde ölümcül değildir fakat bu hastalıklar ciddi morbidite ve ağrıyı beraberinde getirebilir. *S. aureus* patojeni aynı zamanda atopik dermatit ile de ilişkilendirilmiştir (Evans vd., 1950).

S. aureus, memeli konakçılarda hastalığa sebep olma ve kolonileşme yeteneğine yardım eden çeşitli ekzoproteinler üretir. Neredeyse tüm *S. aureus* suşları, dört hemolizi (alfa, beta, delta ve gama), kollajenaz, nükleaz, lipaz, proteaz ve hiyaluronidaz içeren bazı enzim ve sitotoksinleri salgırlar. Bunların asıl işlevi, konakçı dokularını bakterilerin büyüme ve gelişmesi için gerekli besinlere dönüştürebilmesidir (Dinges, 2000).

Bağışıklık sistemi tarafından kontrol edilen *S. aureus*, çeşitli toksin üretimi ve fagositleri sayesinde bağışıklık sistemi içerisinde yaşayabilme ve yakalanmadan kaçma özelliği ile bağışıklık tepkisine de zarar verebilmektedir. Bu patojen mikroorganizmaya karşı

savaşan antikorlar fazla olmasına rağmen olası enfeksiyonlara karşı mutlak koruma sağlayamazlar. Bunun sebebi ürettiği toksinler ve fagositler sayesinde sahip olduğu özelliklere, sebep olduğu enfeksiyonların çeşitliliğine ve bağışıklıkta görev alan birçok bileşene bağlı olabilmektedir (Pollitt vd., 2018).

S. aureus prevalansı ve ciltte kolonizasyona duyarlılık, çocuklarda, yaşlılarda, bağışıklık sistemi baskılananlarda, kronik hastalığı olanlarda ve hastane çalışanlarında daha yüksektir (Esposito vd., 2023; Roth ve James, 1988). Birçok *S. aureus* hastalıkları iyatrogeniktir (Pollitt vd., 2018). Hastane ortamında fomitlerin enfekte olmasından, sağlık çalışanlarından veya patojen taşıyıcılardan kolaylıkla geçebildiği için hastalardan bulaşabilmektedir (Esposito vd., 2023; Pollitt vd., 2018).

1.4.2.2. *Staphylococcus epidermidis*

S. epidermidis, Gram pozitif bir bakteridir. Hareketsizdirler ve mikroskopik incelemede üzüm salkımı gibi görünürler. Koagülaz negatif ve katalaz pozitif özelliğe sahip bir bakteridir. Koagülaz pozitif *S. aureus* mikroorganizması ile karşılaştırıldığında daha az patojenik olduğu bilinmektedir. Fakültatif anaerob olan *S. epidermidis* spor oluşturmeyen bir bakteridir ve insan cilt mikrobiyotasının neredeyse her yerinde bol miktarda bulunabilir (Chabi ve Momtaz, 2019; Foster, 2020; Ochlich vd., 2023). *S. aureus*'a kıyasla immün sistemden kaçmayı sağlayan proteinler ve sitolitik toksinlere sahip olmadığı için *S. epidermidis*'in virülans faktör repertuarı daha küçüktür (Foster, 2020).

İnsan cildinin kuru, nemli ve yağ bezlerinin bulunduğu bölgelerinde floranın önemli üyelerindedir. *S. aureus* gibi burunda sıklıkla kolonize olabilirler (Foster, 2020). Sık kullanılan kültür yöntemleri ve metagenomik analizler ile tanımlanabilirler. *S. epidermidis*'in insan cildinde yaşayabilmesi için bazı adezinleri ekspre etmesi gerekmektedir. Çeşitli proteinleri de ekspre ederek cilt matrisi bileşenlerinin bağlanması rol almaktadır (Severn ve Horswill, 2023).

S. epidermidis yaklaşık olarak %38 oranla intrakardiyak apse oluşumuna %24 oranla mortaliteye %13 oranla protez kapak endokarditi enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. (Chabi ve Momtaz, 2019). Bu enfeksiyonlar hastalar için ölümcül olabilmekle beraber genel halk sağlığı için oldukça maliyetlidir. Nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarının da yaklaşık %30-40'ından sorumludur (Severn ve Horswill, 2023).

Cilt üzerinde atopik dermatit, seboreik dermatit, epidermis değişiklikleri, rosacea ve kepek olmak üzere birçok rahatsızlığın etkenidir. Ayrıca tedavisi zor olan sepsis, enfektif endokardit ve septik şok gibi kan dolaşımı komplikasyonlarına da sebep olabilirler. Bu kan dolaşımı rahatsızlıkları ise serebral palsi ve nörogelişimsel bozukluk gibi uzun süren rahatsızlıklara da neden olmaktadır (Severn ve Horswill, 2023).

S. epidermidis hastane enfeksiyonlarından da sorumludur. Konakçı bir biyofilm oluşturuıcı özelliğinden dolayı sürekli kullanılan tıbbi cihazlar ve yatan hastalarda önemli bir vektördür (Chabi ve Momtaz, 2019; Severn ve Horswill, 2023). Bu tıbbi cihazlar, *S. epidermidis* patojeninin vücuda girmesine ve enfeksiyon etkeni olmasına sebep olmaktadır (Foster, 2020). Ayrıca *S. epidermidis*, immün sistemi baskılanmış hastalar için de tehlikeli bir patojendir (Severn ve Horswill, 2023).

1.4.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Gram negatif olan *P. aeruginosa* bakterisi non-fermantatiftir ve aerob ürerler. Serbest yaşayan fırsatçı ve polar flagellası ile hareketli bir patojendir. Hayvanlar, bitkiler, su, toprak gibi insanla ilişkili ortamlarda yaygın şekilde bulunurlar. İlk kez yaralardan kültür edilmiştir. Rejenerasyon bölgesine bağılı olarak farklı koloni formları geliştirirler. Hücre içi yaşam formları arasında geçiş yapma özelliğine sahiptir ve virülans faktörleri fazladır (Bjarnsholt vd., 2009; Murray vd., 2010; Spernovasilis vd., 2021). Üreme koşulları geniş ısı aralıklarında ve pH değerlerinde gerçekleşebilir. Laboratuvarlarda kullanılan genel besiyerlerinde rahatlıkla üreyebildiğı için izole edilmesi kolaydır. Polisakkarit kapsül sebebiyle mukoid formda koloni üremesi gösterir (Murray vd., 2010). Nemli ortamı çok severler ve 16 aya kadar bu ortamlarda canlılıklarını koruyabilirler (De Abreu vd., 2014).

P. aeruginosa insan cilt florasının nadiren yerleşik genellikle geçici flora üyesidir. İntestinal sistemde yerleşik olarak bulunabilirler. Deride çevresel faktörler etkeniyle geçici şekilde kolonize olarak insanlar için yüksek risk oluştururlar. Hastaneye yatıştan sonra floradaki sayıları artar. Neredeyse tüm insan dokularında immün sistemin zayıflığından fırsat bularak enfeksiyonlar oluşurabilmektedir (Nikbin vd., 2012).

P. aeruginosa enfeksiyonlarının spektrumu çok geniştir. İnsan derisi de dahil tüm insan vücudunda kolonize olma yeteneğine sahiptirler. Özellikle bağışıklık sistemi zayıflamış ve sağlık kuruluşlarında yatan hastalarda hafif enfeksiyonlardan hayatı tehdit eden ölümcül hastalıklara kadar etki gösterirler. Kan ve idrar yollarının enfeksiyonu, çeşitli solunum rahatsızlıkları, ciltte açık yaralar ve yanıkların fırsatçı patojendir. Nozokomiyal

enfeksiyonların yaklaşık %10'u *P. aeruginosa* sebebiyle gerçekleşmektedir. Hastane ortamında bu patojenin kaynağının ve hangi ortamlarda çoğaldığının araştırılmaya hala açık olduğu gözlemlenmektedir. Bu kaynakların belirlenmesi ve yaygınlığının azaltılması amacıyla, hastane birim ve odalarının dizaynı, hastane içerisindeki laboratuvarların konumları ve enfeksiyonlar için alınan önlemler ciddi süveyans çalışmaları ile saptanmalıdır (De Abreu vd., 2014; Spornovasilis vd., 2021).

Genellikle cilt enfeksiyonları, yüksek nemin yoğun olduğu ortamlarda ve cildin fazla neme maruz kaldığı bölgelerde üreme gösterirler. İyi prognoza sahiptir ve sağlıklı sağlıklı tüm bireyleri etkileyebilirler. Günümüzde hala cilt enfeksiyonlarında tedavinin eksik olduğu gözlemlenmektedir (Spornovasilis vd., 2021).

1.4.2.4. *Candida albicans*

Dimorfik bir mantar olan *C. albicans* maya formunda veya hipal formda çoğalır. Bu formlar arasındaki geçiş, dış ve iç faktörlerin karmaşık etkileşiminin sonucudur. Kısmen ökaryotik hücreler arasında korunan polariteyi düzenleyen proteinler tarafından koordine edilirler (Whiteway ve Bachewich, 2007). *C. albicans* insanlarda hastalığa neden olan çok az sayıdaki mantar türünden biridir, diğer milyonlarcasında ise hastalık görülmez. Sağlıklı floranın yerleşik bir üyesidir ve çoğu insanın gastrointestinal yolunu, üreme sistemini, ağız boşluğunu ve cildini asemptomatik olarak kolonize eder (Nobile ve Johnson, 2015). En önemli özelliklerinden biri, sindirim sistemindeki bakterilerin aksine, ağız boşluğundan anüse kadar tüm bölümleri kolonize edecek şekilde adapte olmasıdır (Poulain, 2015).

C. albicans ağırlıklı olarak fırsatçı bir mantar patojenidir ve yaygın kandidiyaz ve kronik mukokutanöz kandidiyaz (CMC) gibi hastalık belirtilerine yol açar (Kashem ve Kaplan, 2016). *Candida* enfeksiyonları, küçük mukokutanöz sorunlardan çeşitli organları etkileyen ciddi invazif enfeksiyonlara kadar çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir. Hem mukozal hem de sistemik enfeksiyonların birincil nedeni olarak öne çıkmaktadır (Talapko vd., 2021). Bu enfeksiyonlar bebek bezi döküntüleri, vajinal mantar enfeksiyonları ve pamukçuk gibi yüzeysel mukozal ve dermal enfeksiyonlardan, oldukça yüksek ölüm oranlarına sahip hematogen yolla yayılan enfeksiyonlara kadar değişir (Nobile ve Johnson, 2015). Sistemik mantar hastalıkları yaklaşık 400.000 *Candida* türünü kapsamaktadır. *C. albicans* özellikle hastane ortamlarında hayatı tehdit eden invaziv enfeksiyonlarda baskın bir faktör olmuştur ve tedavi çabalarına rağmen ölüm oranı %40'a yaklaşmıştır. Dermatolojide rastlanan en yaygın patojendir ve cilt rahatsızlıklarının yaklaşık %80'inde görülebilmektedir (Talapko vd., 2021).

C. albicans tipik olarak kommensal ve fırsatçı bir mantar olduğundan, konağın bağışıklık savunması çeşitli faktörler nedeniyle tehlikeye girdiğinde ortaya çıkar. Konağın savunma sistemi ile *C. albicans*'ın virülans faktörleri arasındaki etkileşim, karşılıklı ilişkiler açısından çok önemlidir. Ciddi şekilde bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, derin penetrasyona ve sistemik kandidiyaza yol açan, bazen ölümcül sonuçlanabilen invazif mantar enfeksiyonları meydana gelebilmektedir (Talapko vd., 2021).

1.5. Antibiyotik Direnci

Hızlı bir farklılaşma içerisinde olan dünyamızda tüketimin artması, tüketici profillerinin ve yöntemlerinin değişerek bu konuya olan bilincin azalması günümüzde ciddi sorunlardandır. Her alanda artan bu tüketim sorununun sağlık alanındaki en güçlü belirtisi ise bilinçsiz ilaç tüketiminin artmasıdır. Zamanla farklılaşan koşullar içerisinde insanlar, ciddi kontrol ve takip gerektiren bu farmasötik preparatları bilinçsizce tüketmeye devam etmektedirler.

Bakterilerin neden olduğu bulaşıcı hastalıklarla mücadelede antibiyotikler çok önemli bir rol oynamaktadır. Son 70 yılda antibiyotiklerin tedavi amaçlı yaygın ve yoğun kullanımı bakterilerde ilaç direncinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bir mikroorganizmanın kendisini antimikrobiyal bir ilacın zararlı veya üreme etkilerinden koruma yeteneği olarak tanımlanan direnç, mikroorganizmaların yaşadığı doğal bir süreçtir. Dünyanın en eski canlıları olan mikroorganizmalar, uzun ömürlerini değişen koşullara hızlı uyum sağlamalarına borçludur ve bu durum antibiyotik direnç gelişimini açıklamaktadır (Aghapour vd., 2019; Aslam vd., 2018).

Özellikle nozokomiyal enfeksiyonlar bağlamında, çeşitli antibiyotik direnci biçimlerinin bakteriyel uygunluk ve virülans potansiyeli üzerindeki etkisine ilişkin bir araştırma, mevcut literatürdeki boşlukları belirtmiştir. Çalışma, dirençli patojenlerde gözlemlenen çeşitli hastalık oluşturma potansiyelinin ardındaki belirleyicileri ortaya çıkarmaya yönelik gelecekteki araştırmalara duyulan ihtiyacı vurgulamıştır. Ek olarak direnç özelliklerinin, hastalıkların sonuçlarını etkilediği mekanizmaları açıklamanın da önemli olduğunu belirtmiştir (Geisinger ve Isberg, 2017).

Mantarlar da dahil olmak üzere antimikrobiyal dirençli mikroorganizmalar giderek daha yaygın hale gelmektedir. İnvaziv mantar enfeksiyonlarına bağlı ölüm oranlarının özellikle antifungal direnç durumunda genellikle %50 veya daha yüksek oranda görüldüğü belirtilmektedir. Kritik hastalarda sıklıkla ampirik kullanımları, rutin profilaktik kullanımları

ve antifungal bazlı pestisitlerin yaygın kullanımı nedeniyle, antifungal direnç problemi önemli derecede hızlanmıştır (Hendrickson vd., 2019). Tıp bilimlerindeki son gelişmeler, direnç oranlarının artması yönünde endişe verici bir yükseliş olduğunu belirtmektedir. Bu yükseliş aşırı ve çoğu zaman gereksiz ilaç kullanımına bağlanabilir. Temelde, mikroorganizmaların olağanüstü uyum yeteneği, ilaçlara aşırı bağımlılıkla birleştiğinde, direnç gelişimini doğada gözlemlenen normal oranın ötesinde hızlandırmaktadır (Aslam vd., 2018).

Bakteriler antibiyotiklerle temasa geçtiklerinde antimikrobiyal etkilere kurtulmak için doğal veya edinilmiş direnç mekanizmaları geliştirebilirler. Bu mekanizmalar, antibiyotik yapısı, bakteri içindeki hedef bölge, bakteri türünün kendisi ve direncin bir plazmitle mi yoksa bir kromozomal mutasyonla mı ilişkili olduğu gibi faktörlerden etkilenerek türe özgü bir şekilde çalışmaktadırlar (Meral ve Korukluoğlu, 2014).

Dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar geleneksel tedaviye yanıt vermemekte, son çare olarak kullanılan ilaçlar bile etkisini zamanla yitirmektedir (Frieri vd., 2017). Enfeksiyon ve yatan hasta oranlarındaki artış, enfeksiyonların tedavi süreçlerinin ve yatan hastaların hastane süreçlerinin uzaması, hizmet veren sağlık kuruluşlarının ve hizmet alan kişilerin ilgili süreçteki giderlerinin artması, yeni ilaçlara ihtiyaç duyulması veya kombine ilaç tedavilerinin oluşturulmasını gerektirmektedir.

Direnç gelişimine karşı stratejiler bulmak, yaşam bilimleri camiası ve halk sağlığı için büyük bir sorumluluktur. Bir veya daha fazla ilaca dirençli patojenik bakterilerde dünya çapında ciddi bir artış görülmesi hızla devam eden bir sorundur. (Frieri vd., 2017). Enfeksiyonların teşhisi ve daha iyi önlenmesiyle birlikte gelişmiş antimikrobiyal yönetim, mevcut antimikrobiyal ajanların korunmasına da yardımcı olabilir. Yeni ilaç geliştirilmesinin artan dirence ayak uydurabilmesi için ise hem kamu hem de özel sektör finansmanlarına önemli küresel eylem ve yatırım yapılması gerekmektedir (MacGowan ve Macnaughton, 2017).

S. aureus'ta antibiyotik direnci halk sağlığını tehdit eden ciddi bir problemdir. *S. aureus* birçok hastalığa sebep olabilen ölümcül bir patojendir. Bu patojen, kendisine karşı kullanılan neredeyse tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirme yeteneğine sahiptir. Bir *S. aureus* türü olan MRSA, beta-laktamaz gibi enzimler üretme kabiliyeti nedeniyle penisilin, metisilin, eritromisin, tetrasiklinler ve sefalosporinler gibi farklı antibiyotiklere direnç geliştirebilmektedir. Bu direnç mekanizması, antibiyotiklerin etkinliğini bozarak hastalarda

uzun süreli ve daha ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Esposito vd., 2021; Pantosti vd., 2007).

Birçok faktöre bağlı olarak *S. aureus*'ta antibiyotik direncinin artması gerçekleşebilir. Genetik materyalin bakteriler arasında yatay transferi, antibiyotiğe dirençli özelliklerin evrimini hızlandırır. Antibiyotiğe dirençli *S. aureus* enfeksiyonlarının sonuçları endişe vericidir. MRSA enfeksiyonu olan hastalar genellikle sınırlı tedavi seçenekleri, daha uzun hastanede kalışlar ve artan ölüm oranlarıyla karşı karşıyadır. Ek olarak, özel tedavilere, uzun süreli hastaneye yatışa ve pahalı antibiyotiklere duyulan ihtiyaç nedeniyle sağlık sistemleri üzerindeki ekonomik yük artmaktadır. Bu sorunun ele alınması kapsamlı bir yaklaşım gerektirir. Sağlık uzmanları, antibiyotiklerin sorumlu kullanımına, optimal dozajlara ve uygun tedavi sürelerine odaklanarak, antibiyotik yönetim programlarının önemini vurgulamaktadır. Uygun el hijyeni ve sanitasyon protokolleri gibi ciddi enfeksiyon önleme ve kontrol önlemleri, bu dirençli suşların sağlık ortamlarında yayılmasını sınırlamak için çok önemlidir (Gill vd., 2005).

Bilim insanları antibiyotiğe dirençli *S. aureus* ile mücadele etmek için bakteriyofaj tedavisi ve CRISPR tabanlı teknikler gibi yenilikçi tedavileri araştırmaktadırlar. Bu patojen ile mücadele sahip olduğu antibiyotik direnç yeteneğinden dolayı karmaşıktır. Ayrıca, antibiyotiğe dirençli suşların sürekli gözetimi ve izlenmesi, sağlık hizmeti sağlayıcılarının gelişen tehditlerin önünde kalmasına yardımcı olmaktadır. Halkı bilinçlendirme çalışmaları, bireyleri antibiyotiklerin doğru kullanımı konusunda eğitmede, öngörülen dozajlara bağlılığı ve tedavi eğitimlerinin tamamlanmasını vurgulamada önemli bir rol oynamaktadır. *S. aureus*'ta antibiyotik direncini azaltmak için sürdürülebilir çözümler geliştirmek için sağlık hizmeti sağlayıcıları, araştırmacılar, politika yapıcılar ve halk arasındaki işbirliği esastır (Cheung vd., 2021; Pantosti vd., 2007).

S. epidermidis suşları sıklıkla makrolidler, penisilinler, tetrasiklinler, aminoglikozitler, sefalosporinler ve florokinolonlar gibi birçok antibiyotik sınıfına direnç göstermektedirler. Hastane ortamında yapılan çalışmalarda, *S. epidermidis*'in nozokomiyal izolatlarda %70'i aşan metisilin direnç oranları rapor edilmiştir. Çalışmalarda *S. epidermidis* ile diğer koagülaz negatif Stafilokoklar arasında ayırım yapmak çok önemlidir. Metisilin direnci farklı antibiyotiklere, karşı dirençle ilişkilidir. Hasta bakımı ve enfeksiyon sonuçları açısından sürekli bir tehdit oluşturmaktadırlar. Bu zorlukların üstesinden gelmek hasta sağlığı açısından hayati öneme sahiptir (Chabi ve Momtaz, 2019; Severn ve Horswill, 2023).

S. epidermidis yaygın bir cilt mikroorganizmasıdır ve genetik adaptasyonlar yoluyla antibiyotik direnci geliştirerek yerleşik tıbbi uygulamalarda ciddi sorun teşkil etmektedir. Biyofilm oluşumu, akış pompaları ve mutasyona uğramış hedef bölgeler tarafından yönlendirilen bu direnç, geleneksel tedavilerin etkinliğini azaltır. Hastane enfeksiyonlarındaki önemli rolleri nedeniyle bu mekanizmaların anlaşılması çok önemlidir. Devam eden araştırmalar, yenilikçi tedavilerin önünü açmak için belirli genetik yolları çözmeye odaklanmıştır. Bilim insanları, *S. epidermidis* enfeksiyonlarının etkili kontrolünü sağlayarak ve klinik ortamlarda artan antibiyotik direnci tehdidiyle mücadele ederek kesin müdahaleler geliştirmeye çalışmaktadır (Chabi ve Momtaz, 2019; Severn ve Horswill, 2023).

Toplumda ve sağlık kuruluşlarında çeşitli enfeksiyonlara neden olan güçlü fırsatçı bir patojen olarak tanınan *P. aeruginosa*, antibiyotiklere direnç geliştirme yeteneği sebebiyle farklı sorunlara sebep olmaktadır. Bakteri, dış membran geçirimsizliği, akış pompaları, hedef değişiklikleri, enzim üretimi gibi içsel ve kazanılmış direnç mekanizmalarına sahiptir. *P. aeruginosa*'nın hızlı mutasyonları, tedavi stratejilerini daha da zorlaştırmaktadır. Dünya çapındaki araştırmacılar, bu dirençli türlerle mücadele etmek için kombinasyon ilaç tedavileri ve bakteriyofaj tedavilerini araştırmaktadırlar. *P. aeruginosa*'nın antibiyotik direncini ele almak, devam eden araştırmaları, sıkı enfeksiyon kontrolünü ve sağlık uzmanları ile araştırmacılar arasında küresel işbirliğini gerektirmektedir (Pang vd., 2019; Spornovasilis vd., 2021).

P. aeruginosa, β -laktamlar, kinolonlar, sefalosporinler ve aminoglikozitler gibi çeşitli antibiyotiklere karşı direnç gösterir. Direnç mekanizmaları arasında düşük dış membran geçirgenliği, akış pompaları, enzim üretimi, yatay transfer yoluyla edinilen genler ve antibiyotik erişimini engelleyen biyofilm oluşumunu içeren adaptif direnç yer alır. Özellikle konvansiyonel antibiyotiklere dirençli hastalar için *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına yönelik yeni antibiyotikler veya alternatif tedaviler geliştirmesi gerekmektedir. Son çalışmalar, benzersiz mekanizmalara, uygulama yollarına ve dirençten kaçınma stratejilerine sahip yeni antibiyotiklere odaklanmaktadır (Pang vd., 2019; Spornovasilis vd., 2021).

Bakteriyel patojenlere karşı kullanılabilen çeşitli antibiyotik ilaç sınıflarının aksine, invazif mantar enfeksiyonlarının iyileştirilmesi amacıyla kullanılan antifungal ilaçların azoller, ekinokandinler ve polienler olmak üzere yalnızca üç ana sınıfı vardır. Azoller (örneğin flukonazol), hem sistemik hem de yüzeysel mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan ve en fazla reçete edilen antifungal ilaç sınıfıdır. Polienler (örneğin amfoterisin B), ciddi sistemik mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan en eski antifungal ilaç

sınıfıdır. Ekinokandinler (örneğin kaspofungin) ise genellikle dirençli mantar enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan en yeni antifungal ilaç sınıfıdır (Kaur ve Nobile, 2023). Bu antifungallerin etkinlikleri, göreceli toksisiteleri gibi çeşitli kusurlardan dolayı azalmaktadır (Perez-Rodriguez vd., 2022).

Yeni sınıf antifungal ilaçların kullanımı, enfekte hastaların prognozunu önemli ölçüde iyileştirememiştir. Antifungalleri sık sık ve profilaktik olarak kullanmamız, birçok *Candida* türünde güçlü bir direnç gelişmesine yol açmıştır (Lee vd., 2021). Azoller gibi ilaç sınıflarının genel ve uzun zamanlı kullanıma bağlı olarak *Candida* direncinde bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Gözlemlenen direnç, klinik veya mikolojik olarak tanımlanabilir. Klinik direnç, mantarlara karşı *in vitro* aktivitesi olan antifungal ilacın uygulanmasına rağmen hastada mantar enfeksiyonunun ortadan kaldırılamamasıdır. Mikolojik direnç ise mantarın onları öldürecek veya *in vitro* büyümelerini sınırlayacak antifungal ilaçların varlığında büyüebilme yeteneğidir (Pristov ve Ghannoum, 2019).

MİK'lerde ve antifungal tedaviye yanıt vermeyen klinik enfeksiyonlarda görülen bir gelişme olan *Candida* türlerinin azollere dirençli hale gelmesiyle birlikte, *Candida* enfeksiyonlarını tedavi etmek için ekinokandinlerin kullanımı artmıştır. Ekinokandinler, azollere dirençli mayalar için çözüm gibi kabul edilmekteydi, fakat son çalışmalarda *in vitro* ve klinik ortamlarda ekinokandinlere de dirençli *Candida* türleri ortaya çıkmıştır (Medici ve Del Poeta, 2015).

Çoklu ilaca dirençli *Candida* türleri ve suşlarının ortaya çıkışı dünya çapında yayılmakta, hastane ortamlarını ve hastaları etkilediği gibi enfeksiyonlara yönelik uygulanan tedavileri de etkilemektedir (Eyre vd., 2018). Akış pompalarının aşırı ekspresyonundan dolayı, *in vitro* ve klinik olarak *C. albicans*'ta azoller arasındaki çapraz direnç sıklıkla görülür. *C. albicans* ayrıca ekinokandinlere karşı yüksek derecede çapraz direnç göstermektedir. *Candida* türlerinin antifungal ilaçlara karşı direnç geliştirmesi, mantarın genomik esnekliğine bağlı gibi görünmektedir (Selmecki vd., 2010).

Tedavi ederken öncelikle predispozan faktörlerin belirlenmesi ve bulgular olumluysa tedavi edilmesi gerekmektedir. Bu ilk müdahaleden sonra hastanın immünolojik durumu, oral kandidiyazın spesifik özellikleri (klinik prezentasyon, etiyoloji, antifungallere duyarlılık, lokasyon, yayılım) ve mevcut antifungallerin farmakolojik özelliklerini (uygulama, metabolizma, klirens, diğer antifungallerle etkileşimler) dikkat edilmelidir. Topikal tedavi, genellikle bu yaklaşıma iyi yanıt veren hafif vakalar için ilk tercihlerdendir (nistatin veya mikonazol). Mantar yayılımı veya topikal tedaviye direnç varsa sistemik tedavi düşünülmelidir (Kessler vd., 2022).

1.6. Patojenite ve Virölans

Patojenite, bir mikroorganizmanın hastalığa sebep olma becerisini ifade ederken virölans, neden olabileceği hastalığın ciddiyetini gösterir. Mikroorganizmalardaki patojenite ve virölansın anlaşılması, bulaşıcı hastalıklarla mücadele için önemlidir. Mikroplar enfeksiyon oluşturmak, konak savunmasından kaçmak ve zarar vermek için çeşitli virölans faktörlerini kullanarak genellikle ölümcül olabilen enfeksiyonların gelişmesine yol açar. Bu faktörler arasında doku istilasını ve bağışıklık sisteminden kaçmayı kolaylaştıran toksinler, adezinler ve enzimler bulunmaktadır. Mikrobiyal canlılığın incelenmesi, konakçıların hayatta kalma ve çoğalma yeteneklerinin değerlendirilmesi için gereklidir (Leitao, 2020).

Araştırmacılar, hastalıkların ciddiyetini gözlemlemek, tedavilerin etkinliğini belirlemek ve virölansını hedef alacak stratejiler geliştirmek için *İn vivo* çalışmalar yürütmektedirler. Bu canlılık çalışmaları tedavilerin etkinliğine ışık tutmakta ve hedefe yönelik müdahalelerin geliştirilmesine yardımcı olmaktadır. Bilim insanları, bu mekanizmaları çözerek mikrobiyal patojenite ve virölansı bozan stratejiler tasarlamayı hedeflemektedir. Bu hedeflerin sonuçlanması doğrultusunda bulaşıcı hastalıklara karşı çözümler üretileceği ve küresel halk sağlığının iyileştirilebileceği düşünülmektedir.

Tarihsel olarak, bulaşıcı hastalıkların kökenlerini araştırmak ve hastalığa neden olan mikroorganizmaların virölansını anlamak büyük ölçüde *İn vivo* modellere dayanmaktadır. Geleneksel modellerden en sık tercih edilen memeliler fare, sıçan ve tavşan, orta derecede tercih edilen memeliler ise kobay, hamster, maymun, domuz gibi canlılardır. Yapılan bu çalışmalarda hayvan kullanımına karşı etik hassasiyet artışı, gelişmiş laboratuvarlara, vasıflı teknik personele ve veteriner hekimlere ihtiyaçtan düzenlenen katı yasal düzenlemeler sebebiyle, memeli modellerinin kullanımı daha da zorlaşmıştır. Bu zorluklar üzerine pratik bir alternatif olarak araştırmacılar omurgasız hayvan modellerine yönelmeye başlamışlardır. Bu değişim etik kaygıları gidermenin yanı sıra, bulaşıcı hastalık çalışmalarında da yenilikçi yaklaşımların önünü açmaktadır (Karaman, 2016; Mukherjee vd., 2013).

Caenorhabditis elegans nematodu, *Drosophila melanogaster* olarak bilinen sirke sineği ve balmumu güvesi olarak adlandırılan *Galleria mellonella* larvası *İn vivo* çalışmalarda kullanılan omurgasızlardır. Memeli modellerini içeren *İn vivo* çalışmalarda Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası zorunlu iken bu omurgasız modellerinde böyle bir gereklilik bulunmamaktadır. Bu ayırım, araştırmacıların memeli araştırmalarında karşılaştığı bürokratik engeller olmadan omurgasız modellerle çalışmasına olanak tanımaktadır. Spesifik omurgasız modellerinden bahsedilmesi bilimsel çalışmalarda kullanılan organizmaların çeşitliliğini göstermektedir. Bu

omurgasız modellerin 1990'lı yılların sonlarından bu yana popülerite kazanarak, bilim camiasında kullanımlarının arttığı gözlemlenmektedir (Karaman, 2016; Mukherjee vd., 2013).

1.6.1. *Galleria mellonella*

G. mellonella larvaları (halk arasında da bilinen adıyla 'petek güvesi') Lepidoptera takımı Pyralidae familyasının bir üyesidir. Genellikle arı kovanlarında yaşamlarını sürdürmekte, kovanlardaki balmumları ve peteklerle beslenmektedirler.

G. mellonella larvalarını diğer omurgasızlardan ayıran benzersiz avantajlar vardır. Hızlı üreme döngüleri bakım ve beslenmeleri, deney hayvanı sertifika gerekliliği olmaması, etik kurul onayı gerektirmemesi gibi özellikleri ile son yıllarda yapılan araştırmalarda *in vivo* çalışma modeli olarak kullanımları önemli derecede artmıştır. Yaklaşık 2-4 cm boyutlarında olan bu larvalar, birden fazla enfeksiyöz ve antimikrobiyal ajanın hassas enjeksiyonuna olanak tanımaktadır. Özellikle, 15-37°C sıcaklıkta gelişebilmeleri tıbbi açıdan önemli patojenlerdeki virülans faktörlerinin ekspresyonuyla ilgili koşullarla uyumlu olup, bunların araştırma ortamlarındaki önemini vurgulamaktadır. Ayrıca *G. mellonella* larvalarının memelilerle immünolojik benzerlikler göstermesi, enfeksiyon süreçlerinin izlenmesi için de ciddi kolaylıklar sağlamaktadır. Her bir larvanın 20-50 µL hemolenf üretme kapasitesi, diğer omurgasız modellerin aksine tercih edilebilme sebepleri arasındadır. Topikal, oral ve enjeksiyon gibi birbirinden farklı teknikler larvalarda enfeksiyon oluşturabilmek için kullanılmaktadır. Enjeksiyon, bu teknikler içinde ilk tercihtir. Enjeksiyon teknikleri, potansiyel travma ve kontaminasyon endişelerine rağmen aşılama için en güvenilir yöntemdir. Enjeksiyon yönteminde ince uçlu bir enjektör kullanılarak mikrobiyal ajanın doğrudan hemosele verilmesi sağlanmaktadır. Enfeksiyon patogenezine odaklanan araştırmalarda tercih edilen larvaların formu yaklaşık 0,2-0,4 gram ağırlığında ve 2-4 cm uzunluğundadır. Bu formda kendilerine özgü beyaz ve mat görünümüyle karakterize olmaktadır. Bu özellikler, *G. mellonella* larvalarını omurgasız araştırma modelleri arasında öncelikli tercih edilen bir grup haline gelmiştir (Alvandian vd., 2016; Chalup vd., 2018; Junqueira, 2012).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Sarf Malzemeler

Sarf malzeme olarak; 2-20 µL, 20-200 µL ve 100-1000 µL otomatik pipet ucu, 15 mL ve 50 mL santrifüj (falcon) tüp, 1,5 mL ve 2,5 mL eppendorf tüp, 1 cc enjektör, 10 mL vida kapaklı cam deney tüpü, mikroplak (96 kuyucuklu), petri kabı, eküvyon çubuğu, membran filtre, platin uçlu öze, amerikan bez, cam kavanoz, cam mezür, cam beher ve cam erlenmayer kullanılmıştır.

2.1.2. Cihazlar

Cihaz olarak; 2-20 µL, 20-200 µL ve 100-1000µL otomatik pipet (DLAB, ISOLAB), 20-200 µL çok kanallı otomatik pipet (ISOLAB), mcfarland dansitometre (BIOSAN), inkübatör (MIPROLAB), santrifüj cihazı (ELEKTROMAG, ISOLAB), hassas terazi (RADWAG), manyetik karıştırıcı (DAIHAN), vorteks (ISOLAB), otoklav (BIOBASE), buzdolabı (PROFILO, UĞUR) ve sıcak su banyosu (NUKLEON) kullanılmıştır.

2.1.3. Mikroorganizmalar ve *Galleria mellonella*

Staphylococcus aureus ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Candida albicans* ATCC 14053 standart suşları ve *Galleria mellonella* larvaları kullanılmıştır.

2.1.4. Besiyerleri ve Besinler

Besiyeri olarak Trypticasein Soy Agar (TSA) (CONDALAB), Mueller Hinton Broth (MHB) (CONDALAB), Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (CONDALAB) ve RPMI-1640 Medium kullanılmıştır.

G. mellonella larvalarının besini için ise kepek, süzme bal, bal peteği, gliserin ve su karışımı kullanılmıştır.



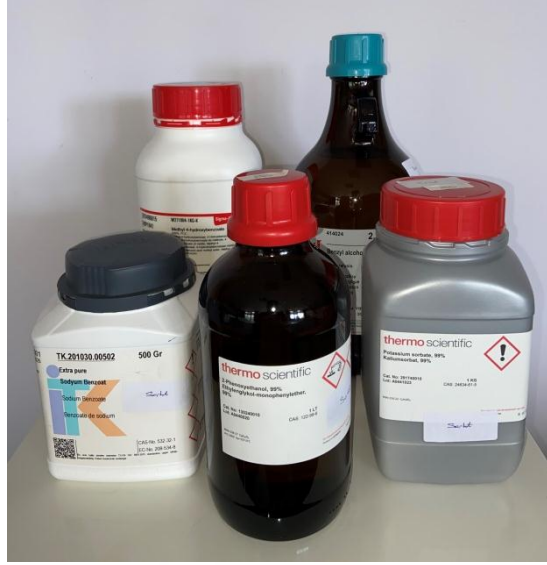
Şekil 2.1. Besiyerleri



Şekil 2.2. Besin malzemeleri

2.1.5. Kimyasal Koruyucular

Fenoksietanol 1 L (THERMO SCIENTIFIC),
Benzil alkol 2.5 L (CARLO ERBA),
Potasyum sorbat 1 kg (THERMO SCIENTIFIC),
Sodyum benzoat 500 g (TEKKİM),
Metil paraben 1 kg (SIGMA-ALDRICH)



Şekil 2.3. Kimyasal koruyucular

2.1.6. Antibiyotikler

Vankomisin 250 mg (SIGMA-ALDRICH),
Sefepim 1 g (THERMO SCIENTIFIC),
Flukonazol 1 g (CAYMAN CHEMICAL COMPANY)



Şekil 2.4. Antibiyotikler

2.2. Yöntem

2.2.1. Parametrelerin Optimizasyonu

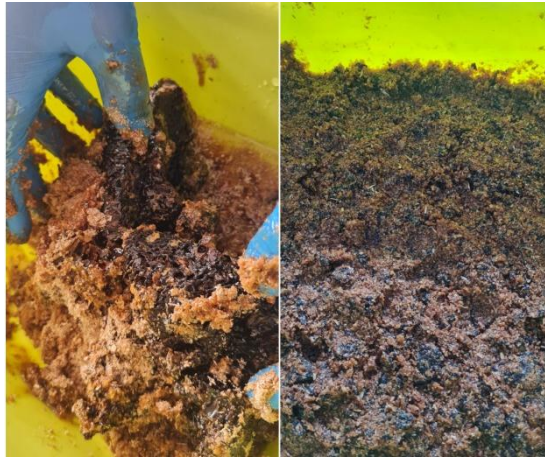
2.2.1.1. Besiyeri ve Besin Hazırlama

TSA, MHB ve SDA besiyerleri distile su kullanılarak hazırlanmış ve otoklav cihazında 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. D-Glukoz ve MOPS, RPMI-1640 Medium içerisine eklenmiş ve membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir.



Şekil 2.5. Çalışmaya hazır hale getirilmiş besiyerleri

500 g kepek, 150 mL süzme bal, 200 g bal peteği, 300 mL gliserin ve 150 mL su bir kap içerisine eklenip karıştırılarak, *G. mellonella* larvalarının besini hazır hale getirilmiştir. (Taşkın, 2010).

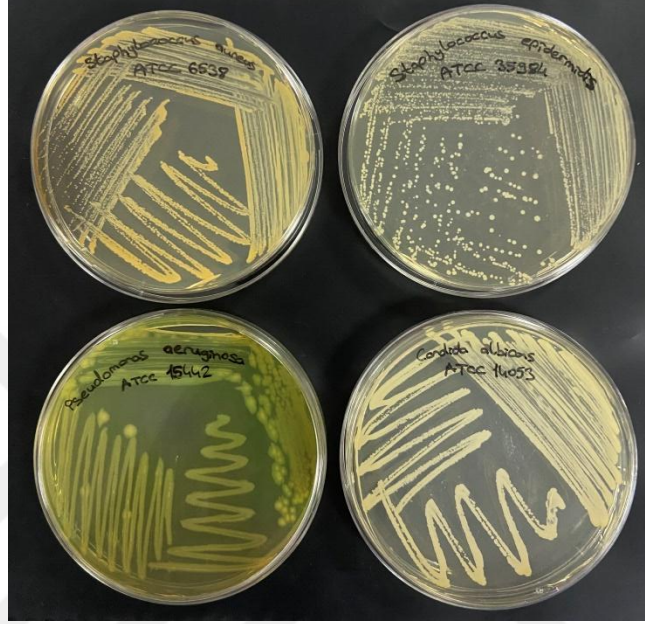


Şekil 2.6. *G. mellonella* besini

Besiyerleri ve besinler +4°C’de muhafaza edilmiştir.

2.2.1.2. Mikroorganizma ve *Galleria mellonella* Üretimi

Mikroorganizma standart suşları steril öze kullanılarak TSA ve SDA besiyerine pasajlanmış ve 35±2°C’de 24 saat inkübe edilerek kültür edilmiştir.



Şekil 2.7. Mikroorganizma standart suşlarının kültürleri

G. mellonella erişkin yumurtaları, hazırlanan besin ile birlikte cam kavanozlar içerisine alınmıştır. Üzerine amerikan bez örtülen kavanozlara larvaların hava alabilmesi için delikli kapaklar kapatılmıştır. Karanlık, nemli ve gelişmeleri için optimum sıcaklık olan 28±2°C’de büyümeleri sağlanmıştır (Hız vd., 2016). Kavanozların temizlenmesi ve besinlerin tazelenmesi rutin olarak yapılmıştır.



Şekil 2.8. Cam kavanoz içerisinde *G. mellonella* larvalarının üretimi

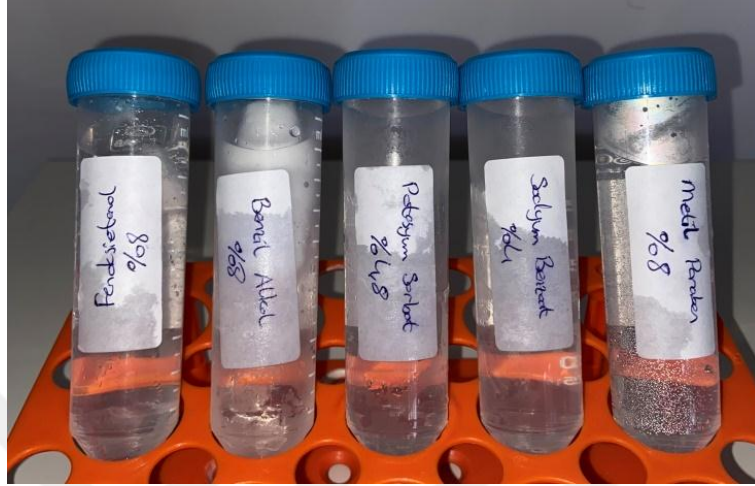


Şekil 2.9. Üretim aşamasında bazı *G. mellonella* larvaları

2.2.1.3. Koruyucu Stok Çözeltileri

Koruyucular tartılarak steril distile su ile çözülmüştür. Stok solüsyonlar, kozmetik ve dermokozmetik ürünler içerisinde kullanımına izin verilen oranların dilüsyon katları şeklinde hazırlanmıştır.

Koruyucuların çözüldükten sonraki stok konsantrasyonları; fenoksietanol %8 (g/mL), benzil alkol %8 (g/mL), potasyum sorbat %4,8 (g/mL), sodyum benzoat %4 (g/mL) ve metil paraben %8 (g/mL) olarak ayarlanmıştır.

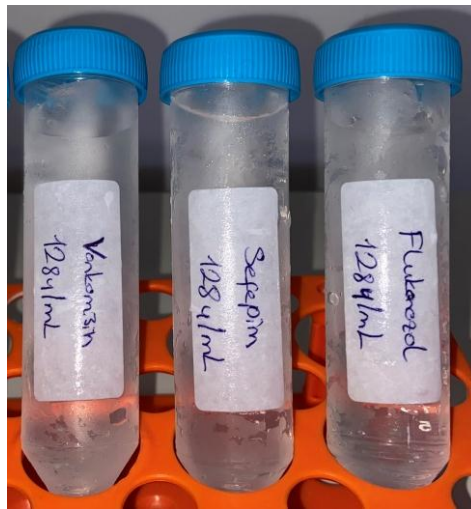


Şekil 2.10. Koruyucuların stok çözeltileri

2.2.1.4. Antibiyotik Stok Çözeltileri

Antibiyotikler tartılarak steril distile su ile çözülmüştür. Stok solüsyonlar, tedavi dozunda kullanılan konsantrasyonların dilüsyon katları şeklinde hazırlanmıştır.

Antibiyotiklerin çözüldükten sonraki stok konsantrasyonları; vankomisin (128 µg/mL), sefepim (128 µg/mL) ve flukanozol (128 µg/mL) olarak ayarlanmıştır.



Şekil 2.11. Antibiyotiklerin stok çözeltileri

Koruyucular ve antibiyotikler -20°C’de muhafaza edilmiştir.

2.2.2. İn Vitro Testler

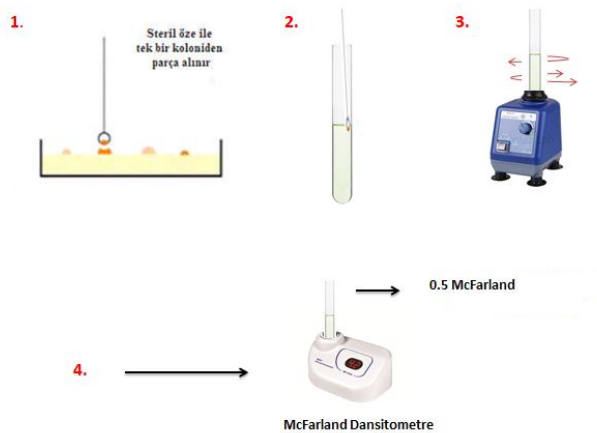
2.2.2.1. Maruziyet Öncesi Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Maruziyet testi öncesinde antibiyotik ve koruyucuların mikrodilüsyon yöntemi ile mikroorganizma standart suşlarına karşı EUCAST önerileri doğrultusunda Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) testleri yapılarak, başlangıç değerleri belirlenmiştir (EUCAST, 2019; EUCAST, 2022).

Vankomisin *S. aureus* ve *S. epidermidis*, sefepim *P. aeruginosa*, flukanozol ise *C. albicans* ile analize alınmıştır. Fenoksietanol, benzil alkol, potasyum sorbat, sodyum benzoat ve metil paraben ise tüm mikroorganizmalar ile analize alınmıştır.

MİK testleri için 96 kuyucuklu steril mikropipler hazırlanmıştır. Çok kanallı otomatik pipet kullanılarak bakteriler için her bir kuyucuğa MHB, *C. albicans* için RPMI-1640 besiyeri eklenmiştir. Daha sonra antibiyotiklerden hangisi test edilecekse stok çözeltilerinden başlangıç kuyucuğuna 100 µL eklenerek ardı ardına gelen kuyucuklarda seri dilüsyonlar yapılmıştır.

Steril cam deney tüpü içerisine serum fizyolojik (%0.9 izotonik serum) eklenmiştir. Test edilecek mikroorganizmanın agar kültüründeki kolonilerden steril öze ile sürüntü alınarak tüp içerisine aktarılmıştır. Homojenizasyon için tüp vorteksenerek mcfarland dansitometre’ye yerleştirilmiş ve bulanıklık (türbidite) tayini yapılmıştır. Cihaz ekranında 0.5 mcfarland değeri bulunarak dilüsyonlar yapılmış ve inokulumlar hazır hale getirilmiştir.



Şekil 2.12. Mikroorganizma inokulumu hazırlanması

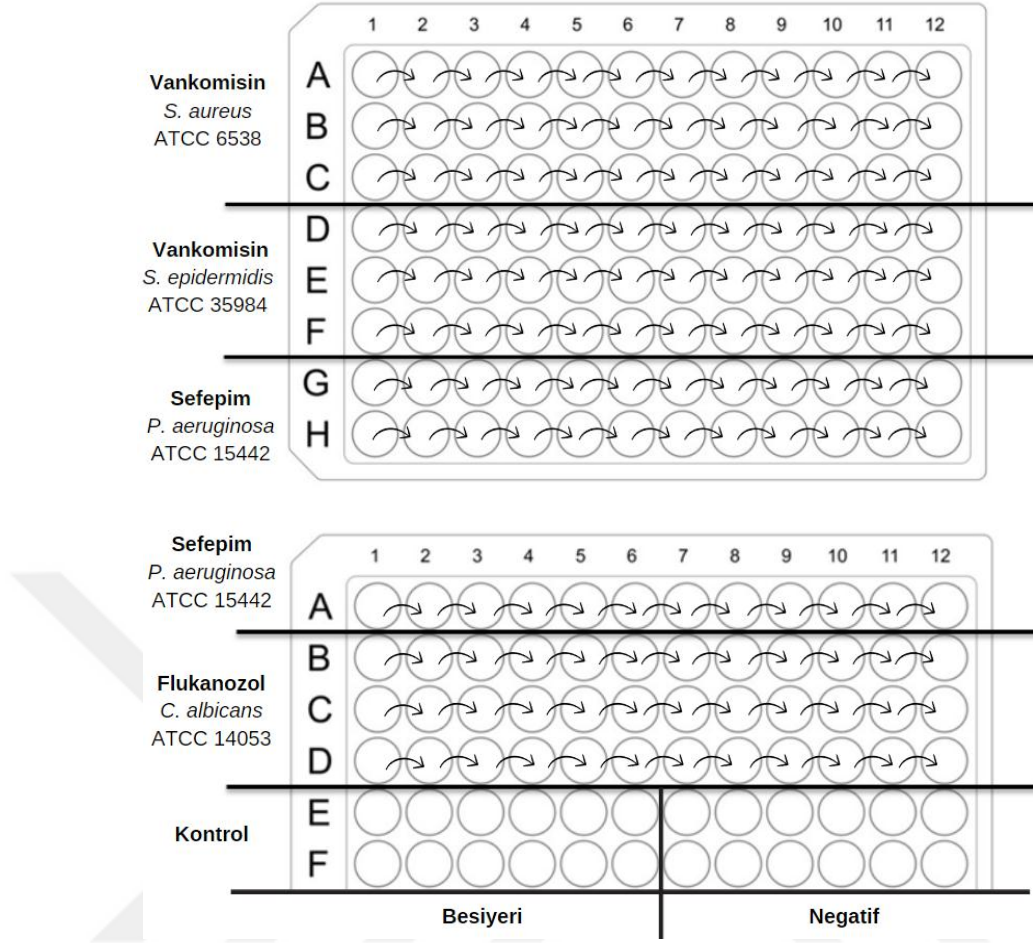
Analize hazır hale getirilen inokulumlar mikrobiyoloji laboratuvarında kullanılan 15-15 kuralından dolayı maksimum 15 dakika içerisinde deneylerde kullanılmıştır (Matuschek vd., 2014).

Son olarak sıralı dilüsyonları yapılmış antimikrobiyal ajanın bulunduğu her bir kuyucuğa 100 µL hazırlanan inokulumlardan yükleme yapılmıştır. Mikroplaklar 35±2°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra kuyucuklar kontrol edilerek antibiyotikler tarafından mikroroganizma üremesinin inhibe edildiği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Sonuçlardaki güvenilirlik açısından antimikrobiyal etkiye sahip tüm ajanlar 3 tekrar şeklinde test edilmiştir.

2.2.2.1.1. Antibiyotiklerin Mikroorganizmalar İçin Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Testi

Antibiyotikler ve mikroorganizmalar arasında yapılan MİK testleri, maruziyet öncesinde başlangıç değerleri belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bakteriler ve *C. albicans* için tek plakta çalışma yapılmıştır.

Mikroorganizmalar için birbirini takip eden 2 adet 96 kuyucuklu mikroplak hazırlanmıştır. Çok kanallı otomatik pipet kullanılarak bakteriler için ilk plağın tüm kuyucularına, ikinci plağın A ve E kuyucuklarına 100 µL MHB eklenmiştir. *C. albicans* için ikinci plağın B, C, D ve F kuyucuklarına ve 100 µL RPMI–1640 besiyeri eklenmiştir. Daha sonra vankomisin stok çözeltisinden *S. aureus* için A1, B1, C1, *S. epidermidis* için D1, E1, F1 kuyucuklarına, sefepim stok çözeltisinden *P. aeruginosa* için ilk plağın G1, H1 ve ikinci plağın A1 kuyucuklarına, flukanazol stok çözeltisinden ikinci plağın B1, C1, D1 kuyucuklarına 100’er µL yükleme yapılarak seri dilüsyonları yapılmıştır. İkinci plağın tüm E kuyucukları bakteri besiyeri ve negatif kontrolü için, F kuyucukları ise *C. albicans* besiyeri ve negatif kontrolü için kullanılmıştır.



Şekil 2.13. Antibiyotiklerin mikroorganizmalar için MİK testi

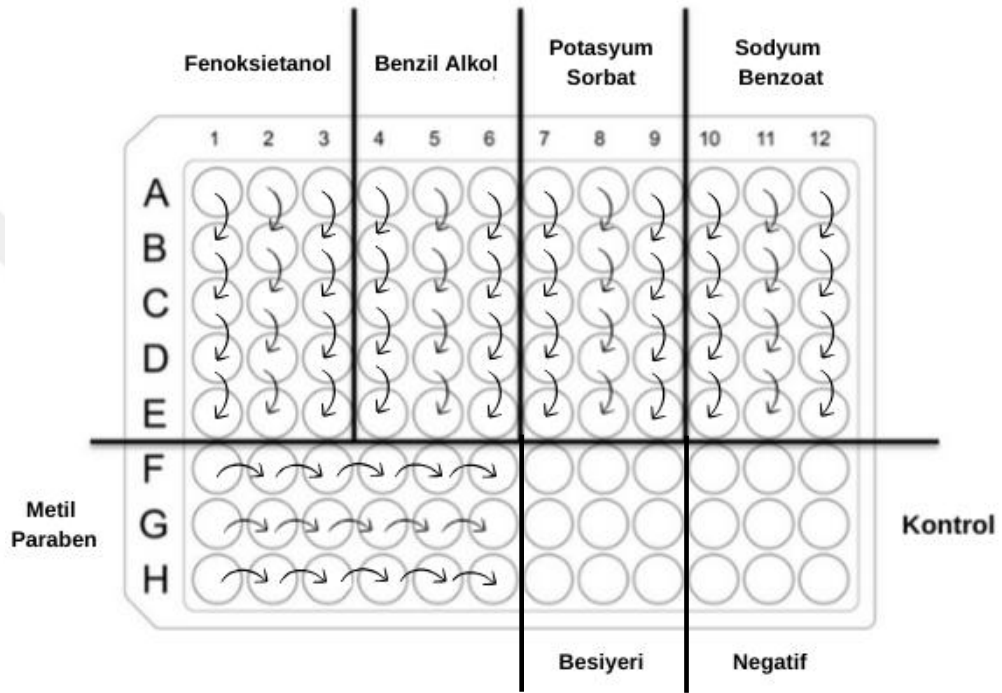
Analiz edilen mikroorganizma inokulumundan, besiyeri kontrol kuyucukları hariç belirlenen tüm kuyucuklara 100'er µL yükleme yapılmıştır..

Analizleri tamamlanan mikropalaklar 35±2°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra kuyucuklar kontrol edilerek antibiyotikler tarafından mikrororganizma üremesinin inhibe edildiği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

2.2.2.1.2. Koruyucuların Mikroorganizmalar İçin Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Testi

Koruyucu ve mikroorganizmalar arasında yapılan MİK testleri, maruziyet süresi boyunca süspansiyonların konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Her mikroorganizma için 1 adet 96 kuyucuklu mikropalak hazırlanmıştır.

Çok kanallı otomatik pipet kullanılarak plakların her bir kuyucuğuna bakteriler için MHB, *C. albicans* için RPMI-1640 eklenmiştir. Daha sonra fenoksietanol stok çözeltisinden A1, A2, A3, benzil alkol stok çözeltisinden A4, A5, A6, potasyum sorbat stok çözeltisinden A7, A8, A9, sodyum benzoat stok çözeltisinden A10, A11, A12, metil paraben stok çözeltisinden F1, G1, H1 kuyucuklarına 100'er µL yükleme yapılarak seri dilüsyonları yapılmıştır. F7, F8, F9, G7, G8, G9, H7, H8, H9 kuyucukları besiyeri, F10, F11, F12, G10, G11, G12, H10, H11, H12 kuyucukları ise negatif kontrol için kullanılmıştır.



Şekil 2.14. Koruyucuların mikroorganizmalar için MİK testi

Analiz edilen mikroorganizmanın inokulumundan, besiyeri kontrol kuyucukları hariç tüm kuyucuklara 100'er µL yükleme yapılmıştır.

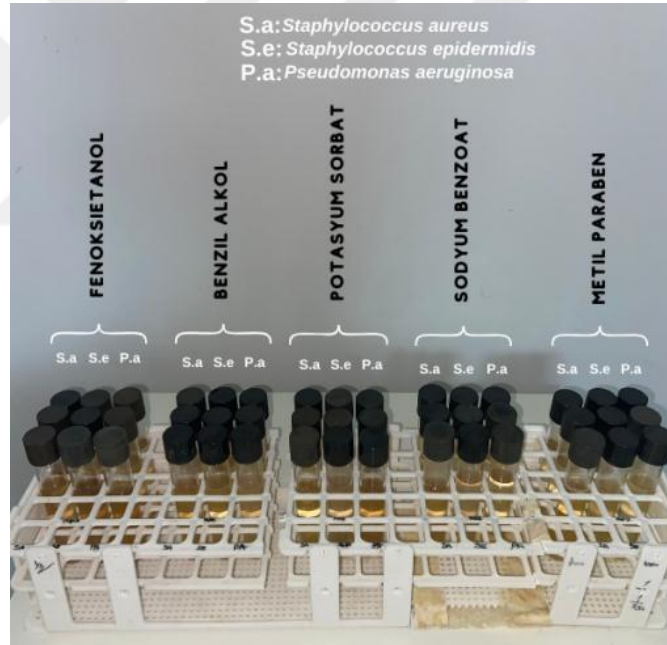
Analizleri tamamlanan mikropaklar 35±2°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra kuyucuklar kontrol edilerek, koruyucular tarafından mikroorganizma üremesinin inhibe edildiği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir.

2.2.2.2. Maruziyet Testi

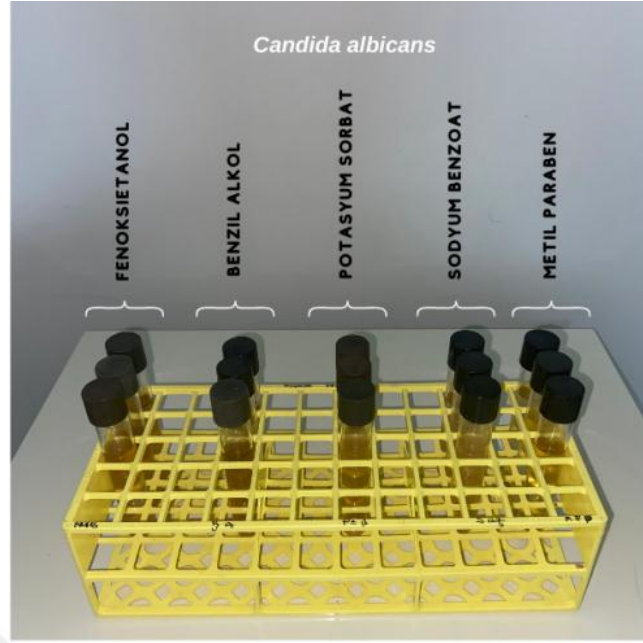
Gurpinar vd., (2022), yaptıkları çalışmada *A. Baumannii* izolatları sırasıyla fluoksetin, sertralin ve amitriptilin'e 30 gün süreyle maruz bırakılarak gentamisin, imipenem ve kolistin direncini araştırmışlardır. Bizim çalışmamızda da maruziyet testinde mikroorganizmalar,

koruyucu maddelere 5, 15 ve 30 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Kullandığımız süreler literatür araştırmalarında maruziyet testlerinde kullanılan sürelerin bizim çalışmamıza uyarlanması ile belirlenmiştir.

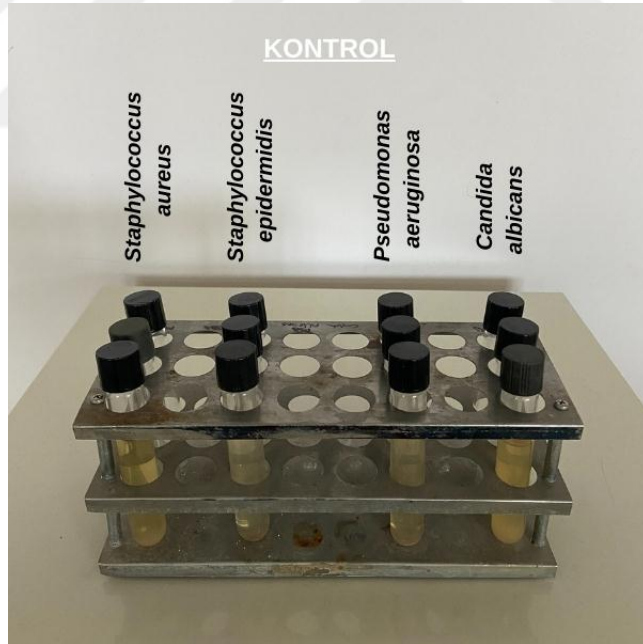
Maruz bırakma işlemi vida kapaklı steril cam tüpler içerisinde yapılmıştır. Cam tüpler içerisine koruyucu madde, mikroorganizma ve üremenin sağlanabilmesi amacıyla MHB besiyerinden oluşan süspansiyonlar hazırlanmıştır. Tüpler içerisindeki süspansiyonlar, mikroorganizmaların maruziyet süresi boyunca yaşamını devam ettirebilmesi için koruyucular ile mikroorganizmalar arasında yapılan MİK testi sonuçlarına göre belirlenen MİK değerlerinin bir alt değerine göre hazırlanmıştır. Maruziyet süreci başlatılarak mikroorganizmalar her gün hazırlanan taze süspansiyonlara pasajlanmıştır. Eş zamanlı olarak kontrol deney grubu için mikroorganizmalar, aynı gün ve sürelerde sadece besiyerinin bulunduğu tüpler içerisine pasajlanmıştır. Deney süreci boyunca oluşabilecek olumsuz bir duruma karşı her tüp 3 tekrar şeklinde test edilmiştir.



Şekil 2.15. Bakteriler ve koruyucuların maruziyet testi



Şekil 2.16. *C. albicans* ve koruyucuların maruziyet testi



Şekil 2.17. Maruziyet testi kontrol grubu

2.2.2.3. Maruziyet Sonrası Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Maruziyet sürecinin 5, 15 ve 30. günlerinde süspansiyonlar içerisindeki kimyasalların uzaklaştırılması amacıyla fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkama yapılarak

mikroorganizmalar izole edilmiştir. İzole edilen mikroorganizmalar MHA ve SDA besiyerlerinde kültür edilmiştir. Daha sonra 5, 15 ve 30 gün boyunca koruyuculara maruz kalan mikroorganizmalara 2.2.2.1’de belirtilen prosedür uygulanarak antibiyotikler ile MİK testleri yapılmıştır.

2.2.3. İn Vivo Testler

Mikroorganizma standart suşları ve koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan mikroorganizmaların canlı organizma üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla *G. mellonella* larvalarıyla İn vivo enfeksiyon modeli kullanılmıştır. Çalışmada Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yetiştirilen *G. mellonella* larvaları kullanılmıştır. Letal doz çalışması yapılarak larvalara enjekte edilecek uygun inokulum miktarları belirlenmiş ve ardından koruyucu maruziyeti sonrası *G. mellonella* çalışması yapılmıştır. İki çalışma içinde ortak kontrol grupları kullanılmıştır. Testlerde larvalara enjeksiyonlar yapılmış ve ardından inkübasyona bırakılmıştır. Larvalar başlangıç olarak 6 ve 12. saatte, daha sonra 24 saatlik periyotlarla gözlemlenerek ölü ve canlı sayıları kaydedilmiştir. Kaydedilen sayılara göre İstatistiksel analiz yapılarak deney çalışması sonlandırılmıştır.



Şekil 2.18. Küçükten büyüğe *G. mellonella* larvaları

2.2.3.1. Deney Hazırlığı

Analizlerde yaklaşık 0,2-0,4 g ağırlığında ve 2-3 cm uzunluğunda son dönem (7. evre) larvalar kullanılmıştır. Her deney grubu için petri içerisinde 10 adet *G. mellonella* larvalarından yerleştirilerek yapılacak tüm çalışmalar için larvalar enjeksiyona hazır hale getirilmiştir.



Şekil 2.19. Analizlerde kullanılmaya uygun *G.mellonella* larvaları

2.2.3.2. Enjeksiyon

Analizlerde kullanılmak üzere hazırlanan inokulumlardan 10 μ L larvaların sol tarafında bulunan sonuncu ayağın ön kısmına insülin enjektörü ile enjeksiyon yapılmıştır. Enjeksiyon öncesinde larvalara %70'lik alkol çözeltisi sürülerek steril olmaları sağlanmış ve hareketleri yavaşlatılmıştır.



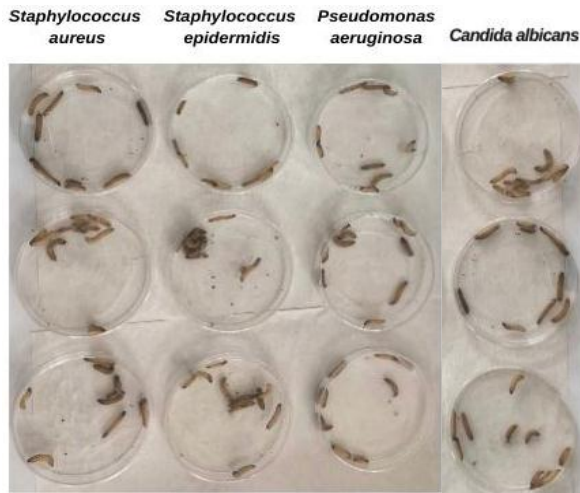
Şekil 2.20. *G. mellonella* larvasının enjeksiyon bölgesi



Şekil 2.21. *G. mellonella* larva enjeksiyonu

2.2.3.3. Letal Doz Çalışması

Mikroorganizma standart suşlarının agar plaklardaki taze kültürleri alınmıştır. *S. aureus* ve *S. epidermidis* inokulumları 10^6 CFU/mL, 10^7 CFU/mL ve 10^8 CFU/mL, *P. aeruginosa* inokulumları 10^5 CFU/mL, 10^6 CFU/mL ve 10^7 CFU/mL, *C. albicans* inokulumları ise 10^5 CFU/mL, 10^6 CFU/mL ve 2×10^6 CFU/mL değerlerinde serum fizyolojik içerisinde hazırlanmıştır. Her inokulum miktarına göre deney gruplarına ayrılan larvalara, hazırlanan inokulumlardan enjeksiyonlar yapılmıştır. Ardından belirlenen sürelerde gözlemlenerek canlı ve ölü sayıları kaydedilmiştir.



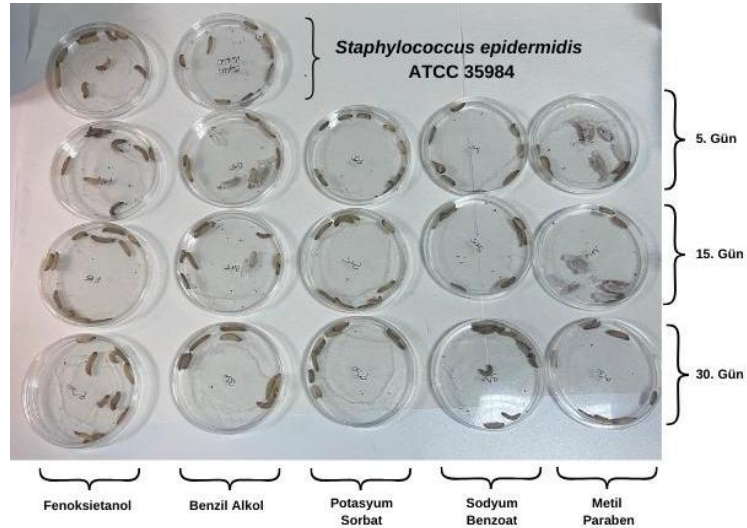
Şekil 2.22. Letal doz çalışması deney grupları

2.2.3.4. Maruziyet Sonrası *G. mellonella* Çalışması

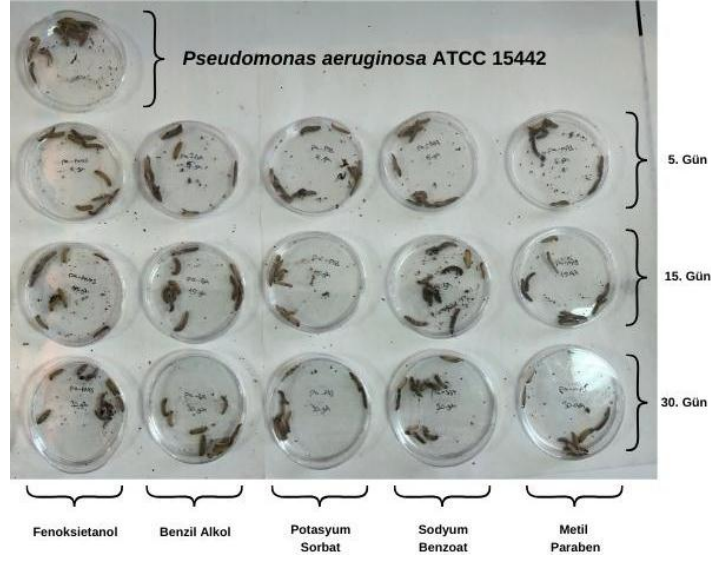
Mikroorganizma standart suşları ve 5, 15, 30 gün boyunca kimyasallara maruz bırakılan mikroorganizmaların agar plaklardaki kültürleri alınmıştır. Her biri için serum fizyolojik içerisinde letal doz çalışmasında belirlenen konsantrasyonlarda inokulumlar hazırlanmıştır. Deney gruplarına ayrılan larvalara, hazırlanan inokulumlardan enjeksiyonlar yapılmıştır. Ardından belirlenen sürelerde gözlemlenerek canlı ve ölü sayıları kaydedilmiştir.



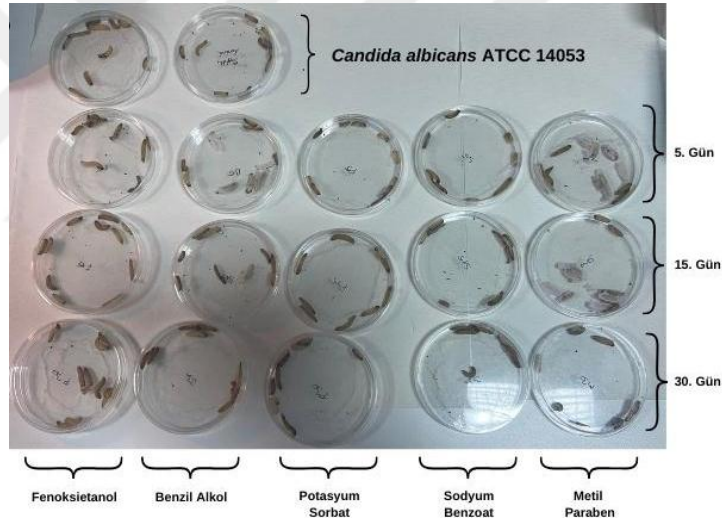
Şekil 2.23. Maruziyet testi öncesi ve sonrası *S. aureus*'un *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması



Şekil 2.24. Maruziyet testi öncesi ve sonrası *S. epidermidis*'in *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması

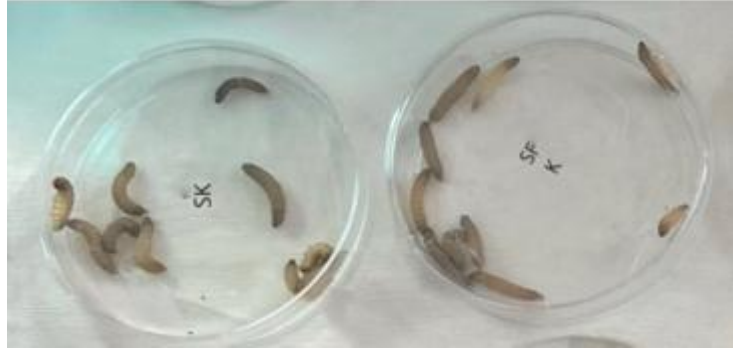


Şekil 2.25. Maruziyet testi öncesi ve sonrası *P. aeruginosa*'nın *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması



Şekil 2.26. Maruziyet testi öncesi ve sonrası *C. albicans*'ın *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için hazırlanan enjeksiyon gruplandırması

Sadece serum fizyolik enjekte edileceği deney kontrol grubu ve enjeksiyon yapılmayacak sağlıklı kontrol grupları yapılan çalışmaların kontrolü olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan deney kontrolleri hem letal doz, hem de maruziyet sonrası *G. mellonella* çalışması için kullanılmıştır.

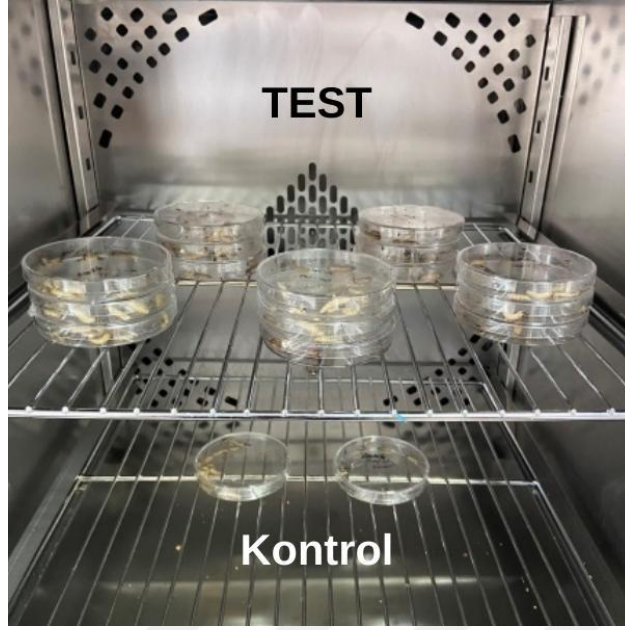


Şekil 2.27. İn vivo testler için kontrol grupları



Şekil 2.28. İn vivo testlerin tamamlanması

Analizi tamamlanan *G. mellonella* larvalarının bulunduğu petriler $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 120 saate kadar inkübasyona bırakılmıştır. Belirlenen sürelerde gözlemlenerek canlı ve ölü sayıları İstatistiksel analiz için kaydedilmiştir.



Şekil 2.29. Test ve kontrol deney gruplarının analizler sonrası inkübasyonu



Şekil 2.30. İnkübasyon sonrası canlı ve ölü olarak sonuçlandırılan *G. mellonella* larvaları

2.2.4. İstatistiksel Analiz

Larvaların sağkalım durumunu belirlemek için Kaplan-Meier yöntemi kullanılmıştır. Fonksiyon verileri ve alt gruplar log rank testi ile karşılaştırılmıştır. Kontrol olarak standart ATCC suşları kullanılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS 19.0 yazılım programı ile gerçekleştirilmiştir. Tüm testlerde, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (Adamson vd., 2015).

3. BULGULAR

3.1. İn Vitro Test Sonuçları

3.1.1. Maruziyet Öncesi Yapılan Test Sonuçları

Antibiyotiklerin mikroorganizma standart suşları için koruyuculara maruziyet öncesinde yapılan Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) testi sonuçları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Antibiyotiklerin mikroorganizma standart suşları için belirlenen MİK testi sonuçları

Mikroorganizmalar	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) (µg/mL)
	Vankomisin
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984	1
	Sefepim
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442
	2
	Flukanozol
	<i>C. albicans</i> ATCC 14053
	1

Koruyucuların mikroorganizma standart suşları için maruziyet öncesinde yapılan Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) testi sonuçları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Koruyucuların mikroorganizma standart suşları için belirlenen MİK testi sonuçları

Mikroorganizmalar	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) (mg/mL)				
	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	10	5	12	10	5
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984	10	5	12	10	5
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	5	2,5	12	10	2,5
<i>C. albicans</i> ATCC 14053	2,5	2,5	0,75	2,5	1,25

Mikroorganizmaların koruyuculara maruziyeti sırasında koruyucuların mikroorganizmaları inhibe etmemesi için, deney tüpleri içerisine koruyucu MİK değerlerinin bir alt konsantrasyonlarında süspansiyonlar hazırlanmıştır. Süspansiyon içerikleri ve maddelerin başlangıç oranları Çizelge 3.3., 3.4., 3.5. ve 3.6.'da verilmiştir.

Çizelge 3.3. *S. aureus* ATCC 6538 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları

Süspansiyon İçeriği	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
Besiyeri	9,275 mL	9,5875 mL	8,65 mL	8,65 mL	9,5875 mL
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Koruyucu	0,625 mL	0,3125 mL	1,25 mL	1,25 mL	0,3125 mL
Toplam koruyucu (g/mL)	%0,5	%0,25	%0,6	%0,5	%0,25

Çizelge 3.4. *S. epidermidis* ATCC 35984 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları

Süspansiyon İçeriği	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
Besiyeri	9,275 mL	9,5875 mL	8,65 mL	8,65 mL	9,5875 mL
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Koruyucu	0,625 mL	0,3125 mL	1,25 mL	1,25 mL	0,3125 mL
Toplam koruyucu (g/mL)	%0,5	%0,25	%0,6	%0,5	%0,25

Çizelge 3.5. *P. aeruginosa* ATCC 15442 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları

Süspansiyon İçeriği	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
Besiyeri	9,5875 mL	9,74375 mL	8,65 mL	8,65 mL	9,74375 mL
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Koruyucu	0,3125 mL	0,15625 mL	1,25 mL	1,25 mL	0,15625 mL
Toplam koruyucu (g/mL)	%0,25	%0,125	%0,6	%0,5	%0,125

Çizelge 3.6. *C. albicans* ATCC 14053 deney tüplerinin maruziyet sırasındaki süspansiyon içeriği ve oranları

Süspansiyon İçeriği	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
Besiyeri	9,83875 mL	9,83875 mL	9,916875 mL	9,6825 mL	9,916875 mL
<i>C. albicans</i> ATCC 14053	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL	5 µL
Koruyucu	0,15625 mL	0,15625 mL	0,078125 mL	0,3125 mL	0,078125 mL
Toplam koruyucu (g/mL)	%0,125	%0,125	%0,0375	%0,125	%0,0625

3.1.1. Maruziyet Sonrası Yapılan Test Sonuçları

Antibiyotiklerin, koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan mikroorganizmalar için yapılan MİK testi değerleri Çizelge 3.7., 3.8., 3.9. ve 3.10.'da verilmiştir.

Çizelge 3.7. Vankomisin koruyuculara maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538 için yapılan MİK testi sonuçları

Maruziyet süresi	Vankomisin – <i>S. aureus</i> ATCC 6538 MİK Testi Sonuçları (µg/mL)				
	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
5 gün	0,5	0,5	1	0,5	1
15 gün	0,5	1	1	0,5	1
30 gün	1	1	1	1	1

Çizelge 3.8. Vankomisin koruyuculara maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984 için yapılan MİK testi sonuçları

Maruziyet süresi	Vankomisin – <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984 MİK Testi Sonuçları (µg/mL)				
	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
5 gün	1	1	1	1	2
15 gün	1	2	2	1	2
30 gün	2	2	2	2	2

Çizelge 3.9. Sefepimin koruyuculara maruz bırakılan *P. aeruginosa* ATCC 15442 için yapılan MİK testi sonuçları

Maruziyet süresi	Sefepim – <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 MİK Testi Sonuçları (µg/mL)				
	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
5 gün	4	4	4	4	4
15 gün	4	4	4	8	4
30 gün	4	4	4	8	8

Çizelge 3.10. Flukanozolün koruyuculara maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053 için yapılan MİK testi sonuçları

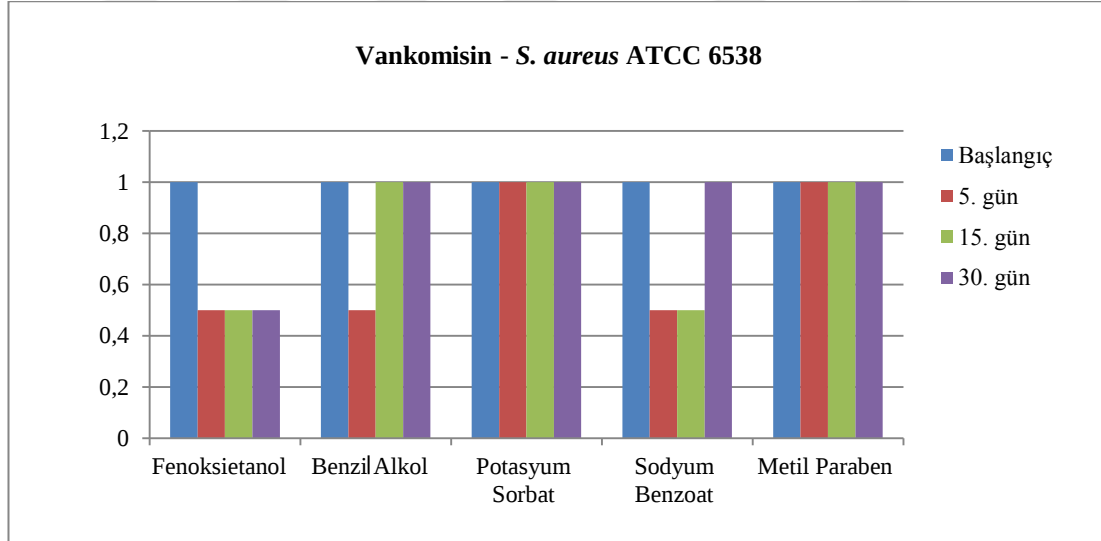
Maruziyet süresi	Flukanozol – <i>C. albicans</i> ATCC 14053 MİK Test Sonuçları (µg/mL)				
	Fenoksietanol	Benzil Alkol	Potasyum Sorbat	Sodyum Benzoat	Metil Paraben
5 gün	1	1	1	2	1
15 gün	2	2	1	2	2
30 gün	4	4	2	4	2

Antibiyotiklerin, kontrol grubu amacıyla 5, 15 ve 30 gün süreyle sadece MHB besiyerine maruz bırakılan mikroorganizmalar için yapılan MİK testi sonuçları Çizelge 3.11.'de verilmiştir.

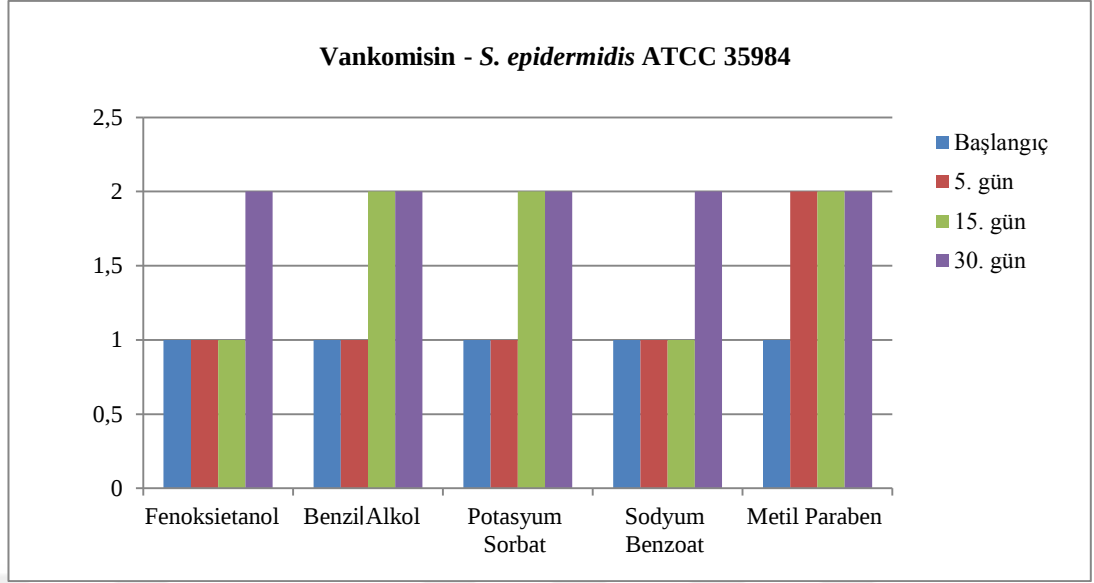
Çizelge 3.11. Vankomisin, sefepim ve flukanozolün, sadece besiyerine maruz bırakılmış kontrol grubu mikroorganizmalar için yapılan MİK testi sonuçları

Antibiyotik	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 - Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) (µg/mL)		
	5. gün	15. gün	30. gün
Vankomisin	1	1	1
	<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984 - Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) (µg/mL)		
Vankomisin	1	1	1
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 - Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) (µg/mL)		
Sefepim	2	2	2
	<i>C. albicans</i> ATCC 14053 - Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) (µg/mL)		
Flukanozol	1	1	1

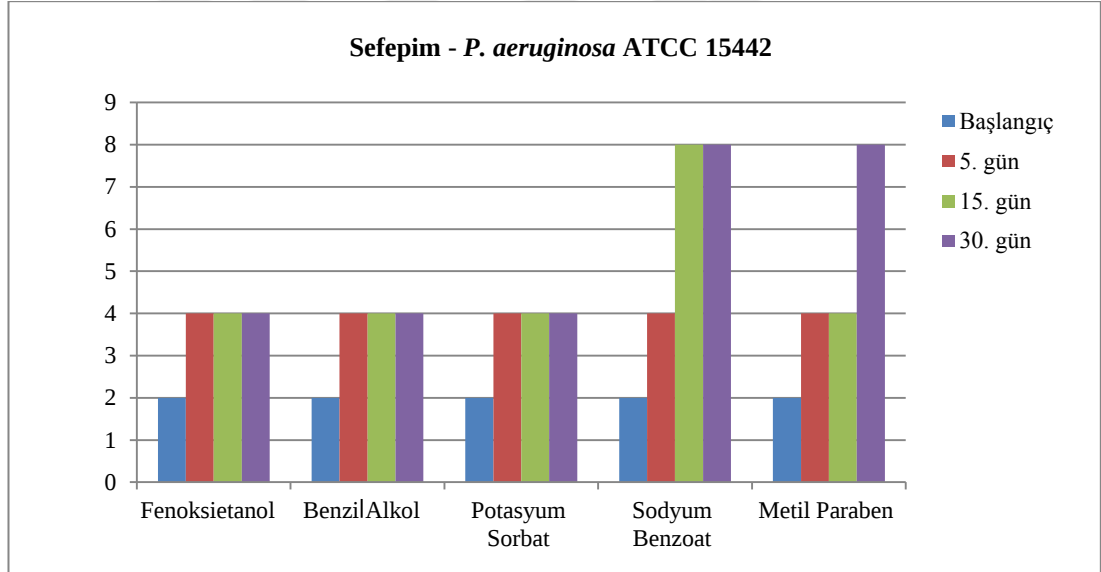
Antibiyotiklerin mikroorganizmalar için koruyucu maruziyeti öncesi başlangıç ve koruyuculara 5, 15, 30 günlük maruziyeti sonrasında yapılan MİK testi sonuçlarının karşılaştırılması Şekil 3.1., 3.2., 3.3. ve 3.4.'de verilmiştir.



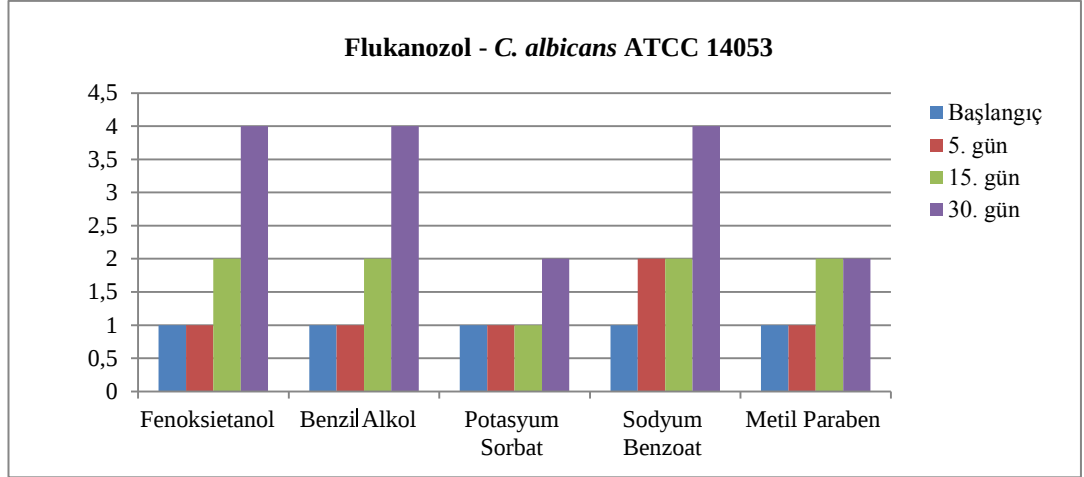
Şekil 3.1. Vankomisinin *S. aureus* ATCC 6538 için koruyucu maruziyeti öncesi başlangıç ve maruziyet sonrası MİK testi sonuçlarının karşılaştırılması



Şekil 3.2. Vankomisin'in *S. epidermidis* ATCC 35984 için koruyucu maruziyeti öncesi başlangıç ve maruziyet sonrası MİK testi sonuçlarının karşılaştırılması

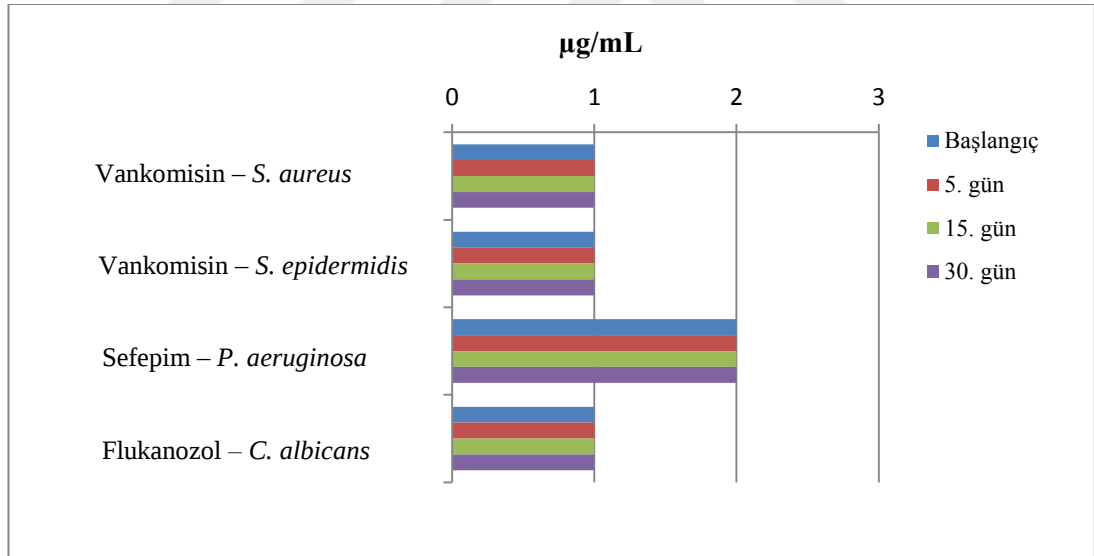


Şekil 3.3. Sefepim'in *P. aeruginosa* ATCC 15442 için koruyucu maruziyeti öncesi başlangıç ve maruziyet sonrası MİK testi sonuçlarının karşılaştırılması



Şekil 3.4. Flukanozolün *C. albicans* ATCC 14053 için koruyucu maruziyeti öncesi başlangıç ve maruziyet sonrası MİK testi sonuçlarının karşılaştırılması

Deney kontrolü amacıyla antibiyotiklerin mikroorganizmalar için besiyeri maruziyeti öncesi başlangıç ve 5, 15, 30 günlük maruziyeti sonrasında yapılan MİK testi sonuçlarının karşılaştırılması Şekil 3.5.'de verilmiştir.



Şekil 3.5. Antibiyotiklerin mikroorganizmalar için besiyeri maruziyeti öncesi başlangıç ve maruziyet sonrası MİK testi sonuçlarının karşılaştırılması

3.2. İn Vivo Test Sonuçları

3.2.1. Letal Doz Çalışması Sonuçları

Mikroorganizmaların, *G. mellonella* larvalarına farklı süspansiyon oranlarında enjekte edilmesiyle yapılan letal doz çalışması sonrasında, 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde larvalarda gözlemlenen canlı ve ölü sayıları Çizelge 3.12., 3.13., 3.14. ve 3.15.'te verilmiştir.

Çizelge 3.12. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *S. aureus* ATCC 6538 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları

Saat	10 ⁶ CFU/mL		10 ⁷ CFU/mL		10 ⁸ CFU/mL	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
6	10	0	10	0	10	0
12	10	0	10	0	10	0
24	10	0	9	1	8	2
48	9	1	8	2	7	3
72	8	2	6	4	4	6
96	8	2	6	4	2	8
120	6	4	4	6	0	10

Çizelge 3.13. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *S. epidermidis* ATCC 35984 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları

Saat	10 ⁶ CFU/mL		10 ⁷ CFU/mL		10 ⁸ CFU/mL	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
6	10	0	10	0	10	0
12	10	0	10	0	10	0
24	10	0	9	1	8	2
48	10	0	8	2	7	3
72	9	1	7	3	6	4
96	8	2	6	4	4	6
120	7	3	4	6	0	10

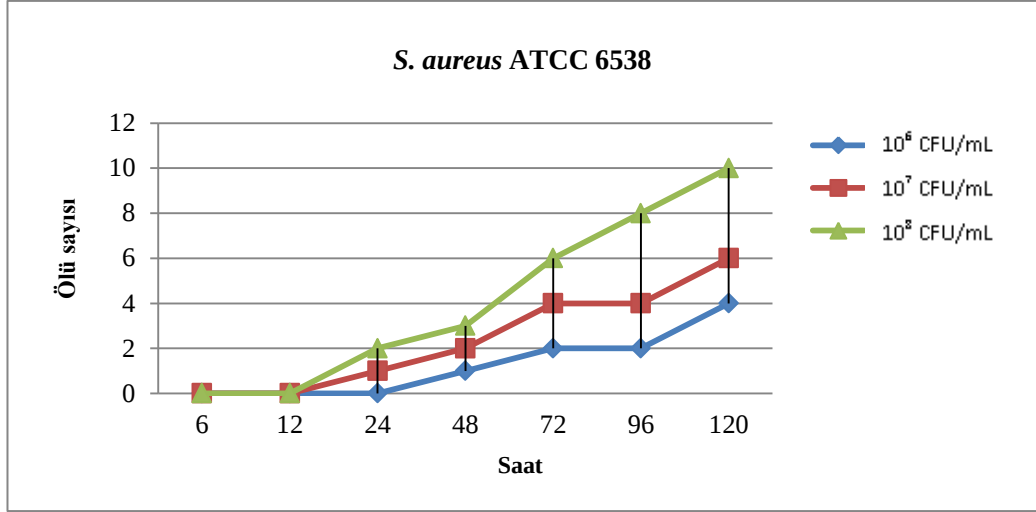
Çizelge 3.14. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *P. aeruginosa* ATCC 15442 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları

Saat	10 ⁵ CFU/mL		10 ⁶ CFU/mL		10 ⁷ CFU/mL	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
6	10	0	9	1	4	6
12	10	0	6	4	0	10
24	6	4	4	6	0	10
48	5	5	1	9	0	10
72	4	6	0	10	0	10
96	1	9	0	10	0	10
120	0	10	0	10	0	10

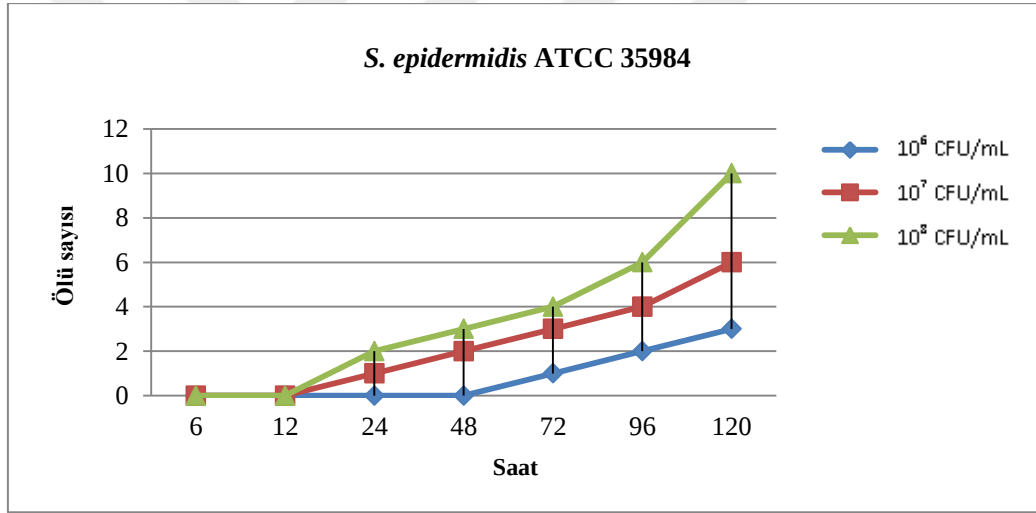
Çizelge 3.15. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *C. albicans* ATCC 14053 letal doz çalışması sonrası larva canlı ve ölü sayıları

Saat	10 ⁵ CFU/mL		10 ⁶ CFU/mL		2x10 ⁶ CFU/mL	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
6	10	0	10	0	10	0
12	10	0	10	0	10	0
24	10	0	9	1	7	3
48	8	2	7	3	4	6
72	6	4	4	6	1	9
96	3	7	2	8	1	9
120	2	8	0	10	0	10

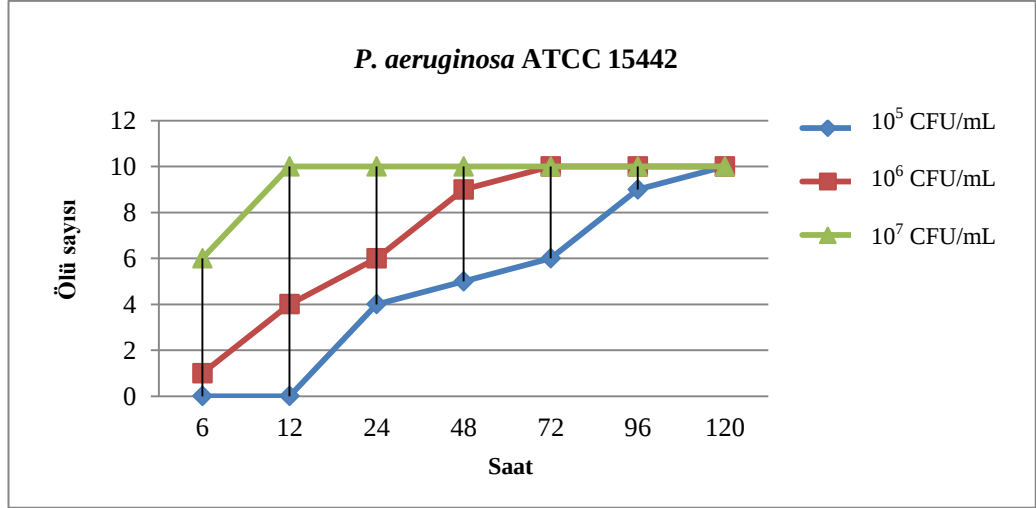
G. mellonella letal doz çalışmasındaki larva ölü sayılarının karşılaştırılması Şekil 3.6., 3.7., 3.8. ve 3.9.'da verilmiştir.



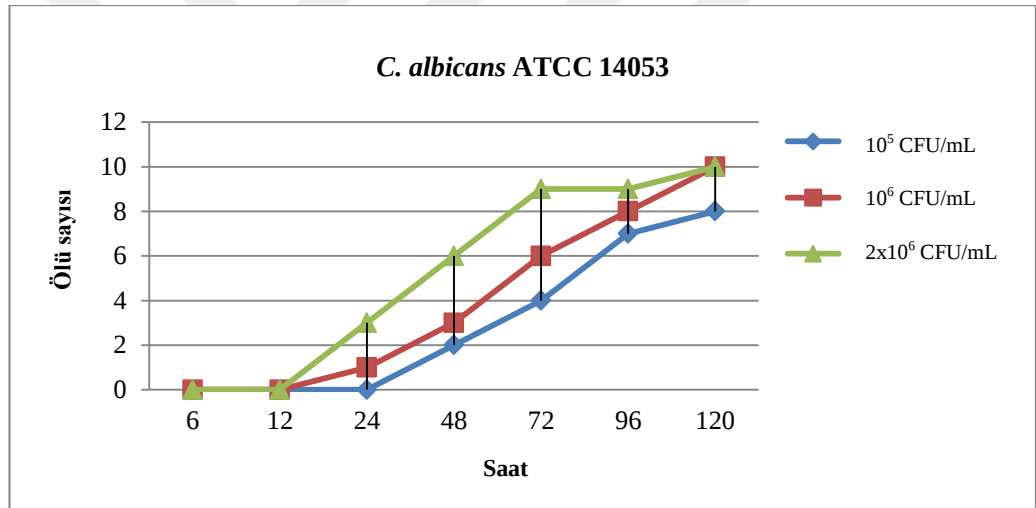
Şekil 3.6. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *S. aureus* ATCC 6538 letal doz çalışması sonrası larva ölü sayılarının karşılaştırılması



Şekil 3.7. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *S. epidermidis* ATCC 35984 letal doz çalışması sonrası larva ölü sayılarının karşılaştırılması



Şekil 3.8. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *P. aeruginosa* ATCC 15442 letal doz çalışması sonrası larva ölü sayılarının karşılaştırılması



Şekil 3.9. *G. mellonella* larvaları üzerinde yapılan *C. albicans* ATCC 14053 letal doz çalışması sonrası larva ölü sayılarının karşılaştırılması

3.2.2. Maruziyet Sonrası *G. mellonella* Çalışması Sonuçları

3.2.2.1. *Staphylococcus aureus*

Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538'in enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında ilk 6 ve 12. saatte ölüm gözlemlenmemiştir. 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki kontrollerinde kaydedilen canlı ve ölü sayıları Çizelge 3.16., 3.17, 3.18., 3.19. ve 3.20.'de verilmiştir. Bu verilere göre ölü sayılarının karşılaştırılması Şekil 3.10.'da verilmiştir.

Çizelge 3.16. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538'in enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 24. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	9	1	7	3	8	2	9	1	6	4
15. gün	8	2	8	2	8	2	8	2	7	3
30. gün	9	1	7	3	8	2	9	1	8	2

Çizelge 3.17. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538'in enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 48. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	5	5	5	5	6	4	7	3	5	5
15. gün	6	4	6	4	7	3	8	2	6	4
30. gün	7	3	6	4	7	3	9	1	6	4

Çizelge 3.18. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538'in enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 72. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

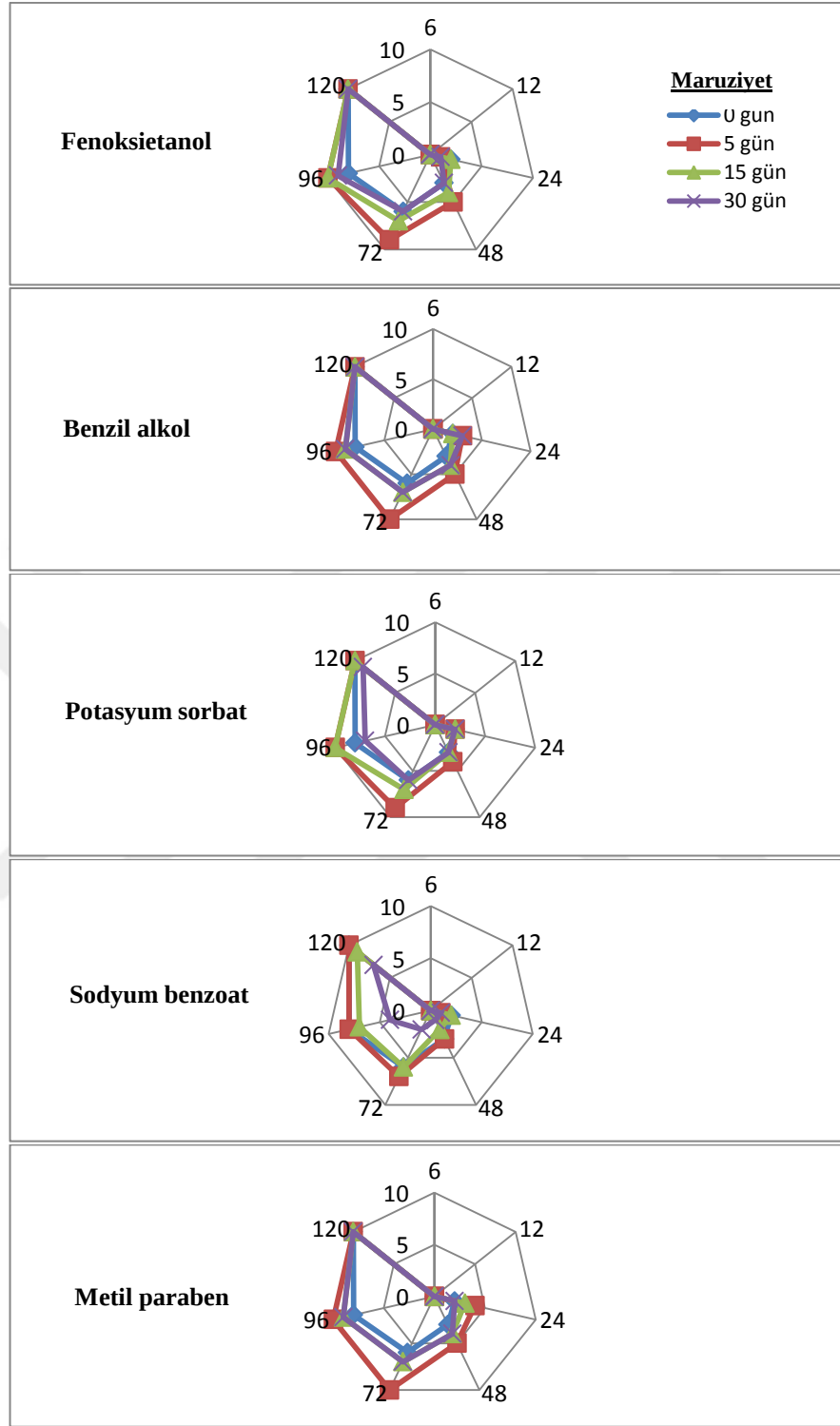
Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	1	9	0	10	1	9	3	7	0	10
15. gün	3	7	3	7	3	7	4	6	3	7
30. gün	4	6	3	7	4	6	8	2	3	7

Çizelge 3.19. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538'in enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet Süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	0	10	0	10	0	10	2	8	0	10
15. gün	0	10	1	9	0	10	3	7	1	9
30. gün	1	9	1	9	3	7	6	4	1	9

Çizelge 3.20. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538'in enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 120. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet Süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
15. gün	0	10	0	10	0	10	1	9	0	10
30. gün	0	10	0	10	1	9	3	7	0	10



Şekil 3.10. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. aureus* ATCC 6538'in enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde gözlemlenen ölü sayılarının karşılaştırılması.

S. aureus ATCC 6538 standart suşu ve 5, 15, 30 gün kimyasal maruziyeti geçirmiş formlarının, İn vivo testlerde larvalara enjekte edilmesinin ardından, analiz edilen larvaların 24. saat kontrollerindeki ölü sayılarının yüzdelik oranları ve Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi Çizelge 3.21.'de verilmiştir. 24 ve 96. saatler arasındaki kontrollerde gözlemlenen ölü sayılarının Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi ise Çizelge 3.22.'de verilmiştir.

Çizelge 3.21. *S. aureus* ATCC 6538 çalışmasında larvaların 24. saat ölü sayılarının yüzdelik oranları ve İstatistiksel analizi

Grup	24. Saat	Maruziyet Süresi		
		5 gün	15 gün	30 gün
<i>S. aureus</i> ATCC 6538		%20,0	%20,0	%20,0
Fenoksietanol		%10,0	%20,0	%10,0
Benzil alkol		%30,0	%20,0	%30,0
Potasyum sorbat		%20,0	%20,0	%20,0
Sodyum benzoat		%10,0	%20,0	%10,0
Metil paraben		%40,0	%30,0	%20,0
Log Rank (Mantel-Cox)				
Ki-kare Testi (Chi-Square)		2,870	0,418	1,084
Serbestlik Derecesi (df)		5	5	5
Anlamlılık (p)		0,720	0,995	0,956

Çizelge 3.22. *S. aureus* ATCC 6538 çalışmasında larvaların 24 ve 96 saatler arasındaki ölü sayılarının İstatistiksel analizi

Log Rank (Mantel-Cox)	24-96 Saat	Maruziyet Süresi		
		5 gün	15 gün	30 gün
Ki-kare Testi (Chi-Square)		8,429	6, 520	10, 627
Serbestlik Derecesi (df)		5	5	5
Anlamlılık (p)		0,134	0,259	0,059

3.2.2.2. *Staphylococcus epidermidis*

Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında ilk 6 ve 12. saatte ölüm gözlemlenmemiştir. 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki kontrollerinde kaydedilen canlı ve ölü sayıları Çizelge 3.23, 3.24., 3.25., 3.26. ve 3.27'de verilmiştir. Bu verilere göre ölü sayılarının karşılaştırılması Şekil 3.11.'de verilmiştir.

Çizelge 3.23. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 24. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	6	4	7	3	6	4	8	2	8	2
15. gün	9	1	9	1	6	4	9	1	9	1
30. gün	9	1	8	2	7	3	8	2	9	1

Çizelge 3.24. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 48. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet Süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	5	5	7	3	5	5	8	2	6	4
15. gün	7	3	8	2	6	4	6	4	7	3
30. gün	9	1	8	2	7	3	4	6	8	2

Çizelge 3.25. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 72. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

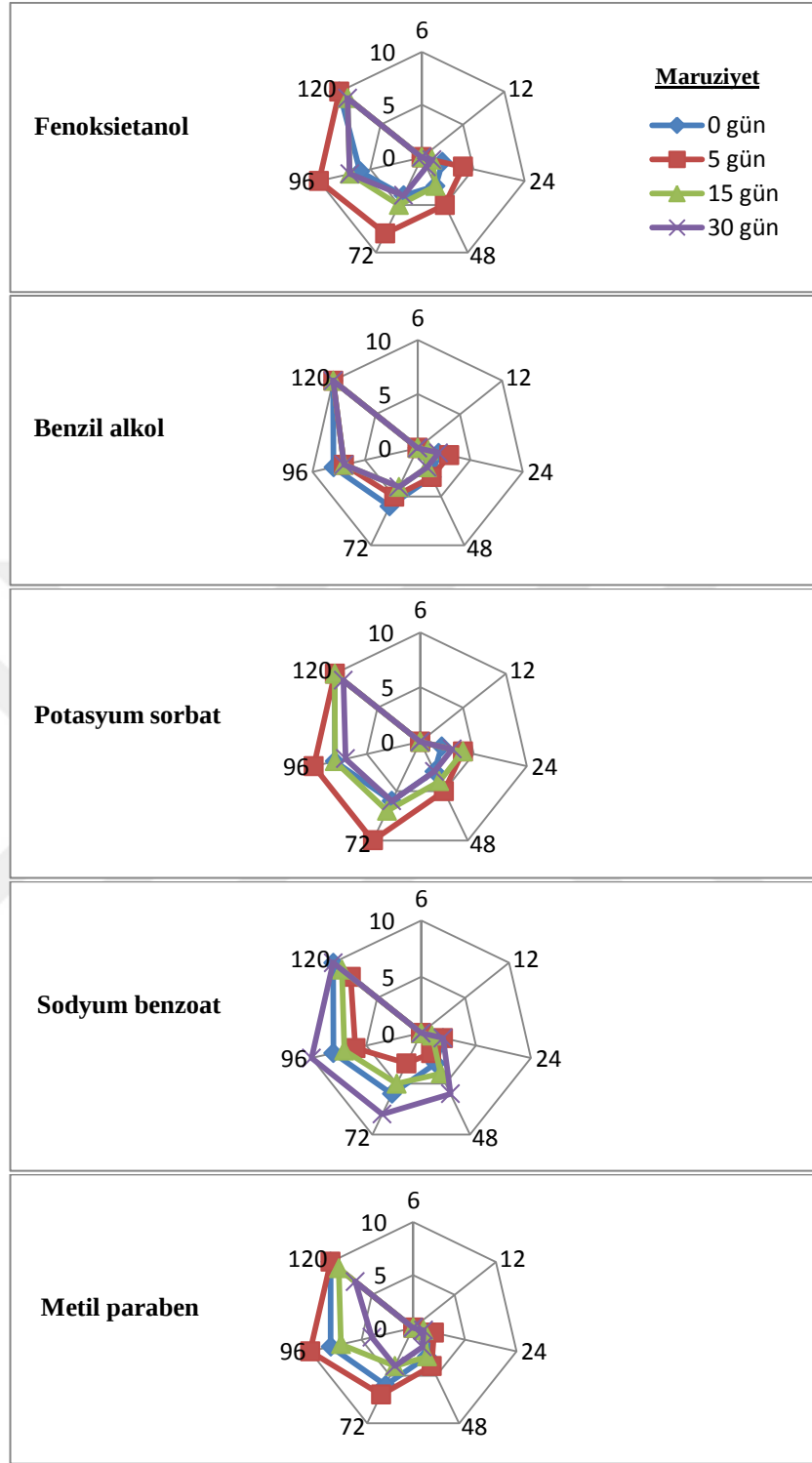
Maruziyet Süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	2	8	5	5	0	10	7	3	3	7
15. gün	5	5	6	4	3	7	5	5	6	4
30. gün	6	4	6	4	4	6	2	8	6	4

Çizelge 3.26. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet Süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	0	10	3	7	0	10	4	6	0	10
15. gün	3	7	3	7	2	8	3	7	3	7
30. gün	3	7	3	7	3	7	0	10	6	4

Çizelge 3.27. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 120. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet Süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	0	10	0	10	0	10	2	8	0	10
15. gün	1	9	0	10	0	10	1	9	1	9
30. gün	1	9	0	10	1	9	0	10	3	7



Şekil 3.11. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *S. epidermidis* ATCC 35984'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde gözlemlenen ölü skorların karşılaştırılması.

S. epidermidis ATCC 35984 standart suşu ve 5, 15, 30 gün kimyasal maruziyeti geçirmiş formlarının, İn vivo testlerde larvalara enjekte edilmesinin ardından, analiz edilen larvaların 24. saat kontrollerindeki ölü sayılarının yüzdelik oranları ve Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi Çizelge 3.28.'de verilmiştir. 24 ve 96. saatler arasındaki kontrollerde gözlemlenen ölü sayılarının Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi ise Çizelge 3.29.'da verilmiştir.

Çizelge 3.28. *S. epidermidis* ATCC 35984 çalışmasında larvaların 24. saat ölü sayılarının yüzdelik oranları ve İstatistiksel analizi

Grup	24. Saat	Maruziyet Süresi		
		5 gün	15 gün	30 gün
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984		%20,0	%20,0	%20,0
Fenoksietanol		%40,0	%10,0	%10,0
Benzil alkol		%30,0	%10,0	%20,0
Potasyum sorbat		%40,0	%40,0	%30,0
Sodyum benzoat		%20,0	%10,0	%20,0
Metil paraben		%20,0	%10,0	%10,0
Log Rank (Mantel-Cox)				
Ki-kare Testi (Chi-Square)		1,551	2,716	1,146
Serbestlik Derecesi (df)		5	5	5
Anlamlılık (p)		0,907	0,744	0,950

Çizelge 3.29. *S. epidermidis* ATCC 35984 çalışmasında larvaların 24 ve 96 saatler arasındaki ölü sayılarının İstatistiksel analizi

Log Rank (Mantel-Cox)	24-96 Saat	Maruziyet Süresi		
		5 gün	15 gün	30 gün
Ki-kare Testi (Chi-Square)		13,683	0,937	8,558
Serbestlik Derecesi (df)		5	5	5
Anlamlılık (p)		0,018	0,968	0,128

3.2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*

Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *P. aeruginosa* ATCC 15442'nin enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında ilk 6 ve 12. saatte ölüm gözlemlenmemiştir. 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki kontrollerinde kaydedilen canlı ve ölü sayıları Çizelge 3.30., 3.31., 3.32., 3.33. ve 3.34.'de verilmiştir. Bu verilere göre ölü sayılarının karşılaştırılması Şekil 3.12.'de verilmiştir.

Çizelge 3.30. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *P. aeruginosa* ATCC 15442'nin enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 24. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	5	5	5	5	7	3	8	2	5	5
15. gün	6	4	5	5	5	5	6	4	6	4
30. gün	6	4	6	4	5	5	5	5	6	4

Çizelge 3.31. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *P. aeruginosa* ATCC 15442'nin enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 48. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	4	6	4	6	5	5	8	2	4	6
15. gün	5	5	4	6	3	7	4	6	4	6
30. gün	6	4	5	5	3	7	3	7	7	3

Çizelge 3.32. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *P. aeruginosa*'nın enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 72. Saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

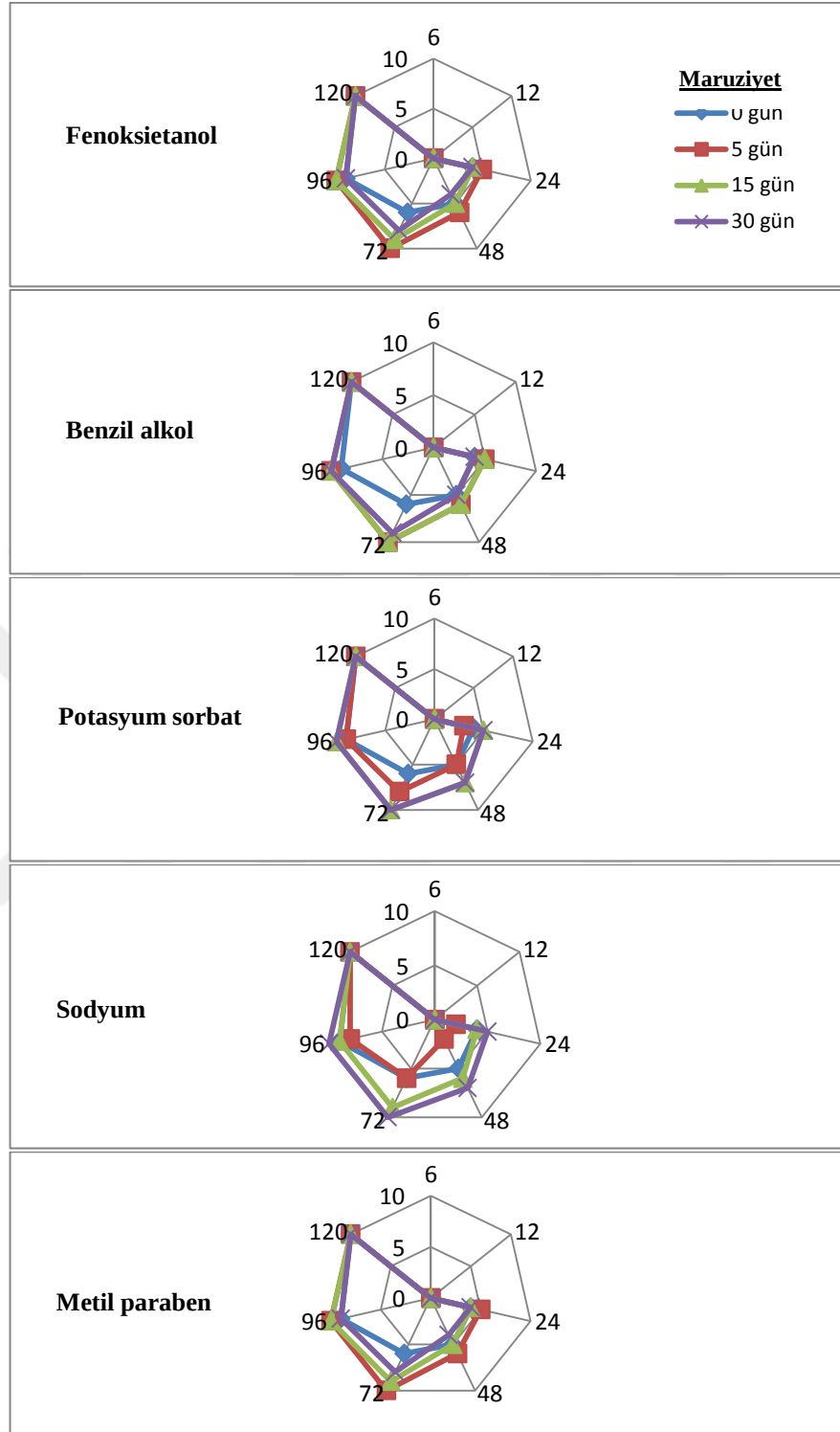
Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	0	10	0	10	2	8	4	6	0	10
15. gün	1	9	0	10	0	10	1	9	0	10
30. gün	2	8	1	9	0	10	0	10	3	7

Çizelge 3.33. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *P. aeruginosa* ATCC 15442'nin enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	0	10	0	10	1	9	2	8	0	10
15. gün	0	10	0	10	0	10	1	9	0	10
30. gün	1	9	0	10	0	10	0	10	1	9

Çizelge 3.34. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *P. aeruginosa* ATCC 15442'nin enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 120. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
15. gün	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10
30. gün	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10



Şekil 3.12. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *P. aeruginosa* ATCC 15442'nin enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde gözlemlenen ölü sayılarının karşılaştırılması.

P. aeruginosa ATCC 15442 standart suşu ve 5, 15, 30 gün kimyasal maruziyeti geçirmiş formlarının, İn vivo testerde larvalara enjekte edilmesinin ardından, analiz edilen larvaların 24. saat kontrollerindeki ölü sayılarının yüzdelik oranları ve Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi Çizelge 3.35.'te verilmiştir. 24 ve 96. saatler arasındaki kontrollerde gözlemlenen ölü sayılarının Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi ise Çizelge 3.36.'da verilmiştir.

Çizelge 3.35. *P. aeruginosa* ATCC 15442 çalışmasında larvaların 24. saat ölü skorlarının yüzdelik oranları ve İstatistiksel analizi

Grup	24. Saat	Maruziyet Süresi		
	5. gün	15. gün	30. gün	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	%30,0	%40,0	%40,0	
Fenoksietanol	%50,0	%40,0	%40,0	
Benzil alkol	%50,0	%50,0	%40,0	
Potasyum sorbat	%30,0	%50,0	%50,0	
Sodyum benzoat	%20,0	%40,0	%50,0	
Metil paraben	%50,0	%40,0	%40,0	
Log Rank (Mantel-Cox)				
Ki-kare Testi (Chi-Square)	3,222	0,444	0,523	
Serbestlik Derecesi (df)	5	5	5	
Anlamlılık (p)	0,666	0,994	0,991	

Çizelge 3.36. *P. aeruginosa* ATCC 15442 çalışmasında larvaların 24 ve 96 saatler arasındaki ölü sayılarının İstatistiksel analizi

Log Rank (Mantel-Cox)	24-96 Saat	Maruziyet Süresi		
	5 gün	15 gün	30 gün	
Ki-kare Testi (Chi-Square)	5,268	4,069	3,105	
Serbestlik Derecesi (df)	5	5	5	
Anlamlılık (p)	0,384	0,540	0,684	

3.2.2.4. *Candida albicans*

Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında ilk 6 ve 12. saatte ölüm gözlemlenmemiştir. 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki kontrollerinde kaydedilen canlı ve ölü sayıları Çizelge 3.37., 3.38., 3.39., 3.40. ve 3.41.'de verilmiştir. Bu verilere göre ölü sayılarının karşılaştırılması Şekil 3.13.'te verilmiştir.

Çizelge 3.37. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 24. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	9	1	9	1	10	0	8	2	9	1
15. gün	8	2	9	1	9	1	8	2	9	1
30. gün	8	2	8	2	9	1	7	3	8	2

Çizelge 3.38. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 48. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	6	4	8	2	7	3	6	4	6	4
15. gün	5	5	7	3	7	3	5	5	5	5
30. gün	5	5	6	4	6	4	5	5	6	4

Çizelge 3.39. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 72. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

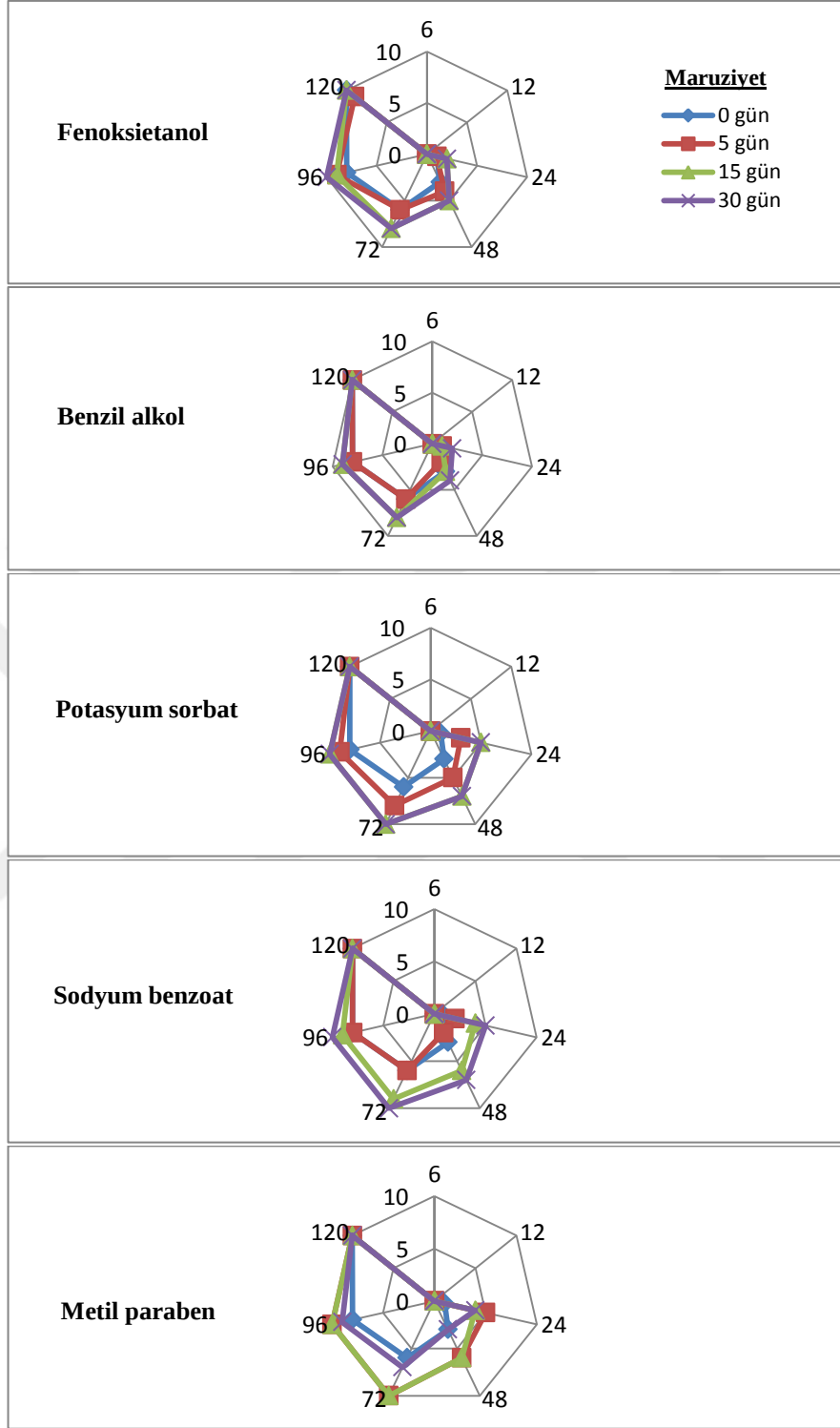
Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	4	6	4	6	4	6	3	7	3	7
15. gün	2	8	2	8	3	7	2	8	2	8
30. gün	2	8	2	8	3	7	1	9	2	8

Çizelge 3.40. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 96. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	1	9	2	8	3	7	1	9	2	8
15. gün	1	9	1	9	2	8	0	10	1	9
30. gün	0	10	1	9	2	8	0	10	0	10

Çizelge 3.41. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarının 120. saat kontrolündeki ölü ve canlı sayıları

Maruziyet süresi	Fenoksietanol		Benzil Alkol		Potasyum Sorbat		Sodyum Benzoat		Metil Paraben	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
5. gün	1	9	0	10	1	9	0	10	1	9
15. gün	0	10	0	10	1	9	0	10	0	10
30. gün	0	10	0	10	0	10	0	10	0	10



Şekil 3.13. Koruyuculara 5, 15 ve 30 gün süreyle maruz bırakılan *C. albicans* ATCC 14053'ün enjekte edildiği *G. mellonella* larvalarında 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde gözlemlenen ölü skorların karşılaştırılması.

C. albicans ATCC 14053 standart suşu ve 5, 15, 30 gün kimyasal maruziyeti geçirmiş formlarının, İn vivo testlerde larvalara enjekte edilmesinin ardından, analiz edilen larvaların 24. saat kontrollerindeki ölü sayılarının yüzdelik oranları ve Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi Çizelge 3.42.'de verilmiştir. 24 ve 96. saatler arasındaki kontrollerde gözlemlenen ölü sayılarının Log Rank (Mantel-Cox) testi ile yapılan İstatistiksel analizi ise Çizelge 3.43.'te verilmiştir.

Çizelge 3.42. *C. albicans* ATCC 14053 çalışmasında larvaların 24. saat ölü sayılarının yüzdelik oranları ve İstatistiksel analizi

Grup	24. Saat	Maruziyet Süresi		
		5. gün	15. gün	30. gün
<i>C. albicans</i> ATCC 14053		%10,0	%10,0	%10,0
Fenoksietanol		%10,0	%20,0	%20,0
Benzil alkol		%10,0	%20,0	%20,0
Potasyum sorbat		%0	%10,0	%10,0
Sodyum benzoat		%20,0	%20,0	%30,0
Metil paraben		%10,0	%10,0	%20,0
Log Rank (Mantel-Cox)				
Ki-kare Testi (Chi-Square)		0,247	0,118	0,347
Serbestlik Derecesi (df)		5	5	5
Anlamlılık (p)		0,999	1	0,997

Çizelge 3.43. *C. albicans* ATCC 14053 çalışmasında larvaların 24 ve 96 saatler arasındaki ölü sayılarının İstatistiksel analizi

Log Rank (Mantel-Cox)	24-96 Saat	Maruziyet Süresi		
		5 gün	15 gün	30 gün
Ki-kare Testi (Chi-Square)		1,861	2,704	6,222
Serbestlik Derecesi (df)		5	5	5
Anlamlılık (p)		0,868	0,746	0,285

Sağlıklı kontrol ve serum fizyolojik enjekte edilen deney kontrol gruplarının 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde kaydedilen canlı ve ölü sayıları Çizelge 3.44.'de verilmiştir.

Çizelge 3.44. Deney kontrol gruplarının 6, 12, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki canlı ve ölü sayıları

Saat	Kontrol Grubu Sonuçları			
	Sağlıklı Kontrol		Deney Kontrol	
	Canlı	Ölü	Canlı	Ölü
6	10	0	10	0
12	10	0	10	0
24	10	0	10	0
48	10	0	10	0
72	10	0	10	0
96	10	0	10	0
120	10	0	9	1

4. TARTIŞMA

Aktif madde içeren ürünlerin uzun süreli kullanımı, özellikle uygun şekilde bertaraf edilmediğinde, mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahip olabilmektedir. Kozmetik ürünlerin potansiyel etkisi bu konuda göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durum özellikle toplumdaki hemen hemen her yaş grubundaki bireyin günlük olarak kullandığı çeşitli kimyasalları içeren ürünler için dikkat çekicidir. Bu tür kozmetik ürünlerin, direnç gelişimine katkıda bulunabileceği ve değerlendirilmesi gerektiği endişesi bulunmaktadır (Jin vd., 2018).

Dirençli mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonlar tedavide önemli zorluklara neden olmaktadır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve bağışıklık sistemi zayıf olan bireylerde daha ciddi klinik sonuçlara ve yüksek ölüm risklerine neden olabilmektedirler. Antibiyotikler, cerrahi prosedürler, organ nakilleri ve kanser hastalarının tedavisi de dahil olmak üzere tıbbi uygulamalarda önemli ve çok yönlü bir rol oynamaktadır. Ancak halk arasında, gıda endüstrisinde, hayvanlarda veya tarımsal ortamlarda antibiyotiklerin gereksiz ve uygunsuz kullanımı antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmaktadır (Landers vd., 2012; Morehead ve Scarbrough, 2018; Munita ve Arias; 2016).

Mikrobiyolojik çalışmaların çoğu geleneksel olarak antibiyotik direnci ve virülans konularına tek tek odaklanırken, bu olayların karşılıklı ilişkisini ve karşılıklı biyolojik etkisinin de araştırılması gerekmektedir. Virülans, direncin gelişimi ile karmaşık bir şekilde bağlantılıdır. Özellikle antibiyotik tedavisinin teorik olarak konakçıdaki virülen patojenlerin varlığına işaret eden açık enfeksiyon veya hastalık belirtilerine yanıt olarak başlatıldığı bilinmektedir. Bununla birlikte, enfeksiyonun olmadığı durumlarda (konağın patojenik mikroorganizmaların bulunmadığı normal florası dikkate alındığında) antibiyotiklere maruz kalmanın çok daha düşük olması muhtemeldir. Sonuç olarak enfeksiyon olmadığında antimikrobiyal basıncın azalması nedeniyle direnç gelişme olasılığı da daha düşüktür (Beceiro vd., 2013).

Dünya çapında tüketicilerin kozmetik ve dermokozmetik ürünlere olan talebinin hızla artması üzerine 2002 yılında Amerikan Klinik Dermatoloji Dergisinde bu ürünlerin insan sağlığı açısından bir tehdit oluşturduğunu belirtmek amacı dışında, tartışma, ilgi uyandırma ve test etmeye teşvik etme amacıyla yayınlanan bir makalede, formülasyonlarında antimikrobiyal ajan içeren kozmetik ürünlerin deri üzerinde aktif şekilde kalarak uzun süreli kullanımında, insan yerleşik veya geçici cilt florasındaki mikrobiyal ekolojide değişikliklere

neden olabileceği ve bu ekolojiyi oluşturan mikroorganizmaların antibiyotiğe dirençli formları arttırabileceği öngörülmüştür (Holland ve Bojar, 2002).

Literatür araştırmalarında cilt ile temas eden kozmetik ve dermokozmetik koruyucularının, mikroorganizma antibiyotik dirençlerine katkıda bulunabileceği, canlı organizma üzerinde farklı etkiler gösterebileceği gözlemlenmiştir. Bu olasılıklar üzerine çalışmamız planlanarak in vitro ve İn vivo koşullarda çeşitli analizler gerçekleştirilmiştir.

Koruyucuların mikroorganizmalara karşı yapılan MİK testi sonuçlarına göre, maruziyet testine geçmeden önce süspansiyon içerisindeki maddelerin başlangıç oranları, maruziyet süresi boyunca mikroorganizmaların koruyucular tarafından inhibe edilmemesine göre belirlenmiştir. Belirlenen bu oranlara göre 5, 15 ve 30 günlük maruziyet süreci başlatılmıştır. Süreç öncesinde ve sonrasında antibiyotiklerin mikroorganizmalar için yapılan MİK testi sonuçları karşılaştırılmıştır. Yapılan karşılaştırmalarda başlangıç seviyelerine göre gözlemlenen 2 kat değişimler hata payı olarak kabul edilerek anlamlı kabul edilmemiştir. 4 kat değişimler ise direnç veya duyarlılık gelişimi olarak sonuçlandırılmıştır.

Başlangıçta, *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *P. aeruginosa*'ya en etkili olan koruyucuların benzil alkol ve metil paraben olduğu gözlemlenmiştir. *C. albicans*'a ise başlangıçta en etkili olan koruyucunun potasyum sorbat olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda *S. aureus*'un koruyucu maruziyetleri öncesi ve sonrasında vankomisin ile yapılan test sonuçları karşılaştırıldığında, fenoksietanol ile 5, 15 ve 30 günlük maruziyetinde 2 kat duyarlılık gözlemlenmiştir. Benzil alkol ile 5 günlük maruziyetinde 2 kat duyarlılık gözlemlenmiş fakat 15 ve 30 günlük maruziyetinde bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Potasyum sorbat ve metil paraben ile 5, 15 ve 30 günlük maruziyeti sonrasında herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Sodyum benzoat ile 5 ve 15 maruziyetinde 2 kat duyarlılık gözlemlenmiş fakat 30 günlük maruziyetinde bir değişiklik gözlemlenmemiştir.

S. aureus'un koruyucu maruziyeti sonrasında vankomisine direnç geliştirmedeği, aksine duyarlılık gösterdiği gözlemlenmiştir fakat bu duyarlılıklar 2 kat düzeyinde gözlemlendiği için anlamlı kabul edilmemiştir. *S. aureus*'un koruyucular ile maruziyeti sonrasında vankomisine karşı direnç veya duyarlılık gelişimlerinin araştırıldığı bir çalışma bulunmadığı için, bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda *S. epidermidis*'in koruyucu maruziyetleri öncesi ve sonrasında vankomisin ile yapılan test sonuçları karşılaştırıldığında, fenoksietanol ve sodyum benzoat ile 5 ve 15 günlük maruziyeti sonrasında bir değişiklik göstermediği fakat 30 günlük maruziyetinde 2 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir. Benzil alkol ve potasyum sorbat ile 5 günlük maruziyetinde bir değişiklik göstermediği, 15 ve 30 günlük maruziyeti sonrasında 2 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir. Metil paraben 5, 15 ve 30 günlük maruziyeti sonrasında 2 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir.

Tüm koruyucular *S. epidermidis*'in vankomisine direnç göstermesine sebep olmuştur fakat bu dirençler 2 kat düzeyinde gözlemlendiği için anlamlı kabul edilmemiştir. *S. epidermidis*'in koruyucular ile maruziyeti sonrasında vankomisine karşı direnç veya duyarlılık gelişimlerinin araştırıldığı bir çalışma bulunmadığı için bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda *P. aeruginosa*'nın koruyucu maruziyetleri öncesi ve sonrasında sefepim ile yapılan test sonuçları karşılaştırıldığında fenoksietanol, benzil alkol ve potasyum sorbat ile 5, 15 ve 30 günlük maruziyetinde 2 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir. Sodyum benzoat ile 5 günlük maruziyetinde 2 kat, 15 ve 30 günlük maruziyetinde ise 4 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir. Metil paraben ile 5 ve 15 günlük maruziyetinde 2 kat, 30 günlük maruziyetinde ise 4 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir.

P. aeruginosa'nın sefepim direnci göstermesine anlamlı düzeyde sebep olan koruyucular sodyum benzoat ve metil paraben olmuştur. Fenoksietanol, benzil alkol ve potasyum sorbat'ın da *P. aeruginosa*'da direnç gelişimine sebep olmuştur fakat bu dirençler 2 kat düzeyinde gözlemlendiği için anlamlı kabul edilmemiştir.

Çalışmamızda yapılan analizlere benzerlik gösteren tek çalışma bu kısımda bulunmaktadır. Bu çalışmada fenoksietanolün *P. aeruginosa*'yı inhibe ettiği en düşük konsantrasyon belirlenerek, alt konsantrasyonlarına adaptasyon başlatılmıştır. 10. gün pasajında yapılan MİK kontrollerinde *P. aeruginosa*'nın 2 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiş ve bu direncin kararlı olduğu belirtilmiştir. Elde edilen bulgular bizim sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir (Abdelmalek ve Badran, 2010).

P. aeruginosa'nın diğer koruyucular ile maruziyeti sonrasında direnç veya duyarlılık gelişimlerinin araştırıldığı bir çalışma bulunmadığı için bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda *C.albicans* 'ın koruyucu maruziyetleri öncesi ve sonrasında flukanazol ile yapılan test sonuçları karşılaştırıldığında fenoksietanol, benzil alkol ve sodyum benzoat ile 5 günlük maruziyetinde bir değişiklik göstermediği, 15 günlük maruziyetinde 2 kat, 30 günlük maruziyetinde 4 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir. Potasyum sorbat ile 5 ve 15 günlük maruziyetinde bir değişiklik göstermediği 30 günlük maruziyetinde 2 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir. Metil paraben ile 5 günlük maruziyetinde bir değişiklik göstermediği, 15 ve 30 günlük maruziyetinde 2 kat direnç geliştirdiği gözlemlenmiştir.

C.albicans 'ın flukanazole karşı direnç geliştirmesine anlamlı düzeyde sebep olan koruyucuların fenoksietanol, benzil alkol ve sodyum benzoat olduğu gözlemlenmiştir. Potasyum sorbat ve metil paraben de *C. albicans*'ta direnç gelişimine sebep olmuştur fakat bu dirençler 2 kat düzeyinde gözlemlendiği için anlamlı kabul edilmemiştir. *C.albicans* 'ın koruyucular ile maruziyeti sonrasında direnç veya duyarlılık gelişimlerinin araştırıldığı bir çalışma olmadığı için bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızın özgünlüğünden dolayı in vitro analizlerden elde edilen verilerin karşılaştırılması kısmında benzerlik gösteren yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. Farklı antimikrobiyal ajanlar ve mikroorganizmaların maruz bırakılması sonrasında elde edilen veriler bu kısımda verilmiştir. Bizim çalışmamız ile benzerlikleri ve ileride yapılabilecek çalışmalar tartışılmıştır.

Jin vd. (2018), fluoksetin antidepresanının, çoklu antibiyotik direncini araştırmayı ve bu duruma sebep olabilecek mekanizmaları ortaya çıkarmayı amaçladıkları çalışmalarında, *Escherichia coli* farklı konsantrasyonlarda fluoksetine maruz bırakılmıştır. 30 günlük maruziyet sonrasında kloramfenikol, amoksisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı direnç gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Antibiyotik dışı ilaçların da antibiyotik direncinin ortaya çıkmasında bir rol oynayıp oynayamayacağı konusunda çalışmaların yetersiz olduğunu da bildirmişlerdir. Bu çalışmaya benzerlik göstererek çalışmamızda antibiyotik dışı farmasötik prepreat olarak adlandırılan dermokozmetik ürünlerin içerisindeki koruyucuların da mikroorganizmalar ile 5, 15, 30 günlük maruziyet sonrasında, mikroorganizmalarda antibiyotik direnç gelişimi gözlemlenmiştir.

Cilt bakım ürünlerinin cilt kimyası ve mikrobiyom dinamikleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, dört güzellik ürününün (yüz losyonu, nemlendirici, ayak pudrası ve deodorant) 11 gönüllü üzerindeki etkisi 9 hafta boyunca değerlendirilmiştir. Ürünler tüketicilere belirli sürelerde kullanılarak vücut bölgelerinden alınan swap örnekleri analiz edilmiştir. Analiz sonucunda deodorant ve ayak pudrası, moleküler, bakteriyel ve arkelerin

çeşitliliğini artırırken, kol ve yüz losyonlarının bakteri ve arkeler üzerinde çok az etkisi olduğunu fakat kimyasal çeşitliliği arttırdığı belirtilmiştir. Deodorant kullanımının durdurulmasıyla kimyasalların yanı sıra bakteri ve arke çeşitliliğinde de azalma olduğu belirtilmiştir (Bouslimani vd., 2019). Bu çalışma sonrasında, kozmetik ve dermokozmetik koruyucularının, insan cilt flosındaki bakteriyel ve arke çeşitliliği üzerindeki etkisinin ileride yapılacak çalışmalarda araştırılabileceği düşünülmektedir.

Kozmetik ürünlerde sıklıkla kullanılan metilizotiazolinon, iyodopropinil bütikarbamat, etilheksilgliserin, metilparaben ve fenoksietanolü, 14 sağlıklı yetişkinin yüz bölgesinden izole edilen *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus capitis*, *Kocuria*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas parafulva*, *Pseudomonas oleovorans* ve *Roseomonas servikalis* bakterileri ile analiz etmişlerdir. Sonuç olarak koruyucuların izin verilen miktarlarda kullanımında 9 adet bakteri izolatının hayatta kalmasını engellediğini belirtmişlerdir (Wang vd., 2019). Buna benzerlik göstererek, çalışmamızda direnç gelişimine sebep olan koruyucuların cilde teması halinde, floradaki mikroorganizma çeşitliliğinde azalma gösterebileceği öngörülmektedir.

Hwang vd. (2021), bir cilt bakım ürününün yüze günlük uygulanması sonrasında bakteri topluluk yapısını ve cilt biyofiziksel parametrelerini belirlemeyi amaçlamıştır. Araştırmaya aynı cilt bakım ürününü kullanan 25 kadın katılmış ve bu ürünü 4 hafta boyunca kullanmışlardır. Sonuç olarak, bir cilt bakım ürününün kullanımının cilt ortamını iyileştirebileceğini ve mikrobiyom yapısını değiştirebileceğini açıklamışlardır. Maruziyet geçiren mikroorganizmaların, sağlıklı bir cilt mikrobiyal ekosisteminin biyo-göstergeleri olarak kullanılabileceğini belirtilmiştir. Ayrıca cilt mikrobiyomu ve biyofiziksel parametrelerdeki değişikliklerle ilişkili ana bileşen veya materyallerin belirlenmesi için ek çalışmalar yapılması gerektiğini bildirilmişlerdir. Bu çalışmanın aksine, bizim çalışmamızda elde edilen verilere göre, kullandığımız koruyucuların cilt ortamını ve mikrobiyom yapısını iyileştirebileceği düşünülmemekte fakat ileride araştırılmaya açık olduğu gözlemlenmektedir.

Nasrollahi vd. (2022), kozmetik ürünlerde kullanılan koruyuculardan metilparaben, propilparaben, bütilparaben, fenoksietanol, benzil alkol, izopropil alkol ve benzalkonyum klorürün, insan cilt florasından izole edilen bakteri ve mantarlar üzerindeki etkisini belirlemek için yaptıkları çalışma sonucunda, tüm koruyucuların izole edilmiş mantarların büyümesini engellediği ancak bakteriyel mikrofloranın büyümesini engellemediğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda *C. albicans*, bakterilere oranla koruyuculara daha çok

duyarlılık göstermiştir. Bu nedenle mikroflora üzerine yapılacak benzer bir çalışmada sonuçların yakınlık gösterebileceği düşünülmektedir.

G. mellonella larvalarında yapılacak enjeksiyonlar öncesinde, mikroorganizma inokulum miktarlarının optimum konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla yapılan letal doz çalışmasında *S. aureus* ve *S. epidermidis* için 10^6 CFU/mL, 10^7 CFU/mL ve 10^8 CFU/mL miktarları *G. mellonella* larvalarına enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrasında ilk 24. saate kadar herhangi bir ölüm gözlemlenmemiştir. 24 saat sonrasında 10^6 CFU/mL ve 10^7 CFU/mL miktarlarının enfeksiyon dozu için yetersiz olduğu ve 120. saatte bile hala yaşamını devam ettiren larvalar olduğu gözlemlenmiştir. 10^8 CFU/mL bakteri enjekte edilen larvalarda ise 24. saatte başlayarak 120. saate kadar devamlı ve düzenli bir şekilde ölüm gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar üzerine *S. aureus* ve *S. epidermidis* enjeksiyonlarında 10^8 CFU/mL miktarında inokulumlar kullanılmıştır. *P. aeruginosa* için 10^5 CFU/mL, 10^6 CFU/mL ve 10^7 CFU/mL miktarları *G. mellonella* larvalarına enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrasında ilk 24. Saat içerisinde 10^6 CFU/mL ve 10^7 CFU/mL enjekte edilen larvalarda hızlı ölümler gözlemlenmiştir. 10^5 CFU/mL enjeksiyonu sonrası ise 120. saate kadar devamlı ve düzenli bir şekilde gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar üzerine *P. aeruginosa* enjeksiyonlarında 10^5 CFU/mL miktarında inokulumlar kullanılmıştır. *C. albicans* için 10^5 CFU/mL, 10^6 CFU/mL ve 2×10^6 CFU/mL miktarları *G. mellonella* larvalarına enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrasında ilk 24. saate kadar herhangi bir ölüm gözlemlenmemiştir. Her inokulum miktarı devamlı ve düzenli şekilde ölümler göstermiştir fakat 24. saatten 120. saate kadar olan kontrollerde çalışmamıza uygun olan konsantrasyonun 10^6 CFU/mL olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen letal dozların larvalara aşılması sonrasında alınan canlı ve ölü skorları tüm mikroorganizmalar için, koruyucu maruziyeti geçirmemiş 0. gün maruziyet değerleri olarak kabul edilmiştir.

Menard vd. (2021), *S. aureus* sRNA'larının rollerini analiz etmek ve stafilokok virülansında olası sRNA katılımını hızlı bir şekilde belirlemek için larva *G. mellonella*'yı kullanmışlardır. *S. aureus*'un *G. mellonella* enfeksiyon modeli için uygun bir patojen olduğunu bildirerek olumlu sonuçlar aldıklarını belirtmişlerdir. Enjeksiyon sonrasında larva ölümlerinin 24 saat sonra başladığını ve giderek arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda yapılan Stafilokok analizlerinde de aynı durum görülerek, larva ölümleri 24 saat sonra başlamıştır ve giderek artmıştır. Bu bağlamda çalışmanın, bizim çalışmamız ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir.

Larvaların ölüm oranı mantar yüküne bağlı olduğu belirtilerek spesifik sonuç verildiğinde, 1×10^6 CFU/larva 2 gün içinde %100 ölümle sonuçlandığı, 5×10^5 CFU/larva aşılama 2 gün sonra %50 ve 4 gün içinde %100 ölümle sonuçlandığı belirtilmiştir (Li vd., 2013). Bizim tez çalışmamızdaki mantar çalışmasında 1×10^6 CFU/larva 5 günde %100 ölümle sonuçlarak farklılık göstermiştir. Bunun sebebinin analiz edilen larvaların beslenme süreci ve boyut farklılıkları olduğu düşünülmektedir.

Leuko ve Raivio (2012), yaptıkları bir çalışmada *G. mellonella* larvalarına *Escherichia coli* enjekte edilmiştir. Bu işlem 48 saat sonra, *G. mellonella* larvalarının öldükleri LD50 dozu $2,57 \times 10^3$ CFU olarak belirtilmiştir. *G. mellonella* organizmasında *Acinetobacter baumannii* klinik izolatları kullanılarak virülans faktörlerin incelendiği çalışmada, $3,5 \times 10^5$ CFU *A. baumannii* ATCC 17978 suşu larvalara enjekte edilmiş ve 48 saatin ardından ölüm oranının %75 olduğu belirtilmiştir (Peleg ve ark. 2009). Virülans faktörlerin araştırılmasında *G. mellonella* organizmasının bir enfeksiyon modeli olarak kullanıldığı çalışmada, *G. mellonella* larvalarının hemosel içine *Enterococcus faecalis* enjekte edilerek 5 dakika sonra melanizasyon gözlemlendiği ve 30 dakika sonra da öldükleri belirtilmiştir (Liu vd., 2017).

S. aureus ATCC 6538 standart suşunun ve 5, 15, 30 gün sürelerde koruyuculara maruz bırakılan formlarının *G. mellonella* larvalarına yapılan enjeksiyonlar sonrasında, larvaların 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki kontrollerinden elde edilen ölü sayıları karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı gözlemlenmiştir. Küçük farklar göz önünde bulundurulduğunda ise fenoksietanol, benzil alkol, potasyum sorbat, sodyum benzoat ve metil paraben maruziyetinde ölüm oranı diğerlerine oranla en fazla 5 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. En az ölüm oranı ise potasyum sorbat ve sodyum benzoata 30 günlük maruziyet sonrasında, fenoksietanol, benzil alkol ve metil paraben de ise maruziyet öncesi 0. gün de gözlemlenmiştir.

Larvalara mikroorganizma enjeksiyonunun ardından, ilk 24 saatlik inkübasyon sonrasındaki değerler ve 24-96 saat arasında gözlemlenen değerler İstatistiksel analize alınmıştır. Bunun sebebi, *G. mellonella*'nın enfeksiyon modeli olarak kullanıldığı çalışmalarda genellikle mikroorganizmaların ürettiği ilk 24 saat sonuçları kullanılmaktadır fakat bizim çalışmamızda sadece sağkalım oranları analiz edildiği için uzun süreli kontroller sonrasında da İstatistiksel analizler yapılmıştır.

Çalışmamızda *S. aureus* ATCC 6538'un, *G. mellonella* modeli üzerinde yapılan kontrollerinde 24. saat sonuçlarına göre bakterinin 5 günlük koruyucu maruziyetlerinde, benzil alkole maruziyetinin larva ölüm oranının %10, metil paraben maruziyetinin ise %20

arttığı gözlemlenmiştir. Fenoksietanol ve sodyum benzoat ile olan maruziyetinde larva ölüm oranının %10 azaldığı gözlemlenmiştir. Potasyum sorbata maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) ise 0,720 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,134 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

15 günlük koruyucu maruziyetlerinde sadece metil paraben maruziyetinde larva ölüm oranının %10 oranında arttığı, diğer hiçbir koruyucular ile maruziyette larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,995 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,259 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

30 günlük koruyucu maruziyetlerinde ise benzil alkol maruziyetinde larva ölüm oranının %10 oranında arttığı, fenoksietanol ile sodyum benzoat ile olan maruziyetinde larva ölüm oranının %10 azaldığı, potasyum sorbat maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,956 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,059 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuç ilk 24 saatin aksine, 24-96 saatler arasındaki verilerin anlamlı olduğunu göstermektedir.

S. aureus'un koruyucular ile maruziyeti sonrasındaki etkilerinin *G. mellonella* modeli üzerinde araştırıldığı bir çalışma olmadığı için bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

S. epidermidis ATCC 35984 standart suşunun ve 5, 15, 30 gün sürelerde koruyuculara maruz bırakılan formlarının *G. mellonella* larvalarına yapılan enjeksiyonlar sonrasında, larvaların 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerdeki kontrollerinden elde edilen ölü sayıları karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı gözlemlenmiştir. Küçük farklar göz önünde bulundurulduğunda ise fenoksietanol, potasyum sorbat ve metil paraben maruziyetinde ölüm oranı diğerlerine oranla en fazla 5 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. Sodyum benzoatta ise bu durum 30 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. Benzil alkol maruziyetinde ise tüm veriler benzerlik gösterdiği için bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Çalışmamızda *S. epidermidis* ATCC 35984'ün, *G. mellonella* modeli üzerinde yapılan kontrollerinde 24. saat sonuçlarına göre bakterinin 5 günlük koruyucu maruziyetlerinde, benzil alkole maruziyetinin larva ölüm oranının %10, fenoksietanol ve potasyum sorbat maruziyetinin ise %20 arttığı gözlemlenmiştir. Metil paraben ve sodyum benzoat ile olan maruziyetinde larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,907 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,018 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuç ilk 24 saatin aksine, 24-96 saatler arasındaki verilerin anlamlı olduğunu göstermektedir.

15 günlük koruyucu maruziyetlerinde potasyum sorbat hariç tüm maruziyetlerde larva ölüm oranının %10 oranında azaldığı, potasyum sorbat ile maruziyetinde ise ölüm oranının %20 arttığı gözlemlenmiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,744 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,968 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

30 günlük koruyucu maruziyetlerinde ise fenoksietanol ve metil paraben maruziyetinde larva ölüm oranının %10 azaldığı, potasyum sorbat ile maruziyetinde ise ölüm oranının %10 arttığı, benzil alkol ve sodyum benzoat ile olan maruziyetinde larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,950 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,128 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

S. epidermidis'in koruyucular ile maruziyeti sonrasındaki etkilerinin *G. mellonella* modeli üzerinde araştırıldığı bir çalışma olmadığı için bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

P. aeruginosa ATCC 15442 standart suşunun ve 5, 15, 30 gün sürelerde koruyuculara maruz bırakılan formlarının *G. mellonella* larvalarına yapılan enjeksiyonlar sonrasında, larvaların 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde kontrol edilmesi sonucunda elde edilen ölü sayıları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı gözlemlenmiştir. Küçük farklar göz önünde bulundurulduğunda ise potasyum sorbat ve

sodyum benzoat maruziyetinde ölüm oranı diğerlerine oranla en fazla 30 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. Diğer koruyucu maruziyetlerinde ise tüm veriler benzerlik göstermektedir.

P. aeruginosa ATCC 15442'nin, *G. mellonella* modeli üzerinde yapılan kontrollerinde 24. saat sonuçlarına göre bakterinin 5 günlük koruyucu maruziyetlerinde, fenoksietanol, benzil alkol ve metil paraben maruziyetinin larva ölüm oranının %20 oranında arttırdığı, sodyum benzoat maruziyetinin %10 azalttığı gözlemlenmiştir. Metil paraben maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,666 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,384 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

15 günlük koruyucu maruziyetlerinde benzil alkol ve potasyum sorbat maruziyetinde larva ölüm oranının %10 oranında arttığı, diğer koruyucular ile maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,994 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,540 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

30 günlük koruyucu maruziyetlerinde ise potasyum sorbat ve sodyum benzoat maruziyetinde larva ölüm oranının %10 arttığı, diğer koruyucular ile maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,991 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,684 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

P. aeruginosa'nın koruyucular ile maruziyeti sonrasındaki etkilerinin *G. mellonella* modeli üzerinde araştırıldığı bir çalışma olmadığı için bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

C. albicans ATCC 14053 standart suşunun ve 5, 15, 30 gün sürelerde koruyuculara maruz bırakılan formlarının *G. mellonella* larvalarına yapılan enjeksiyonlar sonrasında, larvaların 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde kontrol edilmesi sonucunda elde edilen ölü sayıları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı

gözlemlenmiştir. Küçük farklar göz önünde bulundurulduğunda ise potasyum sorbat ve sodyum benzoat maruziyetinde ölüm oranı diğerlerine oranla en fazla 30 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. Diğer koruyucu maruziyetlerinde ise tüm veriler benzerlik göstermektedir.

C. albicans ATCC 14053'ün *G. mellonella* modeli üzerinde yapılan kontrollerinde 24. saat sonuçlarına göre mayanın 5 günlük koruyucu maruziyetlerinde, sodyum benzoat maruziyetinin larva ölüm oranının %10 oranında arttırdığı, potasyum sorbat ile maruziyetinde %10 oranında azalttığı gözlemlenmiştir. diğer koruyucular ile maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,999 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,868 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

15 günlük koruyucu maruziyetlerinde fenoksietanol, benzil alkol ve sodyum benzoat maruziyetinde larva ölüm oranının %10 oranında arttığı, diğer koruyucular ile maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 1 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,746 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

30 günlük koruyucu maruziyetlerinde ise sodyum benzoat maruziyetinde larva ölüm oranının %20, fenoksietanol, benzil alkol metil parabende %10 arttığı, potasyum sorbat ile maruziyetinde ise larva ölüm oranında herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Anlamlılık değeri (p) 0,997 olan sonuçlar 0,05 değerine uzak olduğu için anlamlı kabul edilmemiştir. 96. saate kadar olan kontrollerde yapılan İstatistiksel verilere göre ise p değerinin 0,285 olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun da anlamlılık seviyelerinde olmadığını fakat 24-96 saatler arasındaki verilerin ilk 24 saate göre daha anlamlı olduğunu göstermektedir.

C. albicans'ın koruyucular ile maruziyeti sonrasındaki etkilerinin *G. mellonella* modeli üzerinde araştırıldığı bir çalışma olmadığı için bu sonuçların ilgili literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Farelerde ve böceklerde *P. aeruginosa* mutantlarının virülansı arasındaki pozitif korelasyonu *G. mellonella* üzerinde analiz edilmiş ve sonuçlar birbirlerini desteklediği için *G. mellonella* enfeksiyon modelinin *P. aeruginosa* virülans faktörlerini tanımlamak için iyi bir model sistem olduğu belirtilmiştir (Jander vd., 2000). *G. mellonella* larvalarının *P. aeruginosa* için İn vivo enfeksiyon modeli olarak ve antibiyotiklerin farmakokinetik etkinliğini değerlendirmek için kullanılıp kullanılamayacağını belirlemek üzere yapılan çalışmada alınan sonuçlara göre olumlu sonuçlara rastlanmış ve gelecek çalışmalarda güçlü bir şekilde tavsiye edildiği belirtilmiştir (Hill vd., 2014). *P. aeruginosa*, çalışmadaki diğer mikroorganizmalara göre yüksek etkiye sahip olsa da, düşük inokulum miktarıyla durum dengelenmiştir. Çalışma sonuçlarımız literatür ile paralel olarak *P. aeruginosa* için *G. mellonella* larvaları, İn vivo enfeksiyon modeli oluşturmaya uygun görülmektedir.

Alvandian vd. (2016) *Candida albicans*'ın (SAP) enzim aktivitesinin, *G. mellonella* üzerindeki etkilerini araştırdığı çalışmada SAP (-) ve SAP (+) larvalara 5×10^5 CFU/mL enjekte edilerek 96. saate kadar kontrol edilmiştir. Elde edilen verilere göre İstatistiksel analiz yapılarak sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir. Bu modelin ucuzluğu ve uygulanmasının kolay olması tercih sebebi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca *G. mellonella*'nın memeli çalışmalarında alternatif olarak kullanılması etik kaygıları da azaltabileceği bildirilmiştir. 5×10^5 CFU/mL enjeksiyonu sonrası 96. Saate kadar kontrol yapılabilmesi, bizim çalışmamızda kullanılan ve bu çalışmadaki miktara yakınlık gösteren 10^6 CFU/mL'yi doğrulamaktadır.

Candida türlerinin ilaca dirençli izolatlarının ortaya çıkması, klinik enfeksiyonlarda yüksek risk oluşturmaktadır. Bu suşların klinik ortamda yaratabileceği etki giderek ciddileşen bir sorun haline gelmektedir. Bu etki hastalarda kötü klinik sonuçlarının artmasına, antifungal tedavi ve profilaksi sırasında ortaya çıkan enfeksiyonlara ve artan sağlık hizmetleri maliyetlerine sebep olmaktadır (Pristov ve Ghannoum, 2019).

Bakteri ve mantarlardan bazılarının virülans özelliklerinin araştırıldığı bir İn vivo çalışmada *G. mellonella* larvaları kullanılarak enfeksiyon modeli oluşturulmuştur. Larvalara yapılan enjeksiyon sonrasında bakterilerin ölüm oranı %100 iken, mantarlarda %33 olarak bildirilmiş ve mantarların virülansının bakterilerden daha düşük olduğu belirtilmiştir (Kalkancı vd., 2015). Çalışmamızda mantar enjeksiyonu sonrası ölüm oranı ile bakteri enjeksiyonu sonrası ölüm oranları farklılık göstermektedir. Bu çalışmaya paralel olarak bakteriler, *C. albicans*'a göre *G. mellonella* larvalarında daha fazla etki göstermiştir.

İn vitro ve İn vivo çalışmaların tümünde kullanılan kontrol deney gruplarında herhangi olumsuz bir durum gözlemlenmemiştir. Bu durumun, mikroorganizma antibiyotik direnç gelişimleri ve *G. mellonella* üzerindeki etkilerinin ortam şartlarından değil, deney şartlarından kaynaklandığını göstererek çalışma prosedürlerini doğrulamaktadır.

İki ana başlık altında planlanan çalışmamızda koruyucuların, cilt floramızda bulunabilen mikroorganizmaların antibiyotik direnç gelişimleri üzerindeki anlamlı etkilerine rastlanmıştır. Direnç gelişimine olan bu etki, *G. mellonella* canlı organizması üzerinde analiz edildiğinde, mikroorganizmaların etkili olduğu gözlemlenmiş fakat bu etkinin, istatistiksel olarak değerlendirilmesinin ardından anlamlı düzeyde olmadığı gözlemlenmiştir.

Kozmetik ve dermokozmetik ürünlerde kullanılan koruyucuların kombine kullanımlarına da sıklıkla rastlanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan koruyucuların kombine şekilde mikroorganizmalar üzerinde analizleri yapıldığında, mikroorganizma antibiyotik direnç gelişimlerinde ve *G. mellonella* model organizması üzerindeki etkilerinde daha yüksek ve anlamlı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada fenoksietanol, benzil alkol, potasyum sorbat, sodyum benzoat ve metil parabenin, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* üzerindeki antibiyotik direnç gelişimleri in vitro ortamda araştırılmış daha sonra in vivo ortamda *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkileri incelenmiştir.

in vitro çalışma sonuçlarına göre, mikroorganizmaların koruyuculara maruziyet süresi arttıkça direnç gelişimlerinde artış olduğu belirlenmiştir. Koruyucular ile maruziyet geçiren *S. aureus* vankomisine karşı duyarlılık eğilimi gösterirken, *S. epidermidis* 4 kat direnç kazanmıştır. Duyarlılığının yüksek oranla etkeni fenoksietanol, direnç gelişiminin ise metil paraben olduğu belirlenmiştir. Koruyucular ile maruziyet geçiren *P. aeruginosa*'nın sefepime ve *C. albicans*'ın flukanozole 4 kat direnç geliştirdiği görülerek, bu direnç gelişimlerine sebep olan koruyucunun sodyum benzoat olduğu belirlenmiştir.

in vivo çalışma sonuçlarında ise *G. mellonella* larvalarına karşı en güçlü enfeksiyon etkisini *P. aeruginosa* göstermiştir. Antibiyotik direnci geliştiren mikroorganizmaların *G. mellonella* enjeksiyonunun ardından larvalarda bazı değişimler gözlemlense de istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. Bu değişimlerin detaylı incelenmesi sonrasında *S. aureus*'un çalışmadaki tüm koruyucu maruziyetlerinde larva ölüm oranı en fazla 5 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. *S. epidermidis*'in fenoksietanol, potasyum sorbat ve metil paraben maruziyetlerinde larva ölüm oranı en fazla 5 günlük maruziyette, sodyum benzoatta ise bu durum 30 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. Benzil alkol maruziyetinde başlangıç verilerine göre farklılık gözlemlenmemiştir. *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'ın potasyum sorbat ve sodyum benzoat maruziyetinde larva ölüm oranı en fazla 30 günlük maruziyette gözlemlenmiştir. Diğer koruyucu maruziyetlerinde ise başlangıç verilerine göre farklılık gözlemlenmemiştir. Tüm enjeksiyonlar sonrasında yapılan larva kontrollerinde 24-96 saatleri arasında alınan istatistiksel verilerin, 24. saatlerde alınan verilere göre daha anlamlı olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak; bu tez çalışmasında kullanılan kozmetik ve dermokozmetik koruyucularının insan cilt florası için risk oluşturabileceği gözlemlenmiştir. Koruyucuların insan cildi üzerindeki olası etkilerinin daha fazla araştırılması gerektiğini ve bu ürünlerin tüketiciye ulaştırılmadan daha detaylı testlerden geçirilmesinin anlamlı olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda elde edilen bilimsel verilerin, bu konular için ileride planlanabilecek diğer çalışmalara katkı sağlayabileceği görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdelmalek, S. M., ve Badran, Y. R. (2010). *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 adapted to 2-phenoxyethanol shows cross-resistance to dissimilar biocides and increased susceptibility to antibiotics. *Folia microbiologica*, 55(6), 588–592. <https://doi.org/10.1007/s12223-010-0094-6>
- Adamson, D. H., Krikstopaityte, V., ve Coote, P. J. (2015). Enhanced efficacy of putative efflux pump inhibitor/antibiotic combination treatments versus MDR strains of *Pseudomonas aeruginosa* in a *Galleria mellonella* *In vivo* infection model. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 70(8), 2271–2278. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv111>
- Aghapour, Z., Gholizadeh, P., Ganbarov, K., Bialvaei, A. Z., Mahmood, S. S., Tanomand, A., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., Yousefi, B., ve Kafil, H. S. (2019). Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. *Infection and drug resistance*, 12, 965–975. <https://doi.org/10.2147/IDR.S199844>
- Alvandian, A., Jawadi, M. H., Altıntaş, Z. N., Yıldız, N. ve Karaman, M. (2016). *Candida albicans*'ın salgısal asit proteinaz etkinliğinin araştırılmasında *In vivo* model olarak *Galleria mellonella* larvanın kullanılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 46(2), 69-75. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2016.069>
- Arabacı, H. ve Alisawi, E. J. M. (2021). Fenoksietanol'ün deri üzerindeki olası etkileri ve fenoksietanol kimyasalının kozmetikte koruyucu madde olarak kullanımı. *International Marmara Sciences Congress*. https://www.imascon.com/kayit/kayittr/dosyalar/imascon_2021_spring/imascon_2021_spring_fen_ozet_bildiriler.pdf
- Aras, A., ve Eryılmaz, M. (2022). Kozmetik Ürünlerde Görülen Mikrobiyolojik Kontaminasyonlar. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 46(1), 262-276. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1027507>
- Arıkan, Ö. (2007). Kozmetik ve kozmesötik eğitimi. *Eczacılık Akademisi*. https://e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/tebhaberler/temmuz_agustos07/7.pdf
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Nisar, M. A., Alvi, R. F., Aslam, M. A., Qamar, M. U., Salamat, M. K. F., ve Baloch, Z. (2018). Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and drug resistance*, 11, 1645–1658. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
- Ataman Chemicals. (t.y.). Benzil alkol. <https://atamankimya.com/sayfalar.asp?LanguageID=1&cid=3&id=8&id2=323>
- Baird, R. M. (2004). Microbial spoilage, infection risk and contamination control. B. F. Gilmore ve S. P. Denyer (Ed.), *Hugo and Russell's pharmaceutical microbiology* içinde (s. 263-283). Wiley Blackwell.
- Baird-Parker, A. C. (1963). A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests. *Journal of general microbiology*, 30, 409–427. <https://doi.org/10.1099/00221287-30-3-409>

- Bashir, A. ve Lambert, P. (2020). Microbiological study of used cosmetic products: highlighting possible impact on consumer health. *Journal Of Applied Microbiology*, 128(2), 598–605. <https://doi.org/10.1111/jam.14479>
- Beceiro, A., Tomás, M., ve Bou, G. (2013). Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world?. *Clinical microbiology reviews*, 26(2), 185–230. <https://doi.org/10.1128/CMR.00059-12>
- Bellad, K. A., Nanjwade, B. K., Kamble, M. S., Srichana, T. ve Idris, N. F. (2017). Development of cosmeceuticals. *World. J. Pharm. Pharm. Sci*, 6(4), 643-91.
- Beveridge, E. G. (1998). Microbial spoilage and preservation of pharmaceuticals products. Hugo, W. B. ve Russell, A. D. (Ed.), *Pharmaceutical microbiology* (6. Baskı, s. 355-373). Oxford: Blackwell Science.
- Birteksöz Tan, A.S., ve Tüysüz, M. (2013). Kozmetik Ürünlerde Koruyucu Madde Kullanımı ve Koruyucu Etkinlik Testleri, *ANKEM Dergisi*, 27(2), 83-91. <https://doi.org/10.5222/ankem.2013.083>
- Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Fiandaca, M. J., Pedersen, J., Hansen, C. R., Andersen, C. B., Pressler, T., Givskov, M., ve Høiby, N. (2009). Pseudomonas aeruginosa biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatric pulmonology*, 44(6), 547–558. <https://doi.org/10.1002/ppul.21011>
- Block, S. S. (Ed.). (2001). *Disinfection, sterilization, and preservation*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Bouslimani, A., da Silva, R., Kosciolk, T., Janssen, S., Callewaert, C., Amir, A., Dorrestein, K., Melnik, A. V., Zaramela, L. S., Kim, J. N., Humphrey, G., Schwartz, T., Sanders, K., Brennan, C., Luzzatto-Knaan, T., Ackermann, G., McDonald, D., Zengler, K., Knight, R., ve Dorrestein, P. C. (2019). The impact of skin care products on skin chemistry and microbiome dynamics. *BMC biology*, 17(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12915-019-0660-6>
- Campana, R., Scesa, C., Patrone, V., Vittoria, E., ve Baffone, W. (2006). Microbiological study of cosmetic products during their use by consumers: health risk and efficacy of preservative systems. *Letters in applied microbiology*, 43(3), 301–306. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01952.x>
- Castillo, D. E., Nanda, S., ve Keri, J. E. (2019). Propionibacterium (Cutibacterium) acnes Bacteriophage Therapy in Acne: Current Evidence and Future Perspectives. *Dermatology and therapy*, 9(1), 19–31. <https://doi.org/10.1007/s13555-018-0275-9>
- Chabi, R., ve Momtaz, H. (2019). Virulence factors and antibiotic resistance properties of the Staphylococcus epidermidis strains isolated from hospital infections in Ahvaz, Iran. *Tropical medicine and health*, 47, 56. <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0180-7>
- Chalup, A., Ayup, M. M., Monmany Garzia, A. C., Malizia, A., Martin, E. ve Cristóbal, R. (2018). First report of the lesser wax moth Achoria grisella F. (Lepidoptera: Pyralidae) Consuming polyethylene (Silo-bag) in northwestern Argentina. *Journal of Apicultural Research*, 57(4), 569-571. <https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1484614>

Cheebi. (t.y.). <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=CHEBI:31835>

Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., ve Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>

Chichester, D. F. ve Tanner, F. W. (1972). Antimicrobial food additives. T. E. Furia (Ed.), *Handbook of food additives* (4. Baskı, s. 138-159). CRC Press.

Choi, C. M., ve Berson, D. S. (2006). Cosmeceuticals. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*, 25(3), 163–168. <https://doi.org/10.1016/j.sder.2006.06.010>.

Christensen, G. J., ve Brüggemann, H. (2014). Bacterial skin commensals and their role as host guardians. *Beneficial microbes*, 5(2), 201–215. <https://doi.org/10.3920/BM2012.0062>

Chuong, C. M., Nickoloff, B. J., Elias, P. M., Goldsmith, L. A., Macher, E., Maderson, P. A., Sundberg, J. P., Tagami, H., Plonka, P. M., Thestrup-Pederson, K., Bernard, B. A., Schröder, J. M., Dotto, P., Chang, C. M., Williams, M. L., Feingold, K. R., King, L. E., Kligman, A. M., Rees, J. L., ve Christophers, E. (2002). What is the 'true' function of skin?. *Experimental dermatology*, 11(2), 159–187. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2002.00112.x>

Curry, J. C., Brannan, D. K. ve Geis, P. A. (2006). History of cosmetic microbiology. Geis, P. A. (Ed.), *Cosmetic microbiology a practical approach* (2. Baskı, s. 3-17). Taylor&Francis Group.

Çarıkçı Yavaşal, A. İ., Uçar, F. ve Yalçın, H. T. (2008). Kozmetik ürünlerde bakteriyel ve fungal kompozisyonun klasik yöntemler ve PCR yöntemi kullanılarak saptanması. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 6(1), 1-16.

Çevikbaş, A., Gürer Soyoğul, Ü. ve Uğurlu, T. (2015). Kozmetik ürünlerin mikrobiyal kontaminasyonu. Abbasoğlu, U. ve Çevikbaş, A. (Ed.), *Farmasötik mikrobiyoloji* (2. Baskı, s. 411-418). Efil Yayınevi.

Çevikbaş, A., Uğurlu, T., Derici, K. ve Rayaman, E. (2015). Koruyucular (Prezervatifler). Abbasoğlu, U. ve Çevikbaş, A. (Ed.), *Farmasötik mikrobiyoloji* (2. Baskı, s. 145-156). Efil Yayınevi.

Çomoğlu, T. (2014). Kozmetikler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16(1), 1-8. <https://doi.org/10.12991/mpj.85576>

Da Costa, A., Lelièvre, H., Kirkorian, G., Célar, M., Chevalier, P., Vandenesch, F., Etienne, J., ve Touboul, P. (1998). Role of the preaxillary flora in pacemaker infections: a prospective study. *Circulation*, 97(18), 1791–1795. <https://doi.org/10.1161/01.cir.97.18.1791>

Darbre, P. D. (2006). Environmental oestrogens, cosmetics and breast cancer. Best practice & research. *Clinical endocrinology & metabolism*, 20(1), 121–143. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2005.09.007>

Darbre, P. D., Aljarrah, A., Miller, W. R., Coldham, N. G., Sauer, M. J., ve Pope, G. S. (2004). Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal of applied toxicology : JAT*, 24(1), 5–13. <https://doi.org/10.1002/jat.958>

- Davidson, P. M., Sofos, N. J. ve Branen, A. L. (Ed.). (2005). *Antimicrobials in foods* (3. Baskı). CRC Press Taylor&Francis Group.
- De Abreu, P. M., Farias, P. G., Paiva, G. S., Almeida, A. M., ve Morais, P. V. (2014). Persistence of microbial communities including *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital environment: a potential health hazard. *BMC microbiology*, 14, 118. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-118>
- Değim, Z. (t.y.). *Çözeltiler*. https://e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/tebakademi/modern_farmasotk/14.pdf
- Demir, E., Başıyigit Kılıç, G. ve Uşan, E. (2018). Farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterileri'nin antibiyotik direnç profilleri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(2), 197-204. <https://doi.org/10.29048/makufed.387035>
- Denyer, S. P. (2007). Antimicrobial preservatives and their properties. Denyer, S. P. ve Baird, R. M. (Ed.), *The guide to microbiological control in pharmaceuticals and medical devices* (2. Baskı, s. 324-344). Taylor & Francis Group.
- Denyer, S. P. ve Baird, R. M. (Ed.). (2006). *Guide to microbiological control in pharmaceuticals and medical devices*. CRC Press.
- Denyer, S. ve Russell, A. D. (2004). Non-antibiotic antibacterial agents: mode of action and resistance. S. P. Denyer, N. A. Hodges ve S. P. Gorman (Ed.), *Hugo's and Russell's pharmaceutical microbiology* (7. Baskı, s. 306-322). Blackwell Publishing Company.
- Denyer, S., Hodges, N. ve Gorman, S. (2004). Introduction to pharmaceutical microbiology. Denyer, S. P., Hodges, N. A. ve Gorman, S. P. (Ed.), *Hugo's and Russell's pharmaceutical microbiology* (7. Baskı s. 3-8). Blackwell Publishing Company.
- Dermokozmetik. (2023). *Vikipedi*. <https://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Dermokozmetik&oldid=29783952>
- Deurenberg, R. H., Vink, C., Kalenic, S., Friedrich, A. W., Bruggeman, C. A., ve Stobberingh, E. E. (2007). The molecular evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13(3), 222-235. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01573.x>
- Dinges, M. M., Orwin, P. M., ve Schlievert, P. M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 16-34. <https://doi.org/10.1128/CMR.13.1.16>
- Doğan, S. (2016). *Xenoöstrojenlerin (Parabenlerin) Endometriyum kanserindeki rolü* [Uzmanlık Tezi]. Akdeniz Üniversitesi.
- Doorne, V. H. (2007). Preservative stability and efficacy: Formulation influences. S. P. Denyer ve R. M. Baird (Ed.), *The guide to microbiological control in pharmaceuticals and medical devices* (2. Baskı, s. 349-336). Taylor & Francis Group.
- Dortunç, B. (2015). Farmasötik Preparatlarda Koruyucu Maddelerin Kullanımı. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 4(1), 23-33. <https://doi.org/10.12991/mpj.57468>

- Draelos, Z. D. (2011). The art and science of new advances in cosmeceuticals. *Clinics in plastic surgery*, 38(3), 397-407. <https://doi.org/10.1016/j.cps.2011.02.002>
- Dreno, B., Araviiskaia, E., Berardesca, E., Bieber, T., Hawk, J., Sanchez-Viera, M., ve Wolkenstein, P. (2014). The science of dermocosmetics and its role in dermatology. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 28(11), 1409–1417. <https://doi.org/10.1111/jdv.12497>
- Dreno, B., Zuberbier, T., Gelmetti, C., Gontijo, G., ve Marinovich, M. (2019). Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 33 Suppl 7, 15–24. <https://doi.org/10.1111/jdv.15944>
- Duman, S. (1998). *Kozmetik Emülsiyonlarda Prezervatif Etkinliği* [Yüksek Lisans Tezi]. Ege Üniversitesi
- Durieux, M. F., Melloul, É., Jemel, S., Roisin, L., Dardé, M. L., Guillot, J., Dannaoui, É., ve Botterel, F. (2021). *Galleria mellonella* as a screening tool to study virulence factors of *Aspergillus fumigatus*. *Virulence*, 12(1), 818–834. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1893945>
- EUCAST (2022), eucast: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics (2022). https://www.eucast.org/clinical_breakpoints. Accessed December 15, 2022.
- EUCAST (2019), eucast: Clinical breakpoints for fungi (*Candida* and *Aspergillus* species) (2019). <https://www.eucast.org/astoffungi/clinicalbreakpointsforantifungals>
- English, J. D. (2006). Factors in selecting and testing preservatives in product formulations. D. S. Orth, J. J. Kabara, S. P. Denyer ve S. K. Tan (Ed.), *Cosmetic and drug microbiology*, (1. Baskı, s. 57-101). Taylor & Francis Group.
- Esposito, S., Blasi, F., Curtis, N., Kaplan, S., Lazzarotto, T., Meschiari, M., Mussini, C., Peghin, M., Rodrigo, C., Vena, A., Principi, N., ve Bassetti, M. (2023). New Antibiotics for *Staphylococcus aureus* Infection: An Update from the World Association of Infectious Diseases and Immunological Disorders (Waidid) and the Italian Society of Anti-Infective Therapy (SITA). *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(4), 742. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040742>
- European Commission. (2016a). The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation 9th revision. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_190.pdf
- European Commission. (2016b). Scientific Committee on Consumer Safety SCCS opinion on phenoxyethanol. https://health.ec.europa.eu/system/files/2021-08/sccs_o_195_0.pdf
- Evans, C. A., Smith, W. M., Johnston, E. A., ve Giblett, E. R. (1950). Bacterial flora of the normal human skin. *The Journal of investigative dermatology*, 15(4), 305–324. <https://doi.org/10.1038/jid.1950.105>
- Eyre, D. W., Sheppard, A. E., Madder, H., Moir, I., Moroney, R., Quan, T. P., Griffiths, D., George, S., Butcher, L., Morgan, M., Newnham, R., Sunderland, M., Clarke, T., Foster, D., Hoffman, P., Borman, A. M., Johnson, E. M., Moore, G., Brown, C. S., Walker, A. S., Peto, T. E. A.,

- Crook, D. W., ve Jeffery, K. J. M. (2018). A *Candida auris* Outbreak and Its Control in an Intensive Care Setting. *The New England journal of medicine*, 379(14), 1322–1331. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1714373>
- Farrington, J. K., Martz, E. L., Wells, S. J., Ennis, C. C., Holder, J., Levchuk, J. W., Avis, K. E., Hoffman, P. S., Hitchins, A. D., ve Madden, J. M. (1994). Ability of laboratory methods to predict in-use efficacy of antimicrobial preservatives in an experimental cosmetic. *Applied and environmental microbiology*, 60(12), 4553–4558. <https://doi.org/10.1128/aem.60.12.4553-4558.1994>
- Foster, T. J. (2020). Surface Proteins of *Staphylococcus epidermidis*. *Frontiers in microbiology*, 11, 1829. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01829>
- Furia, T. E. (1972). *Handbook of Food Additives* (2. Baskı). Cleveland, Ohio.
- Frieri, M., Kumar, K., ve Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, 10(4), 369-378. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>
- Geisinger, E., ve Isberg, R. R. (2017). Interplay Between Antibiotic Resistance and Virulence During Disease Promoted by Multidrug-Resistant Bacteria. *The Journal of infectious diseases*, 215(suppl_1), S9–S17. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw402>
- Gill, S. R., Fouts, D. E., Archer, G. L., Mongodin, E. F., Deboy, R. T., Ravel, J., Paulsen, I. T., Kolonay, J. F., Brinkac, L., Beanan, M., Dodson, R. J., Daugherty, S. C., Madupu, R., Angiuoli, S. V., Durkin, A. S., Haft, D. H., Vamathevan, J., Khouri, H., Utterback, T., Lee, C., Dimitrov, G., Jiang, L., Qin, H., Weidman, J., Tran, K., Kang, K., Hance, I. R., Nelson, K. E., ve Fraser, C. M. (2005). Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *Journal of bacteriology*, 187(7), 2426–2438. <https://doi.org/10.1128/JB.187.7.2426-2438.2005>
- Gorman, S., ve Scott, E. (2004). Chemical disinfectants, antiseptics and preservatives. *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*, 285-305.
- Greenwood, R. K. ve Harman, R. J. (2007). Preservatives, antimicrobial agents, and antioxidants: Registration and regulatory affairs. S. P. Denyer ve R. M. Baird, (Ed.), *Guide to microbiological control in pharmaceuticals and medical devices* (2. Baskı, s. 413-436). Taylor & Francis Group.
- Grice, E. A., ve Segre, J. A. (2011). The skin microbiome. *Nature reviews. Microbiology*, 9(4), 244-253. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2537>
- Gurpınar, S. S., Kart, D., ve Eryılmaz, M. (2022). The effects of antidepressants fluoxetine, sertraline, and amitriptyline on the development of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Archives of microbiology*, 204(4), 230. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02853-6>
- Hadaway, L. C. (2003). Skin flora and infection. *Journal of infusion nursing : the official publication of the Infusion Nurses Society*, 26(1), 44–48. <https://doi.org/10.1097/00129804-200301000-00006>

- Hakimoğlu, M. F., ve Tan, M. (2020). Koruyucu Yardımcı Maddeler Olarak Kullanılan Parabenin Yeni Türevlerinin Sentezi Ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(1), 406-417. <https://doi.org/10.21597/jist.600910>
- Halla, N., Fernandes, I. P., Heleno, S. A., Costa, P., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Rodrigues, A. E., Ferreira, I. C. F. R., ve Barreiro, M. F. (2018). Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(7), 1571. <https://doi.org/10.3390/molecules23071571>
- Hartmann, A. A. (1990). The influence of various factors on the human resident skin flora. *Seminars in dermatology*, 9(4), 305–308.
- Hendrickson, J. A., Hu, C., ve Aitken, S. L. (2019). Antifungal Resistance: a Concerning Trend for the Present and Future. *Curr Infect Dis Rep* 21, 47. <https://doi.org/10.1007/s11908-019-0702-9>
- Herman, A. (2019). Antimicrobial Ingredients as Preservative Booster and Components of Self-Preserving Cosmetic Products. *Current microbiology*, 76(6), 744–754. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1492-2>
- Hız, P., Erdem, M., Büyükgüzel, E., ve Büyükgüzel, K. (2016). The effect of gemifloxacin on some biological traits of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) adults. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(5), 777-784.
- Hill, L., Veli, N., ve Coote, P. J. (2014). Evaluation of *Galleria mellonella* larvae for measuring the efficacy and pharmacokinetics of antibiotic therapies against *Pseudomonas aeruginosa* infection. *International journal of antimicrobial agents*, 43(3), 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.11.001>
- Holland, K. T., ve Bojar, R. A. (2002). Cosmetics: what is their influence on the skin microflora?. *American journal of clinical dermatology*, 3(7), 445–449. <https://doi.org/10.2165/00128071-200203070-00001>
- Hugo, W. B. ve Russell, A. D. (1998). Pharmaceutical microbiology. A. D. Russell (Ed.), *Formerly reader in pharmaceutical microbiology* (s. 256-262). Blackwell Scientific
- Hwang, B. K., Lee, S., Myoung, J., Hwang, S. J., Lim, J. M., Jeong, E. T., Park, S. G., ve Youn, S. H. (2021). Effect of the skincare product on facial skin microbial structure and biophysical parameters: A pilot study. *MicrobiologyOpen*, 10(5), e1236. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1236>
- Isada, C., Kasten, B., Goldman, M., Gray, L. ve Aberg, J. (2001). *Infectious disease handbook* (4. Baskı). Lexi-Comp, Inc.
- Jander, G., Rahme, L. G., ve Ausubel, F. M. (2000). Positive correlation between virulence of *Pseudomonas aeruginosa* mutants in mice and insects. *Journal of bacteriology*, 182(13), 3843–3845. <https://doi.org/10.1128/JB.182.13.3843-3845.2000>
- Jin, M., Lu, J., Chen, Z., Nguyen, S. H., Mao, L., Li, J., Yuan, Z., ve Guo, J. (2018). Antidepressant fluoxetine induces multiple antibiotics resistance in *Escherichia coli* via ROS-mediated mutagenesis. *Environment international*, 120, 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.07.046>

- Johnson, W., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks, J. G., Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., ve Andersen, F. A. (2017). Safety Assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid and its Salts, and Benzyl Benzoate. *International journal of toxicology*, 36(3_suppl), 5S–30S. <https://doi.org/10.1177/1091581817728996>
- Junqueira, J. C. (2012). *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens: recent studies and new perspectives. *Virulence*, 3(6), 474–476. <https://doi.org/10.4161/viru.22493>
- Junquera, L. C. ve Carneiro, J. (2009). *Temel histoloji text & Atlas* (Y. Aytekin ve S. Solakoğlu, Çev.). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kabukçu, B. (1997). *Türkiye’de üretilen ve kullanılan şampuanların mikrobiyolojik kalite kontrolleri üzerinde araştırmalar* [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara Üniversitesi.
- Kalkancı, A., Fouad, A. A., Erdoğan, M., Altay, A., Aliyeva, Z., Bozdayı, G., ve Çağlar, K. (2015). Bazı bakteri ve mantarların virülansının araştırılmasında *Galleria mellonella*’nın İn vivo model olarak kullanılması [Using *Galleria mellonella* as an İn vivo model to study the virulence of some bacterial and fungal agents]. *Mikrobiyoloji bulteni*, 49(3), 366–376. <https://doi.org/10.5578/mb.9701>
- Karaman, M. (2016). The rising star of in-vivo infection models: *Galleria mellonella* Larvae. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 46(1), 1–7. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2016.001>
- Kashem, S. W., ve Kaplan, D. H. (2016). Skin Immunity to *Candida albicans*. *Trends in immunology*, 37(7), 440–450. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.04.007>
- Kaur, J., ve Nobile, C. J. (2023). Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. *Current opinion in microbiology*, 71, 102237. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102237>
- Kessler, S. Q. S., Lang, P. M., Dal-Pizzol, T. S., ve Montagner, F. (2022). Resistance profiles to antifungal agents in *Candida albicans* isolated from human oral cavities: systematic review and meta-analysis. *Clinical oral investigations*, 26(11), 6479–6489. <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04716-2>
- Kışlalıoğlu, S. (2010). Bölüm 1. Y. Yazan (Ed.), *Kozmetik bilimi içinde* (s. 13-77). Nobel Yayınları.
- Kim, H. K., Missiakas, D., ve Schneewind, O. (2014). Mouse models for infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of immunological methods*, 410, 88–99. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2014.04.007>
- Kozmetik Yönetmeliği (2005). *T.C. Resmi Gazete* (23 Mayıs 2005, Sayı: 25823).
- Lamont, I. L., Beare, P. A., Ochsner, U., Vasil, A. I., ve Vasil, M. L. (2002). Siderophore-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(10), 7072–7077. <https://doi.org/10.1073/pnas.092016999>
- Landers, T. F., Cohen, B., Wittum, T. E., ve Larson, E. L. (2012). A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. *Public health reports (Washington, D.C. : 1974)*, 127(1), 4–22. <https://doi.org/10.1177/003335491212700103>

- Larson, E. L., Cronquist, A. B., Whittier, S., Lai, L., Lyle, C. T., ve Della Latta, P. (2000). Differences in skin flora between inpatients and chronically ill outpatients. *Heart & lung : the journal of critical care*, 29(4), 298–305. <https://doi.org/10.1067/mhl.2000.108324>
- Larson, E. L., Hughes, C. A., Pyrek, J. D., Sparks, S. M., Cagatay, E. U., ve Bartkus, J. M. (1998). Changes in bacterial flora associated with skin damage on hands of health care personnel. *American journal of infection control*, 26(5), 513–521. [https://doi.org/10.1016/s0196-6553\(98\)70025-2](https://doi.org/10.1016/s0196-6553(98)70025-2)
- Lee, Y., Puumala, E., Robbins, N., ve Cowen, L. E. (2021). Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and Beyond. *Chemical reviews*, 121(6), 3390–3411. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00199>
- Leitao, J. H. (2020). Microbial Virulence Factors. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5320. <https://doi.org/10.3390/ijms21155320>
- Leschke, M. A. (2006). Multifunctional ingredient for leave on cosmetics. *Cosmetic Science and Technology*, 2006, 1-11.
- Leuko, S., ve Raivio, T. L. (2012). Mutations that impact the enteropathogenic *Escherichia coli* Cpx envelope stress response attenuate virulence in *Galleria mellonella*. *Infection and immunity*, 80(9), 3077–3085. <https://doi.org/10.1128/IAI.00081-12>
- Li, D. D., Deng, L., Hu, G. H., Zhao, L. X., Hu, D. D., Jiang, Y. Y., ve Wang, Y. (2013). Using *Galleria mellonella*-*Candida albicans* infection model to evaluate antifungal agents. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 36(9), 1482–1487. <https://doi.org/10.1248/bpb.b13-00270>
- Liu, W., Tian, X. Q., Wei, J. W., Ding, L. L., Qian, W., Liu, Z., ve Wang, F. F. (2017). BsmR degrades c-di-GMP to modulate biofilm formation of nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Scientific reports*, 7(1), 4665. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04763-w>
- Lundov, M. D., Johansen, J. D., Zachariae, C., ve Moesby, L. (2011). Low-level efficacy of cosmetic preservatives. *International journal of cosmetic science*, 33(2), 190–196. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2010.00619.x>
- MacGowan, A. ve Macnaughton, E. (2017). Antibiotic resistance. *Medicine*, 45(10), 622–628. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2017.07.006>
- Maki, T. ve Suziki, Y. (1985). Benzoic acid and derivatives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (3. Baskı, s. 555-568).
- Matuschek, E., Brown, D. F., ve Kahlmeter, G. (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 20(4), O255–O266. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12373>
- Medici, N. P., ve Del Poeta, M. (2015). New insights on the development of fungal vaccines: from immunity to recent challenges. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(8), 966–973. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150335>

- Menard, G., Rouillon, A., Ghukasyan, G., Emily, M., Felden, B., ve Donnio, P. Y. (2021). *Galleria mellonella* Larvae as an Infection Model to Investigate sRNA-Mediated Pathogenesis in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.631710>
- Meral, H., ve Korukluoğlu, M. (2014). Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 71-82.
- Michalek, I. M., John, S. M., ve Caetano Dos Santos, F. L. (2019). Microbiological contamination of cosmetic products - observations from Europe, 2005-2018. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 33(11), 2151-2157. <https://doi.org/10.1111/jdv.15728>
- Mikrobiyoloji (2021). Virulens faktörleri. <http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/Belge>
- Mokhtari, F. (2008). Developing a test method for determining the effectiveness of antimicrobial preservatives. *Research Journal of Biological Sciences*, 3(9):984-988.
- Monk, J. D., Clavero, M. R. S., Beuchat, L. R., Doyle, M. P., ve Brackett, R. E. (1994). Irradiation Inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in Low- and High-fat, Frozen and Refrigerated Ground Beef. *Journal of food protection*, 57(11), 969-974. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-57.11.969>
- Morehead, M. S., ve Scarbrough, C. (2018). Emergence of Global Antibiotic Resistance. *Primary care*, 45(3), 467-484. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2018.05.006>
- Mukherjee, K., Hain, T., Fischer, R., Chakraborty, T., ve Vilcinskas, A. (2013). Brain infection and activation of neuronal repair mechanisms by the human pathogen *Listeria monocytogenes* in the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. *Virulence*, 4(4), 324-332. <https://doi.org/10.4161/viru.23629>
- Munita, J. M., ve Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*, 4(2), 1-37. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- Murray, P., Rosenthal, K. ve Pfaller, M. (Ed.). (2010). *Tıbbi mikrobiyoloji* (6. Baskı s. 333-338). Atlas.
- Nair, B. (2001). Final report on the safety assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid, and Sodium Benzoate. *International journal of toxicology*, 20 Suppl 3, 23-50. <https://doi.org/10.1080/10915810152630729>
- Nasrollahi, S. A., Fattahi, M., Khamesipoor, A., Amiri, F., Ahmadi, M., Kavkani, M. S., Lotfali, E., Ayatollahi, A., Skandari, S. E., ve Firooz, A. (2022). Effects of Cosmetic Preservatives on Healthy Facial Skin Microflora. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 15(8), 34-37.
- National Center for Biotechnology Information (2023a). PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzyl-Alcohol>.
- National Center for Biotechnology Information (2023b). PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Potassium-Sorbate>

- National Center for Biotechnology Information (2023c). PubChem
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-Benzoate>
- National Center for Biotechnology Information (2023d). PubChem
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methylparaben>.
- Nikbin, V. S., Aslani, M. M., Sharafi, Z., Hashemipour, M., Shahcheraghi, F., ve Ebrahimipour, G. H. (2012). Molecular identification and detection of virulence genes among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different infectious origins. *Iranian journal of microbiology*, 4(3), 118–123.
- Nobile, C. J., ve Johnson, A. D. (2015). *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annual review of microbiology*, 69, 71–92. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>
- Nwabuike, J. C., Hassan, D., Pant, A. M., Devnarain, N., Gafar, M. A., Osman, N. ve Govender, T. (2023). Novel vancomycin free base–Stereosomes for combating diseases caused by *Staphylococcus aureus* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections (S. Aureus and MRSA). *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 79, 104089. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.104089>
- Ochlich, D., Rademacher, F., Drerup, K. A., Gläser, R., ve Harder, J. (2023). The influence of the commensal skin bacterium *Staphylococcus epidermidis* on the epidermal barrier and inflammation: Implications for atopic dermatitis. *Experimental dermatology*, 32(4), 555–561. <https://doi.org/10.1111/exd.14727>
- O'Grady, N. P., Alexander, M., Burns, L. A., Dellinger, E. P., Garland, J., Heard, S. O., Lipsett, P. A., Masur, H., Mermel, L. A., Pearson, M. L., Raad, I. I., Randolph, A. G., Rupp, M. E., Saint, S., ve Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) (2011). Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 52(9), e162–e193. <https://doi.org/10.1093/cid/cir257>
- Onurdağ, F. K., Özgen, S., ve Abbasoğlu, D. (2010). Microbiological Investigation of Used Cosmetic Samples. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 30(1), 1-16.
- Orth, D. S. (2007). Principles of preservation. Denyer, S. P. ve Baird, R. M. (Ed.), *Guide to microbiological control in pharmaceuticals and medical devices* içinde (2. Baskı, s. 309-321). Taylor & Francis Group.
- Orth, D. S., Kabara, J. J., Denyer, S. P. ve Tan, S. K. (2006). Introduction. Orth, D. S., Kabara, J. J., Denyer, S. P. ve Tan, S. K. (Ed.), *Cosmetic and drug microbiology* (1. Baskı, s. 1-9). Taylor & Francis Group.
- Ova, G. (2001). *Koruyucular: Gıda katkı maddeleri*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları.
- Özalp, M. (1998). Kozmetik ürünlerde görülen mikrobiyolojik kontaminasyonlar. *Türkiye Klinikleri Kozmetoloji Dergisi*, 1(3), 167-176.
- Özer, Ö. (2004). Bölüm 5. Y. Yazan (Ed.), *Kozmetik bilimi* içinde (s. 277-335). Nobel Yayınları.

- Öztürkcan, S. ve Keleş, F. (2016). Deodorantlar/koltuk altı kozmetikleri kansere neden olur mu? *Turkderm - Arch Turk Dermatol Venerology*, 50, 99-102.
- Pandey, A., Jatana, G. K., ve Sonthalia, S. (2023). Cosmeceuticals. *In StatPearls. StatPearls Publishing*.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., ve Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177–192. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>
- Pantosti, A., Sanchini, A., ve Monaco, M. (2007). Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future microbiology*, 2(3), 323–334. <https://doi.org/10.2217/17460913.2.3.323>
- Parish, L. C., ve Crissey, J. T. (1988). Cosmetics: a historical review. *Clinics in dermatology*, 6(3), 1–4. [https://doi.org/10.1016/0738-081x\(88\)90024-7](https://doi.org/10.1016/0738-081x(88)90024-7)
- Pawlica, P. J. (2019). The influence of cosmetics on the bacterial flora of the skin. *European Journal Of Medical Technologies*, 3(24), 44-52.
- Pearson, M. L., ve Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. (1996). Guideline for prevention of intravascular-device-related infections. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 17(7), 438-473.
- Peleg, A. Y., Jara, S., Monga, D., Eliopoulos, G. M., Moellering, R. C., Jr, ve Mylonakis, E. (2009). *Galleria mellonella* as a model system to study *Acinetobacter baumannii* pathogenesis and therapeutics. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(6), 2605–2609. <https://doi.org/10.1128/AAC.01533-08>
- Perez-Rodriguez, A., Eraso, E., Quindós, G., ve Mateo, E. (2022). Antimicrobial Peptides with Anti-Candida Activity. *International journal of molecular sciences*, 23(16), 9264. <https://doi.org/10.3390/ijms23169264>
- Pinto, D., Ciardiello, T., ve Franzoni, M. (2021). Effect of commonly used cosmetic preservatives on skin resident microflora dynamics. *Scientific Reports* 11, 8695. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88072-3>
- Pollitt, E. J. G., Szkuta, P. T., Burns, N., ve Foster, S. J. (2018). *Staphylococcus aureus* infection dynamics. *PLoS pathogens*, 14(6), e1007112. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007112>
- Poulain, D. (2015). *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. *Critical reviews in microbiology*, 41(2), 208–217. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.813904>
- Pristov, K. E., ve Ghannoum, M. A. (2019). Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(7), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>
- Pylypiw, H. M., ve Grether, M. T. (2000). Rapid high-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and potassium sorbate in foods. *Journal of chromatography A*, 883(1-2), 299–304. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00404-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00404-0)

- Ravita, T. D., Tanner, R. S., Ahearn, D. G., Arms, E. L., ve Crockett, P. W. (2009). Post-consumer use efficacies of preservatives in personal care and topical drug products: relationship to preservative category. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 36(1), 35–38. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0468-9>
- Ravita, T. D., Tanner, R. S., Ahearn, D. G., Arms, E. L., ve Crockett, P. W. (2009). Post-consumer use efficacies of preservatives in personal care and topical drug products: relationship to preservative category. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 36(1), 35–38. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0468-9>
- Rietschel, R. L. ve Fowler, J. F. (2008). *Fisher's contact dermatitis 6 BC*. Decker Inc.
- Rigler, N. E. ve Schimmel, J. (1957). Preservation of cosmetics. Goulden, H. D., Klarmann, E. G., Donald, H. P. ve Sagarin, E. (Ed.), *Cosmetics science and technology* (1. Baskı, s. 1035-1074). Interscience.
- Roth, R. R., ve James, W. D. (1988). Microbial ecology of the skin. *Annual review of microbiology*, 42, 441–464. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.42.100188.002301>
- Routledge, E. J., Parker, J., Odum, J., Ashby, J., ve Sumpter, J. P. (1998). Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicology and applied pharmacology*, 153(1), 12–19. <https://doi.org/10.1006/taap.1998.8544>
- Russell, A. D. (1991). Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and food and pharmaceutical preservatives. *The Journal of applied bacteriology*, 71(3), 191–201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb04447.x>
- Saldamlı, İ. (1985). *Gıda katkı maddeleri ve ingrediyenler*. Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi.
- Sasseville D. (2004). Hypersensitivity to preservatives. *Dermatologic therapy*, 17(3), 251–263. <https://doi.org/10.1111/j.1396-0296.2004.04028.x>
- Sato, S., Sakuragi, T., ve Dan, K. (1996). Human skin flora as a potential source of epidural abscess. *Anesthesiology*, 85(6), 1276–1282. <https://doi.org/10.1097/00000542-199612000-00008>
- Schmidt, A. (1997). *Malassezia furfur*: a fungus belonging to the physiological skin flora and its relevance in skin disorders. *Cutis*, 59(1), 21-24.
- Scholtyssek, R. (2004). Protection of cosmetics and toiletries. Paulus, W. (Ed.), *Directory of microbicides for the protection of materials* (1. Baskı, s. 263-286). Kluwer Academic Publishers.
- Secchi, G. (2008). Role of protein in cosmetics. *Clinics in dermatology*, 26(4), 321–325. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2008.04.004>
- Selmecki, A., Forche, A., ve Berman, J. (2010). Genomic plasticity of the human fungal pathogen *Candida albicans*. *Eukaryotic cell*, 9(7), 991–1008. <https://doi.org/10.1128/EC.00060-10>

- Severn, M. M., ve Horswill, A. R. (2023). Staphylococcus epidermidis and its dual lifestyle in skin health and infection. *Nature reviews. Microbiology*, 21(2), 97–111. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00780-3>
- Sivri, N. (2005). Türkiye piyasasında mevcut bazı kozmetiklerin gama radyasyonla dekontaminasyonu. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi*, 4, 230-249.
- Siya, K., Thomas, J., Vinod Kumar, R. B., Saji, A. M., Iype, A. K., ve Akhil, S. (2019). Lipsticks: The Microbial Cellar: An Original Study. *Journal of microscopy and ultrastructure*, 7(4), 194–197. https://doi.org/10.4103/JMAU.JMAU_14_19
- Smith, C. N., ve Alexander, B. R. (2005). The relative cytotoxicity of personal care preservative systems in Balb/C 3T3 clone A31 embryonic mouse cells and the effect of selected preservative systems upon the toxicity of a standard rinse-off formulation. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 19(7), 963–969. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2005.06.014>
- Soni, M. G., Carabin, I. G., ve Burdock, G. A. (2005). Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 43(7), 985–1015. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.01.020>
- Soni, M. G., Taylor, S. L., Greenberg, N. A., ve Burdock, G. A. (2002). Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 40(10), 1335–1373. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(02\)00107-2](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(02)00107-2)
- Spernovasilis, N., Psychogiou, M., ve Poulakou, G. (2021). Skin manifestations of Pseudomonas aeruginosa infections. *Current opinion in infectious diseases*, 34(2), 72–79. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000717>
- Sulaiman, M., Hassan, Y., Tok, T. T. ve Noundou, X. S. (2020). Synthesis, antibacterial activity and docking studies of benzyl alcohol derivatives. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 7(2), 481-488. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.692113>
- Sungur, S. A., Şahne, B. S., ve Yeğenoğlu, S. (2018). Kozmetik Ürünlerin Tarihçesi, Ürün Tanıtımlarının Yasal Durumu ve Tüketici Davranışı Açısından Değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi Ve Folklorik Tıp Dergisi*, 8(3), 191-197. <https://doi.org/10.31020/mutftd.432259>
- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., ve Škrlec, I. (2021). Candida albicans-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(2), 79. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>
- Talaro, K. P. (2005). *Foundations ind microbiology* (5. Baskı). McGraw-Hill Custom Publishing.
- Taşkın, D. (2010). Besinin Galleria mellonella (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) Puplalarının Toplam Lipid ve Toplam Yağ Asidi Yüzdelere Etkisi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(2), 50-54.

- Türk Eczacılar Birliği (t.y.). *Kozmik ürünlerin tanımı*. https://e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/tebakademi/ilac_disi/2.pdf
- Türkoğlu, Ş., ve Pirinç, B. (2016). Etil Paraben ve Metil Parabenin *Caenorhabditis Elegans*'ta Yumurta Verimi, Yaşama Yüzdesi ve Fiziksel Büyüme Üzerine Olan Etkilerinin Araştırılması. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 37(4), 371-390.
- Tüysüz, M. (2010). *Piyasada bulunan kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içeriğinin ve koruyucu etkinliğinin araştırılması* [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul Üniversitesi.
- Uzuner, Y. (2004). Bölüm 7. Y. Yazan (Ed.), *Kozmetik bilimi içinde* (s. 379-410). Nobel Yayınları.
- Varvaresou, A., Papageorgiou, S., Tsirivas, E., Protopapa, E., Kintziou, H., Kefala, V., ve Demetzos, C. (2009). Self-preserving cosmetics. *International journal of cosmetic science*, 31(3), 163–175. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00492.x>
- Verraes, C., Van Boxtael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B., de Schaetzen, M. A., Van Huffel, X., Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., De Block, J., Dewulf, J., ve Herman, L. (2013). Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *International journal of environmental research and public health*, 10(7), 2643–2669. <https://doi.org/10.3390/ijerph10072643>
- Wang, Q., Cui, S., Zhou, L., He, K., Song, L., Liang, H., ve He, C. (2019). Effect of cosmetic chemical preservatives on resident flora isolated from healthy facial skin. *Journal of cosmetic dermatology*, 18(2), 652–658. <https://doi.org/10.1111/jocd.12822>
- Whiteway, M., ve Bachewich, C. (2007). Morphogenesis in *Candida albicans*. *Annual review of microbiology*, 61, 529–553. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093341>
- Yapar, E. A. ve Tanrıverdi, S. T. (2016). Yaşlanma karşıtı kozmetik yaklaşımlar ve ürün bileşenleri. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(2), 99-109.
- Yazan, Y. (2004). Bölüm 2. Y. Yazan (Ed.), *Kozmetik bilimi içinde* (s. 13-77). Nobel Yayınları.
- Ye, X., Bishop, A. M., Reidy, J. A., Needham, L. L., ve Calafat, A. M. (2006). Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans. *Environmental health perspectives*, 114(12), 1843–1846. <https://doi.org/10.1289/ehp.9413>