

**POSTBİYOTİK İÇEREN EL KREMİ
FORMÜLASYONU GELİŞTİRİLMESİ
VE KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Leyla HAMIDLİ

Eskişehir 2022

**POSTBİYOTİK İÇEREN EL KREMİ
FORMÜLASYONU GELİŞTİRİLMESİ
VE KARAKTERİZASYONU**

Leyla HAMIDLI

Yüksek Lisans Tezi

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Kozmetoloji Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Evrim YENİLMEZ

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Zerrin CANTÜRK)

ESKİŞEHİR

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Haziran 2022

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Leyla HAMIDLI'nın "Postbiyotik İçeren El Kremi Formülasyonu Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu" başlıklı tezi 24/06/22 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Teknoloji Anabilim dalı, Kozmetoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Evrim YENİLMEZ
Üye	: Doç. Dr. Mustafa Sinan KAYNAK
Üye	: Doç. Dr. N. Başaran MUTLU AĞARDAN

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ

Enstitü Müdür

ÖZET

POSTBİYOTİK İÇEREN EL KREMİ FORMÜLASYONU GELİŞTİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

Leyla HAMIDLİ

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

Kozmetoloji Bilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2022

Danışman: Doç. Dr. Evrim YENİLMEZ

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Zerrin CANTÜRK)

Bu tez çalışmasının amacı, postbiyotikli krem formülasyonunun geliştirilmesi, hazırlanması ve sistemin karakterizasyon çalışmalarının yapılmasıdır.

Postbiyotikler sadece kolon sağlığı için değil, deri için de olumlu etkileri olan, doğrudan deri mikrobiyotasına uygulanabilen ve seçici olarak faydalı ‘normal’ cilt mikrobiyotasının aktivitesini ve büyümesini arttıran bir bileşendir.

Formülasyonların 1 aylık kararlılık testi sonucunda görünüş, pH ve reolojik özelliklerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Kremin hazırlanmasında kullanılan lactobacillus bakterisinin klasik ve moleküler tanımlanması sonucu *Lacticaseibacillus rhamnosus* olduğu tanımlanmıştır. Mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiğinde postbiyotik içeren kremin plesebo kreme göre *S.epidermidis* üzerinde 2 kat daha fazla etkili olduğu bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Postbiyotik, Krem, Deri, Kozmetik.

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF HAND CREAM FORMULATION CONTAINING POSTBIOTICS

Leyla HAMIDLI

Department of Pharmaceutical Technology

Programme in Cosmetology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, June 2022

Supervisor:

Assoc.Prof. Dr. Evrim YENİLMEZ

(Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Zerrin CANTÜRK)

The aim of this thesis is to develop and prepare a postbiotic cream formulation and to conduct characterization studies of the system.

Postbiotics are a component that has positive effects not only for colon health but also for the skin, can be applied directly to the skin microbiota, and selectively increase the activity and growth of beneficial 'normal' skin microbiota.

As a result of the 1-month stability test of the formulations, no significant difference was observed in appearance, pH and rheological properties. As a result of classical and molecular identification of the lactobacilli used in the preparation of the cream, it was defined as *Lacticaseibacillus rhamnosus*. When evaluated microbiologically, it was found that the cream containing postbiotic was 2 times more effective on *S.epidermidis* than the placebo cream.

Keywords: Postbiotic, Cream, Skin, Cosmetics.

TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın gerekleőtirilmesinde, hem teorik bilgi hem pratik uygulamalarda değerli bilgilerini benimle paylaőan, bana hep kıymetli zamanını ayırıp büyük bir ilgiyle ve sabırla bana faydalı olabilmek için elinden gelenin fazlasını yapan,ailemin uzakta olduğunu bana hissettirmeyecek kadar sevgilerini hissettiyim değerli danışman hocalarım Sayın Doç. Dr. Evrim YENİLMEZ' e ve Sayın Doç. Dr. Zerrin CANTÜRK' e çok teşekkür ederim.

Çalıőmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Araç. Gör. Sinan ÖZER'e ve Araç. Gör. Kadir AYKAÇ'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalıőmalarımda pozitif enerjisi ile her daim yanımda olan,bana destek olan,bilgilerini benden esirgemeyen arkadaőım Hacer AKDAĖ'a teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük emeęi olan,yüksek lisans eęitimim boyunca maddi ve manavi desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin tamamen bana ait bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumunda dahil olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; çalışma kapsamında elde edilen veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara tezimde yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” yla tarandığını ve “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla alakalı yaptığım bu beyana aykırı bir durumun tesbit edilmesi durumunda, meydana gelecek tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

(İmza)

Leyla HAMIDLİ

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	2
2.1. Biyotik Kavramı	2
2.2. Prebiyotik.....	2
2.3. Sinbiyotik.....	2
2.4. Paraprobiotik.....	3
2.5. Postbiyotik	3
2.5.1. Süpernatantlar.....	4
2.5.2. Ekzopolisakkaritler	4
2.5.3. Enzimler	4
2.5.4. Hücre duvarı bileşenleri	5
2.5.5. Bakteriyel lizatlar	5
2.6. Postbiyotiklerin üstünlükleri.....	6
2.6.1. Stabilite.....	6
2.6.2. Fikri mülkiyet koruması	6
2.6.3. Güvenilirlik	6
2.6.4. Üretim teknolojisi.....	6
2.6.5. Tedavilerde kullanımı.....	7
2.7. Probiyotik	7
2.7.1. Probiyotik türleri	8

2.7.2. Probiyotiklerin özellikleri	9
2.7.3. Probiyotiklerin güvenilirliği	9
2.7.4. Probiyotiklerin kullanımı	9
2.7.5. Tedavilerde önemi.....	11
2.7.6. Akne tedavisinde önemi	11
2.7.7. Yaygın probiyotikler	12
2.7.8. Probiyotiklerin topikal uygulaması	13
2.8. Deri.....	15
2.8.1. Deri katmanları.....	15
2.8.1.1. <i>Epidermis</i>	16
2.8.1.2. <i>Dermis</i>	17
2.8.1.3. <i>Hipodermis</i>	17
2.9. Covid-19 Pandemisi.....	17
2.9.1. El dezenfektanları	18
2.9.1.1. <i>Alkol bazlı el dezenfektanları (ABHS)</i>	19
2.9.1.2. <i>Alkolsüz dezenfektanlar(NABHS)</i>	19
2.9.1.3. <i>El dezenfektanlarını cilt üzerinde olumsuz etkileri</i>	19
2.10. Deriye Uygulanan Kremler	22
2.10.1. Krem formülasyonları.....	22
2.10.1.1. <i>Y/S emülsiyon kreminin hazırlanması</i>	24
2.10.1.2. <i>S/Y emülsiyon kreminin hazırlanması</i>	24
2.10.1.3. <i>Kremlerde yapılan karakterizasyon çalışmaları</i>	24
2.11. Taşıyıcı Sistemler	25
2.11.1. Emülsiyonlar	25
2.11.1.1. <i>Mikroemülsiyonlar</i>	25
2.11.1.2. <i>Sıvı kristaller</i>	25
2.11.1.3. <i>Çoklu emülsiyonlar</i>	26
2.11.1.4. <i>Nanoemülsiyonlar</i>	26
2.12. Postbiyotik ve Cilt İlişkisi.....	26
2.13. Kolostrum Nedir?	29
2.14. Laktobasiller	30
2.14.1. <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	30

3. GEREÇLER	32
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
3.2. Kullanılan Cihazlar	33
4.YÖNTEMLER	34
4.1. Mikrobiyolojik Çalışmalar	34
4.1.1. Besi ortamları ve kimyasallar	34
4.1.1.1. <i>MRS agar</i>	34
4.1.1.2. <i>MRS broth</i>	34
4.1.1.3. <i>Nutrient agar</i>	35
4.1.1.4. <i>Mueller hinton agar</i>	35
4.1.1.5. <i>Mueller hinton broth</i>	35
4.1.1.6. <i>Fizyolojik tuzlu su içeriği</i>	36
4.1.1.7. <i>Hidrojen peroksit tespiti için standart çözelti</i>	36
4.1.1.8. <i>Sodyum hidroksit çözeltisi</i>	36
4.1.1.9. <i>H₂SO₄ çözeltisi</i>	36
4.1.1.10. <i>McFarland standardı</i>	37
4.1.1.11. <i>MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) çözeltisi</i> ... 37	
4.1.2. Kolostrum örneğinin temini	37
4.1.3. Kolostrumdan laktobasil izolasyonu	37
4.1.4. İzole edilen mikroorganizmaların tanımlanmaları	38
4.1.5. Gram boyama yöntemi	38
4.1.6. Katalaz testi	39
4.1.7. 16S rRNA dizi analizi ile genotipik karakterizasyonların belirlenmesi	39
4.1.8. Antibakteriyal aktivite tayini	41
4.1.8.1. <i>Agar kuyucuk difüzyon yöntemi</i>	41
4.1.8.2. <i>Mikrobroth dilüsyon yöntemi</i>	42
4.1.9. MTT yöntemi HACAT hücre hattında sitotoksitenin belirlenmesi	42
4.2. Plasebo Krem Formülasyonu Hazırlanması	43
4.3. Postbiyotik İçeren Formülasyon Hazırlanması	44
4.4. Krem Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları	45
4.4.1. Formülasyonların pH değeri ölçümü	45
4.4.2. Formülasyonlarda reolojik analiz	45

4.4.3. Formülasyonlarda tekstür analizi	45
4.4.4. Formülasyonlarda damlacık boyutu analizi	46
4.4.5. Formülasyonların faz ayrılması analizi.....	46
4.4.6. Formülasyonlarda morfolojik analiz.....	46
4.4.7. Formülasyonların mineral element analizi	46
4.4.8. Formülasyonların termal değişim analizi.....	47
4.5. Kararlılık Çalışmaları	47
5. BULGULAR	48
5.1. Kolostrumdan Laktobasil İzolasyonu	48
5.2. Gram Boyama.....	48
5.3. Katalaz Testi	49
5.4. 16S rRNA Dizi Analizi ile Genotipik Karakterizasyonların Belirlenmesi.....	49
5.5. Kuyucuk Yöntemi.....	50
5.6. Mikrobrot Dilüsyon Yöntemi.....	51
5.7. Sitotoksisite Testi	52
5.8. Formülasyonların pH Değeri Ölçümü	54
5.9. Formülasyonlarda Reolojik Analiz.....	54
5.10. Formülasyonlarda Tekstür Analizi.....	55
5.11. Formülasyonlarda Damlacık Boyutu Analizi	56
5.12. Formülasyonların Faz Ayrılması Analizi	56
5.13. Formülasyonlarda Morfolojik Analiz.....	57
5.14. Formülasyonların Mineral Element Analizi.....	58
5.15. Formülasyonların Termal Değişim Analizi	58
5.16. Kararlılık Çalışmaları	59
6. TARTIŞMA	61
7.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	65
KAYNAKÇA	66
ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Probiyotik kaynağı olarak kullanılan mikroorganizma türleri	8
Çizelge 2.2. Probiyotikli kozmetik ürünler ve mikroorganizma içerikleri	27
Çizelge 2.3. Piyasadaki ürünleri	29
Çizelge 4.1. Mrs agar içeriği.....	34
Çizelge 4.2. Mrs broth içeriği	34
Çizelge 4.3. Nutrient agar içeriği.....	35
Çizelge 4.4. Mueller hinton agar içeriği.....	35
Çizelge 4.5. Mueller hinton broth içeriği	36
Çizelge 4.6. Fizyolojik tuzlu su içeriği	36
Çizelge 4.7. Sodyum hidroksit içeriği	36
Çizelge 4.8. H ₂ SO ₄ çözeltisi içeriği	37
Çizelge 4.9. McFarland standardı içeriği	37
Çizelge 4.10. L ₁ formülü	44
Çizelge 4.11. L ₂ formülü	44
Çizelge 4.12. L ₃ formülü.....	45
Çizelge 4.13. Tekstür analizi yapıma koşulları.....	46
Çizelge 4.14. ICP-OES için çalışma koşulları.....	47
Çizelge 5.1. Formülasyonların 0. zamanda ph değerleri.....	54
Çizelge 5.2. Tekstür analizi sonucu	55
Çizelge 5.3. Formülasyonların damlacık boyutu (db) ve polidisperslik indisi (pdi) değerleri.....	56
Çizelge 5.4. Mineral element analiz sonuçları.....	58
Çizelge 5.5. Kararlılık testleri.....	59
Çizelge 5.6. Formülasyonların fiziksel görünüşlerinin kararlılık çalışmaları	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Postbiyotikden elde edilen ürünler	4
Şekil 2.2. Akne vulgaris'te bağırsak-beyin-deri döngüsü	12
Şekil 2.3. İnsan derisi katmanları	16
Şekil 2.4. Epidermisin katmanları	16
Şekil 5.1. Laktobasilin mrs agarda tek koloni ekim tekniği sonucu petrideki görünümü	48
Şekil 5.2. Gram pozitif (+) laktobasil (x100)	48
Şekil 5.3. Katalaz (+) laktobasil izolatının görüntüsü	49
Şekil 5.4. Kuyucuk yöntemi sonuçları	51
Şekil 5.5. Plasebo krem ve postbiyotikli kremin s.epidermidis üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin mikrobrot dilüsyon yöntemi ile değerlendirilmesi	52
Şekil 5.6. Postbiyotik içeren kremin HaCat keratinosit hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin MTT testiyle değerlendirilmesi (n=7 , *p<0.05)	53
Şekil 5.7. Plasebo kremin kremin HaCat keratinosit hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin MTT testiyle değerlendirilmesi (n=7 , *p<0.05)	53
Şekil 5.8. Plasebo kremin reolojik ölçümleri	54
Şekil 5.9. Postbiyotikli kremin reolojik ölçümleri	54
Şekil 5.10. Plasebo kremin ölçümleri	55
Şekil 5.11. Postbiyotikli kremin ölçümleri	56
Şekil 5.12. Faz ayrılması sonucu	57
Şekil 5.13. Plasebo kremin mikroskop görüntüsü	57
Şekil 5.14. Postbiyotikli kremin mikroskop görüntüsü	58
Şekil 5.15. Postbiyotikli kreme ait reogramlar a.0. zaman; b. termal değişim sonrası	59
Şekil 5.16. Postbiyotikli kreme ait reogramlar a.0. zaman; b. 1.ay	60

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

EPS	: Ekzopolisakkaritler
ROS	: Reaktif oksijen türlerinin
SOD	: Peroksit dismutaz
LTA	: Bakteriyel lipoteikoik asitB
BL	: Bakteriyel lizatlar
GRAS	: Genel olarak güvenli
IEL	: Bağırsak epitel hücreleri
DC	: Dendritik hücreler
LAB	: Laktik asit bakterileri
DAÜ	: Diyabetik ayak ülseri
PAMP	: Patojenle ilişkili moleküler modeller
TLR	: Transmembran proteini olan reseptörler
ABHS	: Alkol bazlı el dezenfektanları
NABHS	: Alkolsüz dezenfektanları
ICD	: Kontakt dermatite
ACD	: Alerjik kontakt dermatit
LGG	: <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Deri vücudumuzun en büyük organıdır. Deri faydalı mikroorganizmalara ev sahipliği yapar ve bir bariyer görevi görür. Derimizdeki mikroorganizmalar aynı bağırsaklarımızdaki mikroorganizmalar gibi bağışıklık sistemimizin güçlenmesinde,patojenlere karşı savunmada büyük önem taşır.

Derimizdeki ve bağırsağımızdaki bakteriler arasında güçlü bir bağ vardır. Bu bakterilerden olan probiyotikler, gastrointestinal sisteme uygulanan patojenik olmayan canlı mikroorganizmalardır. Sadece kolon hastalıklarında değil deri hastalıklarının çoğunda yaralı etkileri görülmüştür.

Postbiyotikler, probiyotiklerin yan ürünleri olup cansızdırlar. Postbiyotikler sağlıklı bir deri yapısının oluşumuna katkıda bulunurlar. Bir çok biyolojik işlevlerin iyileştirilmesinde doğrudan kullanabilirler.

Bakterilerin deri üzerindeki faydaları göz önünde bulundurularak kozmetik alanda kullanılmaya başlandı. Günümüzde çoğunlukla bunlardan probiyotikler daha çok tercih ediliyor. Fakat bunlar canlı mikroorganizma olduğundan kontaminasyon,raf ömrünün kısalığı gibi sorunlar oluştura bilmektedir. Postbiyotikler cansız olduğundan üründe stabildir ve raf ömrü daha uzundur.

Bu tez çalışmasında, postbiyotik içeren krem formülasyonun geliştirilmiş ve karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Biyotik Kavramı

"Biyotik" terimi, bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı bir şekilde korunması ve durumun devam ettirilmesi için gerekli olan beslenme yöntemlerini ifade eder. Yunanca biōtikós 'yaşamla ilgili' anlamına gelen biyotik terimi; canlı organizmaların fiziksel çevreleriyle birlikte yarattığı biyolojik ekosistemi ifade eder. Biyotik kavramı son yıllarda prebiyotik, probiyotik, postbiyotik, parabiyotik, sinbiyotik ve paraprobiyotik olarak sınıflandırılmaktadır [1].

2.2. Prebiyotik

Prebiyotik kavramı ilk olarak 1995 yılında Gibson ve Roberfroid tarafından "kolonda bir veya daha az bakterinin büyümesini veya aktivitesini seçici olarak uyararak, konakçıyı faydalı bir şekilde etkileyen ve böylece konakçı sağlığını iyileştiren sindirilemeyen bir gıda bileşeni" olarak tanımlanmıştır. Daha sonra aynı yazarlar tarafından güncellenen prebiyotik tanımı ise şöyledir; "hem mikrobiyom bileşiminde hem de aktivitesinde spesifik değişikliklere izin veren seçici olarak fermente edilmiş bir bileşen". Bu tanıma göre, bir ürünün aday prebiyotik olarak kabul edilebilmesi için , *in vitro* ve *in vivo* testlerle belirlenen bir takım kriterleri karşılaması gerekmektedir. Son yıllarda, konak sağlığı ve yararı için, kolon mikrobiyotasının bileşimini modüle etmek için, fonksiyonel gıdalar olarak prebiyotiklerin kullanımı oldukça artmıştır [2].

2.3. Sinbiyotik

Bir ürün hem probiyotik hem de prebiyotik içerdiğinde sinbiyotik terimi ile ifade edilmektedir. Bu terim, sinerji anlamına geldiği için prebiyotik bileşiğin seçici olarak probiyotik bileşiği desteklediği ürünler için kullanılmaktadır. Sinbiyotikler probiyotiklerin yaşayabilirliğini arttırdıklarından dolayı, sağlık için yararları da fazladır [3].

Bir sinbiyotik ürün 1 ile 10 milyar aktif hücre içermektedir. Örneğin yoğurt, inülin ile birlikte tüketildiğinde simbiyotik bir etki yaratan canlı ve aktif kültürler içerir. Son yıllarda, hastalıklarla mücadele uygulamalarının ana odak noktasının sinbiyotikler olduğu araştırmalar ortaya çıkmaya başlamıştır. Sinbiyotik diyet, bağırsağın biyolojik yapısını koruyarak bağırsaktaki metabolik aktivitelerin düzenlenmesine yol açar.

Özellikle beslenme döneminden sonra kısa zincirli yağ asitleri, ketonlar, karbon disülfür ve metil asetattaki önemli artış, sinbiyotik gıdaların potansiyel sağlık yararlarını göstermektedir [4].

2.4. Paraprobiotik

Paraprobiotikler sınıfına laktobasillerin hücre duvarı bileşenleri olan; organizma üzerinde faydalı etkileri olduğu bildirilen peptidoglikan, teikoik asit, hücre duvarı polisakkaritleri, hücre yüzeyi bağlayıcı proteinler ve protein filamentlerini girmektedir [5].

Çalışmalar, laktobasilin hücre yüzeyi bileşenlerinin efektör moleküllerin önemli bir parçası olarak kabul edildiğini doğrulamıştır, çünkü mikrobiyal hücrenin bu kısmı, konakçı hücre ile etkileşime giren ilk bileşendir.

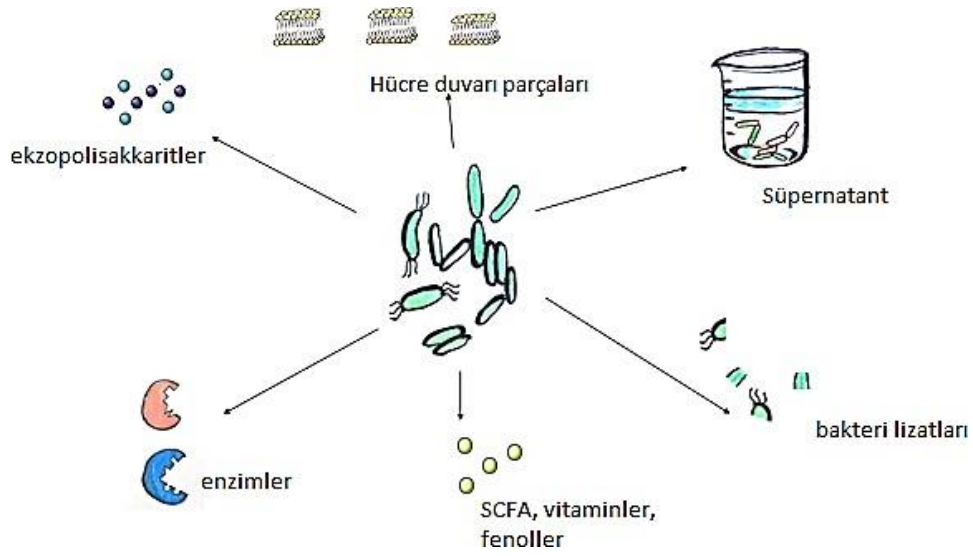
Laktobasil türlerinin paraprobiotikleri, çok çeşitli aktif molekülleri içerimaktadır. Bu ürünler ve laktobasillerin yan ürünlerinin, epitelyal bariyer koruması, anti-tümör, immünomodülatör ve patojene karşı antagonistik etkiler gibi faydalı fonksiyonlara sahip olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, daha uzun bir raf ömrü, açık bir kimyasal yapı ve güvenli dozaj ayarı dahil olmak üzere probiyotiklere göre çeşitli avantajları olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur [6].

2.5. Postbiyotik

Postbiyotik terimi, "canlı organizmalarla ilgili olan veya onlardan kaynaklanan" olarak tanımlanan ve yaşamdan sonra anlamında kullanılan "biyotik" ve "sonra" anlamına gelen terimlerin bileşiminden kaynaklanarak tanımlanmıştır [7].

Bununla birlikte, kesin tanımı hala tartışmalıdır. Tsilingiri ve arkadaşlarına göre, postbiyotikler, bir mikroorganizma tarafından salgılanan veya bir mikroorganizmanın metabolik aktivitesi tarafından üretilen, doğrudan veya dolaylı olarak konakçı üzerinde faydalı bir etki uygulayan herhangi bir maddeyi içermektedir [8].

Postbiyotik bileşenleri olarak; süpernatant, ekzopolisakkaritler, enzimler, hücre duvar bileşenleri, ve bakteriyel lizatlar sayılabilir. Postbiyotikten elde edilen ürünler şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Postbiyotikden elde edilen ürünler [9].

2.5.1. Süpernatantlar

Bakteriler tarafından, kültür besiyerine salgılanan biyolojik aktif metabolitleri içersinde bulunduran, hücre içermeyen süpernatantlar, direkt bakteri kültürlerinden elde edilebilirler. Belirli bir inkübasyon süresinin ardından bakteri kültürleri, bakterilerin ve süpernatanın ayrılması amacıyla santrifüjlenir ve elde edilen üstteki sıvı süpernatant olarak kullanılmaktadır. Son olarak, elde edilmiş süpernatant steriliteyi sağlamak amacıyla filtre edilerek kullanılmaktadır [10].

2.5.2. Ekzopolisakkaritler

Mikroorganizmalar büyümeleri sırasında farklı kimyasal yapılara sahip olan biyopolimerler üretirler. Bu biyopolimerler, ekzopolisakkaritler (EPS'ler) adı verilen heterojen bir madde grubu olarak adlandırılır ve bakterinin hücre duvarının dışına salınabilir. EPS'ler, biyolojik görevleri tam olarak belli olmasa da, günümüzde gıda endüstrisinde emülsifiye edici, stabilize edici ve su bağlayıcı ajanlar olarak kullanılmaktadır. Buna ek olarak, EPS'lerin fonksiyonel gıdalarda ve farmasötik ürünlerde kullanımı da son zamanlarda oldukça artmıştır [11].

2.5.3. Enzimler

Enzimler, biyokimyasal reaksiyonları katalize eden aktif proteinlerdir. Mikrobiyal enzimler, çeşitli biyokimyasal, fizyolojik ve düzenleyici işlevlere sahiptir.

İlgilenilen enzimleri üreten ana bakteriler, *Bacillus* cinsine ait olanlardır. Kısa fermantasyon sürelerine yol açan yüksek büyüme hızları, hücre dışı ortamda protein salgılama yetenekleri ve güvenli olarak tanınmaları için önemlidirler [12]. *Bacillus* cinsi aşırı sıcaklıklara, pH'a, organik çözücülere, deterjanlara ve oksitleyici bileşiklere karşı yüksek stabilite gibi dikkate değer özelliklere sahip yüksek verimde nötr ve alkalın proteolitik enzimler üretme yeteneğine sahiptir [13]. Mikroorganizmalar, proteinlere, lipidlere, nükleik asitlere ve karbohidratlara hasar verebilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) zararlı etkilerine karşı savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Özellikle peroksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), NADH-oksidad ve katalaz gibi antioksidan enzimler, ROS ile mücadelede kritik bir rol oynar [14].

2.5.4. Hücre duvarı bileşenleri

Bakteriyel hücre duvarının birçok bileşeni, bakteriyel lipoteikoik asit (LTA) tabaka da dahil olmak üzere immünojenik özelliktedir. LTA, çevreye kendiliğinden salınabilir ve Gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarında bulunur. LTA'nın immün sistemi uyarıcı etkileri olmasına rağmen, aktivitesine ilişkin veriler belirsizdir. Bazı raporlar, LTA'nın IL-12 üretimini azalttığını ve immün düzenleyici aktiviteye sahip sitokinlerin üretimini indüklediğini göstermektedir (örneğin, IL-10). Buna karşılık, diğerleri, LTA'nın enflamatuvar süreçleri hafifletmediğini ve aslında bağırsaktaki dokulara zarar verdiğini göstermiştir [15].

2.5.5. Bakteriyel lizatlar

Bakteriyel lizatlar (BL'ler), Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin mekanik veya kimyasal olarak parçalanmasıyla elde edilmektedir. Klinik kullanımları, bağırsak-akciğer eksenini kavramına, yani bağırsağın solunum sistemi ile bağışıklık sistemi arasındaki fonksiyonel bağlantıya dayanmaktadır [16]. Özellikle çalışmalar, oral yoldan uygulanan liyofilize BL'lerin, dentridik hücreleri uyardıkları ve ardından T ve B lenfositlerini aktive ettiklerini ince bağırsakta Peyer plaklarına ulaştığını göstermiştir. Olgun lenfositler daha sonra solunum yolunun mukoza zarına göç eder ve başlangıçta doğuştan gelen bağışıklık sistemini uyarır ve böylelikle IgA salgılanmasını teşvik eder. Bu amaçla yapılan çalışmalar, çocuklarda tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları da dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilgili BL kullanımının güvenliğini doğrulamıştır [17].

2.6. Postbiyotiklerin üstünlükleri

Postbiyotiklerin, günümüzde yaygın olarak kullanılan probiyotiklere göre bir takım üstünlükleri bulunmaktadır. Bunların başında stabil olmaları ve güvenilir olarak tedavilerde kullanılabilmeleri gelmektedir.

2.6.1. Stabilité

Postbiyotiklere ilgiyi artıran en önemli faktör, hem endüstriyel süreçlerde hem de depolama sırasında doğal stabiliteleridir. Canlı mikroorganizmaların stabilitesini korumak teknolojik bir zorluktur çünkü birçok probiyotik organizma oksijene ve ısıya duyarlıdır, ancak uzun raf ömrüne sahip ürünler canlı olmayan mikroorganizmalar ve onların ürünlerinden elde edilmektedirler. Güvenilir soğuk zincirlerin bulunmadığı veya ortam sıcaklıklarının canlı mikroorganizmaların depolanması için sorun oluşturduğu coğrafi alanlarda da postbiyotikler probiyotiklere tercih edilmektedir [18].

2.6.2. Fikri mülkiyet koruması

Canlı mikroorganizma içermeyen ürünlerin bir başka olası avantajı, postbiyotik kökenli mikroorganizmaların ticari üründen izole edilememesi ve ürün geliştiricilerin bileşenlerinin mülkiyetini elinde tutmasına izin vermesidir. Canlı mikroorganizmaların ihmal edilebilir düzeyde olması, çevreye yayılmasının tehlikeli olabileceği, genetiği değiştirilmiş mikroorganizmaları içerebilen postbiyotiklerin geliştirilmesinde de bir avantaj olabilir [19].

2.6.3. Güvenilirlik

Postbiyotiklerin probiyotiklerden daha iyi bir güvenlik profiline sahip olmasının en önemli nedeni; içersinde mikroorganizma içermediğinden dolayı bakteriyemiye neden olmamasından kaynaklanmamaktadır [20].

2.6.4. Üretim teknolojisi

Probiyotik üretiminde önemli bir konu olan doz standardizasyonu sorunu postbiyotiklerde yoktur. Ekonomik açıdan bakıldığında, postbiyotiklerin faydaları arasında daha uzun raf ömrü, daha kolay depolama ve taşıma ve probiyotiklere kıyasla düşük sıcaklıkları koruma ihtiyacının azalması yer alır. Yinelemeli üretim süreçlerinin

kullanılması ve daha kesin dozlama kontrolü olasılığı, probiyotiklere göre postbiyotiklerin avantajlarından [21].

2.6.5. Tedavilerde kullanımı

Postbiyotikler, Th1/Th2 aracılı bağışıklık tepkilerine dengeyi geri getirebildikleri ve bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını destekleyebildikleri için alerjik hastalıklar için uygun bir tedavi seçeneği olarak kabul edilir. Mevcut veriler, çocuklarda astım/hırıltı alevlenmelerinin önlenmesinde postbiyotiklerin kullanımını desteklemektedir. Ek olarak, atopik dermatitli hastaların semptomlarının şiddeti, bağırsaktaki butirat üreten bakteri sayısı ile ters orantılıdır ve bu nedenle oral BL, çocuklarda atopik dermatit için daha iyi tedavi sonuçları ortaya koymuştur. Son olarak, postbiyotiklerin gıda alerjilerinde faydalı etkileri;

200'den fazla çocuk üzerinde yapılan bir klinik çalışmada, butirat açısından zengin bir mikrobiyomun varlığının inek sütü alerjisinin daha erken çözülmesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir [22,23].

2.7. Probiyotik

Probiyotikler, mikrobiyal dengeyi geliştirmek için özellikle gastrointestinal sisteme uygulanan patojenik olmayan canlı mikroorganizmalardır. *Saccharomyces boulardii* mayası, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri gibi laktik asit bakterilerinden oluşurlar ve yiyecekler ve diyet takviyeleri olarak kullanılmaktadırlar. Probiyotiklerin, yararlı etkileri arasında, bağırsaktaki pH'ı düşürmek, patojenik organizmaların kolonizasyonunu azaltmak ve konakçı bağışıklık cevabının modülasyonu dahil olmak üzere birçok mekanizma sayılabilmektedir [24,25]. "Probiyotik" terimi, Latince "pro" ve Yunanca "yaşam için" anlamına gelen "bios" kelimesinden türetilmiştir ve ilk 1907 yılında Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır [26].

"Probiyotik" tanımı yıllar içinde gelişmiştir ve 2001'de FAO/WHO'da uzmanlardan oluşan bir panelde, probiyotik tanımı "canlı mikroorganizmalar, uygun miktarlarda kullanıldığında konağa sağlık açısından yarar sağlar" şeklinde birleştirilmiştir. Benzer şekilde İtalya Sağlık Bakanlığı da probiyotikleri "yeterli miktarda alındığında vücut üzerinde faydalı etkileri olan mikroorganizmalar" olarak tanımlamıştır [27].

İyi bir probiyotik tanımlamak için, bağırsak epitel hücrelerine yapışma, patojen yapışmasını ortadan kaldırma veya azaltma ve hayatta kalma, çoğalma ve asit üretme, hidrojen peroksit ve bakterilerin patojenlerin büyümesiyle inhibe etme gibi çeşitli kriterlere ihtiyaç vardır. Güvenli, invaziv olmayan, kanserojen olmayan ve patojen olmayan olarak kabul edilirler ve normal olarak dengeli bir mikrobiyom oluşturmak için kolonize olmalıdırlar [28].

2.7.1. Probiyotik türleri

Takviyeler ve gıdalar gibi maya veya bakteri içeren modifiye probiyotikler, kapsüller, tabletler veya tozlarda ve birçok fermente gıdada, en yaygın olarak yoğurt veya sütü içeceklerinde bulunur [29]. Probiyotik kaynağı olarak kullanılan mikroorganizma türleri tablo 2.1 de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Probiyotik kaynağı olarak kullanılan mikroorganizma türleri [30].

<i>Lactobacillus species</i>	<i>Bifidobacterium species</i>	<i>Enterococcus species</i>	<i>Streptococcus species</i>	<i>Yeast</i>
<i>Lactobacillus. acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lactobacillus. bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>	
<i>Lactobacillus. casei</i>	<i>Bifidobacterium. bifidum</i>		<i>Streptococcus diacetylactis</i>	
<i>Lactobacillus. crispatus</i>	<i>Bifidobacterium. breve</i>		<i>Streptococcus intermedius</i>	
<i>Lactobacillus. fermentum</i>	<i>Bifidobacterium. infantis</i>			
<i>Lactobacillus. gasseri</i>	<i>Bifidobacterium. lactis</i>			
<i>Lactobacillus. johnsonii</i>	<i>Bifidobacterium. longum</i>			
<i>Lactobacillus. lactis</i>				
<i>Lactobacillus. plantarum</i>				
<i>Lactobacillus. reuteri</i>				
<i>Lactobacillus. rhamnosus Gg</i>				

2.7.2. Probiyotiklerin özellikleri

Probiyotiklerin en önemli özelliklerinden biri insan sağlığı için güvenli olmasıdır, bu onları seçmek için çok önemli noktalardan biridir. Özellikle, bir probiyotik suşun karakterizasyonu, antibiyotiklere direncinin ve virülans faktörlerinin olmamasına dayanır. Bakteriyel suş tanımlaması yalnızca güvenlik nedenleriyle değil, aynı türün farklı suşlarının konak üzerinde farklı etkileri olduğundan etkinliğini göstermek için de gereklidir [31].

2.7.3. Probiyotiklerin güvenilirliği

Probiyotiklerin tüketimi son yıllarda artmıştır ve “genel olarak güvenli olarak kabul edilirler” (GRAS) olarak kabul edilirler, ancak çok sayıda çalışma, klinik pratikte güvenlik ve etkinliği konusunda tartışmalı sonuçlar göstermiştir [32].

Probiyotik kullanımıyla ilişkili olası komplikasyonlar arasında sepsis, endokardit gelişimi, gastrointestinal sistemdeki toksisite ve metabolik etkiler ve mantar enfeksiyonları sayılabilmekte ve bunun yanında antibiyotik direncinin gastrointestinal floraya aktarılabilmesi de yer almaktadır. Bazı probiyotik bakteriler, endofitik bakteri popülasyonlarında virülans faktörlerinin varlığı, virülans genlerini kabul etme yeteneği veya istenmeyen etkilere neden olabilecek antibiyotiklere direnç gibi istenmeyen özellikler göstermiştir [33].

Lactobacillus, Leuconostoc, Enterococcus ve Bifidobacterium gibi çeşitli probiyotik türleri, enfekte olmuş bölgelerden izole edilmiş ve bu faydalı bakterilerin yer değiştirmesinde sorunlara neden olmuştur. Liong, probiyotik translokasyonun sağlıklı bireylerde nadir görülen bir olay olduğuna, ancak immün sistemi baskılanmış hastalarda probiyotik translokasyonun potansiyel zararlarının ortaya çıkabileceğine dikkat çekmiştir [34].

2.7.4. Probiyotiklerin kullanımı

Bağırsak epitel hücrelerine (IEL'ler) bağlanma ve bağırsak mikrobiyotasının bileşimini düzenleme ve stabilize etme yetenekleri sayesinde, probiyotik bakteriler bağırsak bağışıklığının ve sistemlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabilmektedirler. Probiyotikler, dendritik hücrelerin (DC'ler), monositlerin, makrofajların ve daha az ölçüde B hücrelerinin işlevlerini etkileyebilmektedirler [35].

Bazı probiyotiklerin, özellikle laktik asit bakterilerinin (LAB'ler) epitelyal bağırsak duvarına yapışması, DC'lerin hem aktivasyonunu hem de proliferasyonunu doğrudan modüle ettikleri Peyser plaklarındaki yakalanmalarını desteklemektedirler. Probiyotikler, Th1-Th2 / Treg polarizasyonunu destekleyen miyeloid DC (mDC'ler) ve DC'ler tarafından TNF- α ve IL-6 tarafından, hem IL-10 ve IL-12 üretimini uyarabilmektedirler. Bazı LAB'lar ayrıca IL-12 ve TNF-a üretiminin indüksiyonu yoluyla DC'lerin olgunlaşmasını indüklerler ve plazmasitoid DC'ler (pDC'ler) tarafından IFN-a üretimini teşvik etmektedirler. Bunlara ilaveten; olgun DC'ler, NK hücre aktivasyonunu, proliferasyonunu ve sitotoksik aktiviteyi indükleyen IL-12 ve IL-15 gibi sitokin üretimi yoluyla NK hücrelerinin güçlü aktivatörleridir. Bazı probiyotik suşları ayrıca monositleri IFN- γ üretimi için IL-12 ve NK hücreleri üretmeye teşvik etmektedirler [36].

LAB'ların NK / DC'lerin çapraz reaksiyonunu şekillendirme ve NK aktivasyonunu doğrudan uyarma yeteneği, bazı probiyotik suşlarının NK'ya bağlı IFN- γ üretimini ve dolayısıyla Th1 polarizasyonunu teşvik etmede önemini vurgulamaktadır. Yaşamın erken döneminde LAB'ların varlığı, Th1 polarizasyonunu teşvik etmek ve Th2 aracılı bozuklukları önlemek için faydalı olabilmektedir

DC'lerin aktivasyonu, T hücre tepkisini, IL-10 ve IL-12 üretimini teşvik ederek mikrobiyota, doğuştan gelen bağışıklık ve uyarlanabilir bağışıklık arasında bir bağlantı kurmaktadır. Spesifik probiyotik suşları, hücre aracılı bağışıklığı artırarak doğrudan bir B hücresi tepkisine neden olabilmekte, humoral bağışıklığı artırabilmekte ve T hücrelerinin tepkisine neden olabilmektedir. Özellikle bağırsak lamina propria B hücreleri, dimerik IgA antikorları üreten plazma hücrelerinde farklılaşır. Salgılayıcı IgA, bağırsak epitel hücrelerinin bazolateral yüzeyinde spesifik bir taşıyıcı reseptör ile bağlandıktan sonra mukozal immünitede önemli bir role sahip olduklarından bağırsak lümenine salınmaktadır [37]. Yapılan bir çalışmada, *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* ve *Lactococcus lactis* bakterilerinin, farelerde bronşiyal mukozada IgA salgılayan hücrelerin artışına bağlı olarak solunum enfeksiyonlarını önlediğini ve azalttığını bu sonuçlarla da solunum sistemi üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [38].

Bağırsak mikrobiyotasının bileşimindeki değişikliklerin alerjik bozuklukların patogeneğinde rol oynadığının keşfi, araştırmacıların alerjik hastalıkların tedavisi ve/veya önlenmesi için diyet takviyelerinin kullanımına olan ilgisini artırmıştır [39].

Birçok çalışma, atopik dermatit ve cildin diğer alerjik belirtileri için probiyotik suşların kullanımını araştırmıştır. Deri bariyerinin yıkılması, alerjik hava yolu hastalıklarına yol açabilecek bir çok patolojik olayı tetiklemektedir. Buna bağlı olarak yapılan çalışmalar; atopik dermatiti olan çocuklarda alerjik astım gelişmesinin daha olası olduğunu göstermiştir [40]. Majama ve diğerleri, *L. rhamnosus* ile bir aylık tedaviden sonra çocuklarda atopik dermatitte hafif bir azalma ve probiyotik tüketiminden sonra çocuklarda TNF- α ve a1AT'de eşlik eden bir azalma olduğunu göstermiştir [41]. Atopik çocuklarda bağırsak mikrobiyotasının farklı kompozisyonu, doğumdan sonra mikrobiyomun hızlı değiştirilmesinin alerjik hastalığın önlenmesinde faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Kalliomäki ve arkadaşları, hamilelik sırasında ve doğum sonrası erken dönemde probiyotiklerin kullanılmasının çocuklarda egzamayı azalttığını göstermişlerdir [42]. Aynı araştırmacılar; , annelere ve bebeklere yaşamın ilk 6 ayında Lactobacillus GG verilmesinin yüksek riskli çocuklarda erken alerjik hastalıkların başlamasını önlemede olumlu etkisi olduğunu ve varsa astım ve egzamayı önemli ölçüde azalttığını bildirmektedirler [43]. Atopik dermatit tedavisi için umut verici verilere rağmen, probiyotiklerin solunum ve gıda alerjisi semptomları üzerindeki etkinliği hakkında çok az şey bilinmektedir [44].

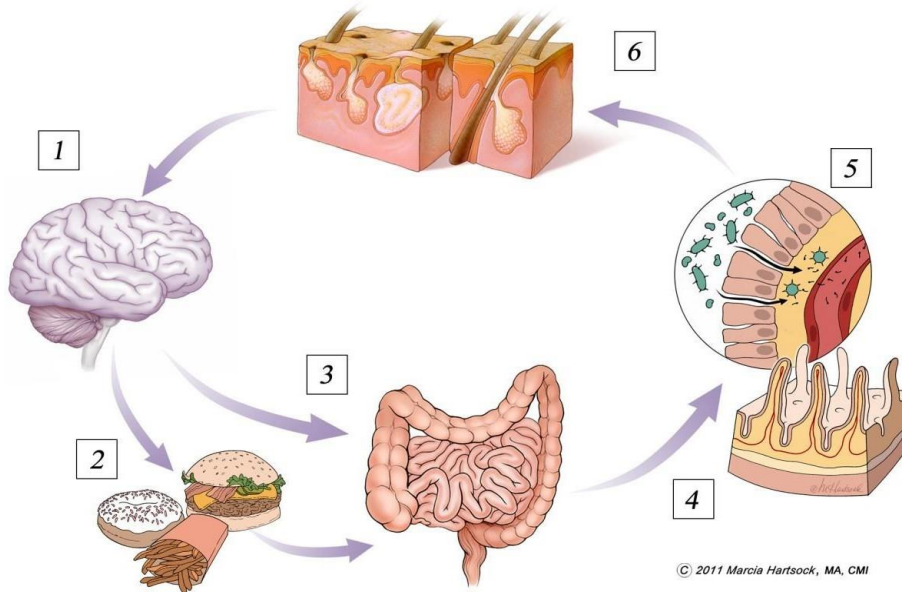
2.7.5. Tedavilerde önemi

Probiyotikler, ülseratif kolit, Crohn hastalığı ve spesifik olmayan ileit dahil olmak üzere inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde faydalı olabilmektedir. Bu hastalıkların etiyojisi tam olarak anlaşılammıştır, ancak kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlar veya inflamatuvar bağırsak hastalığı ile ilişkili oldukları açıktır [45].

2.7.6. Akne tedavisinde önemi

Son çalışmalar, probiyotiklerin ve oral takviyelerin sistemik inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerini azaltabileceğini göstermiştir [46]. Aknedeki yüksek miktarda lokal lipid peroksidasyonu, kan kaynaklı antioksidanlara olan yüksek talep nedeniyle [47], probiyotiklerin sistemik oksidatif stresi sınırlama yeteneği önemli bir terapötik yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır. Oral probiyotikler, interlökin1

alfa'daki (IL1 α) spesifik azalmaya neden olarak, inflamatuvar sitokinlerin deriye salınımını düzenleyebilmekte ve akne tedavisinde yarar sağlayabilecek potansiyele sahiptir. Psikolojik sıkıntılar, yüksek yağlı beslenme, lifsiz işlenmiş gıdaları ile birlikte bağırsak hareketliliği ve mikrobiyota profilinde değişikliklere neden olmaktadır. Normal mikrobiyal biyofilm kaybı (özellikle Bifidobacterium) bağırsak geçirgenliğine neden olur ve endotoksinler sistemik erişim kazanmaktadır. Enflamasyon ve oksidatif stres yükü artar, P maddesi yükselir, insülin duyarlılığı endotoksemi nedeniyle azalır [48]. Akne vulgarise genetik olarak duyarlı olanlarda, bu kaskad aşırı sebum üretimi, akne alevlenme ve psikolojik sıkıntı olasılığını da artırmaktadır. Hem probiyotikler hem de antimikrobiyaller bu döngüyü bağırsak düzeyinde kesmede rol oynayabilmektedirler. (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Akne Vulgaris'te Bağırsak-Beyin-Deri Döngüsü [49]

2.7.7. Yaygın probiyotikler

En yaygın olarak kullanılan ve tanınan probiyotikler özellik taşıyan bakteriler Enterococcus (tipik temsilcisi *E.faecium*); Lactobacillus (*L.acidophilus*, *L.casei*, *L.paracasei*); Bifidobacterium (*B.bifidum*, *B.longum*, *B.breve*, *B.infantis*, *B.adolescentis*) dir. Lactobacillus Probiyotiklerin insan vücudunda birçok işlevi bulunmaktadır. Bunlar; normal makrobiyotik dengeyi korumak (hem sindirim hem de dermal), kısa zincirli asitler üretmek, kandaki azotun potansiyel olarak riskli içeriğini düşürmek, metabolik faktörler üretmek, antibiyotikler ile tedaviden sonra normal

mikrobiyotanın oluşturulabilmesi için aktif bir rol oynamak, sindirim-bağırsak sisteminde ikincil safra asitlerinin üretimini inhibe etmek, grup B ve K vitaminlerini sentezlemek, bağışıklık sistemi ve koruyucu fonksiyonları etkinleştirmek [50], prokanserojenlerin üretiminin azaltılması için immünmodülatör etki göstermek ve dolayısıyla tümör oluşumunun önlenmesini sağlamaktır [51].

2.7.8. Probiyotiklerin topikal uygulaması

Yerleşik mikrofloranın korunması, cildin normal ve sağlıklı işlevlerini sürdürmesinin etkili bir yolu olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, insan derisinde yaşayan mikrobiyal türlerin sayısı, fiziksel ve biyokimyasal faktörlerle sınırlıdır. Probiyotik mikroorganizmalar, cilt sağlığını korumak ve patojenlerin büyümesini engellemek için pH'ı düşürmek gibi farklı mekanizmalar kullanırlar. Cildin asidik ortamı, bakterilerin girişini engellemektedir; bununla birlikte, cilt yüzeyindeki amino asitler, tuzlar ve diğer maddelerle birlikte, nemin kaybolmasını önlemek için bir bariyer sağlamaktadır. Probiyotiklerin ilginç bir özelliği, asidik moleküllerin (yani laktik asit) üretimini içeren ve böylece çevreyi asitleştiren fermentatif metabolizmadır [52]. Diyabetik ayak ülseri (DAÜ) gibi kronik durumların tedavisi, enfeksiyon için artan duyarlılık ve gecikmiş yara iyileşmesi nedeniyle zordur. Mevcut tedavinin karmaşıklığı, olumsuz etkiler ve mikrobiyal direnç, DAÜ 'nün yönetimi için alternatif bir yaklaşımın gerekliliğini vurgulamaktadır. Çeşitli hastalıklarda probiyotik uygulama ile ilişkili artan kanıtlar, yara iyileşmesi ve enfeksiyonunda da kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. DAÜ, diyabet prevalansının artmasıyla büyüyen bir sağlık sorunudur. DAÜ olan hastalar, tüm diyabetik hastaların yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır ve dünya çapında baskın bir travmatik olmayan amputasyon kaynağıdır [53].

Probiyotikler ya tek bir tür ya da farklı organizmaların bir karışımıdır ve yara bölgesinde lenfositler, makrofajlar ve polimorfonükleer hücreler gibi iltihaplı hücrelerin birikmesini takiben bağışıklık sistemini güçlendirme, antiinflamatuvar ve yara iyileşme sürecini geliştirme yeteneğine sahiptir [54].

Probiyotiklerin anti-infektif mekanizmaları, patojenik mikroorganizmalarla rekabet etme veya konağın bağışıklıkcevabını modüle etme yetenekleri ile ilgilidir. Laktobasiller, organik asitler, hidrojen peroksit ve karbon peroksit gibi peroksitler,

düşük moleküler ağırlıklı antimikrobiyal maddeler, diasetil, bakteriyosinler ve adezyon inhibitörleri gibi çeşitli antimikrobiyal maddeler üretebilmektedirler [55].

Probiyotikler aynı zamanda patojen bakterilerin yayılmasını önleyerek, enfeksiyon riskini azaltarak ve yara iyileşmesini teşvik ederek vücudumuzun bağışıklığını arttırmaktadırlar. Böylece probiyotikler diyabetik yara ve enfeksiyonunu yönetmek için güvenli, etkili ve daha ucuz bir alternatif sağlamaktadır. Dermisin içinde, patojenle ilişkili moleküler modeller (PAMP'ler) için major sinyal reseptörü olarak işlev gördüğü tespit edilen tip 1 transmembran proteini olan reseptörler (TLR'ler) gibi geçiş yollarını aktive ederler [56].

Probiyotikler (PKB'ler) beta defensinler adı verilen proteinlerin üretimini aktive ederler. Beta defensinler, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikleri sayesinde cildin bağışıklık fonksiyonlarını yükseltirler. Ek olarak, TLR'ler kollajen ve elastinin yukarı regülasyonunda, hücre solunumunda artış, cilt berraklığında, dokuda ve genel görünümde iyileşmede etkili olurlar [57].

Kronik yaralar, tanım gereği, kronik bir enflamatuvar durumda kalan ve bu nedenle iyileşme sürecinin normal kalıplarını takip etmeyen yaralardır. Kronik yaralar ve özellikle yanıklar nadiren sterildir. Yanık yarası yüzeyi yaralanmadan hemen sonra sterildir, ancak 48 saat içinde saç foliküllerinden, cilt uzantılarından ve ortamdaki Gram pozitif mikroorganizmalarla kontamine olurken ve 5-7 gün sonrası ise, Gram negatif mikroorganizmalar bu bölgeyi istila ederler. Yanıklar, cildin mekanik bütünlüğünün bozulmasına ve mikroorganizmaların serbestçe çoğalmasına izin veren genel bağışıklıklığın baskılanmasına neden olurlar. Yanıktan izole edilen yaygın patojenler *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* ve çeşitli koliformlardır. Diğer streptokoklar, anaerobik organizmalar ve mantarlar da enfeksiyonlara neden olabilirler. Bakteriyel enfeksiyonlar genellikle antibiyotiklerin uygulanmasıyla tedavi edilebilir; ancak, bu her zaman etkili değildirler. Başarılı bir antibiyotik tedavisinin yapılamamasının nedeni; bakterilerin çoğalma, yapısal stabilite ve kendilerini korumasını sağlayan biyopolimer yapısında olan mikrokolonilerden oluşan biyofilm tabakasıdır. Biyofilm tabakası; bakterilerin çeşitli antiseptiklere ve antimikrobiyal ajanlara karşı direnç göstermesini ayrıca konakçı bağışıklık cevabında tepkilere neden olmaktadır. Enfeksiyonu önlemek için etkili bir yaklaşım olan antibakteriyel terapinin yanında patojenik organizmaların yerini almak için probiyotik

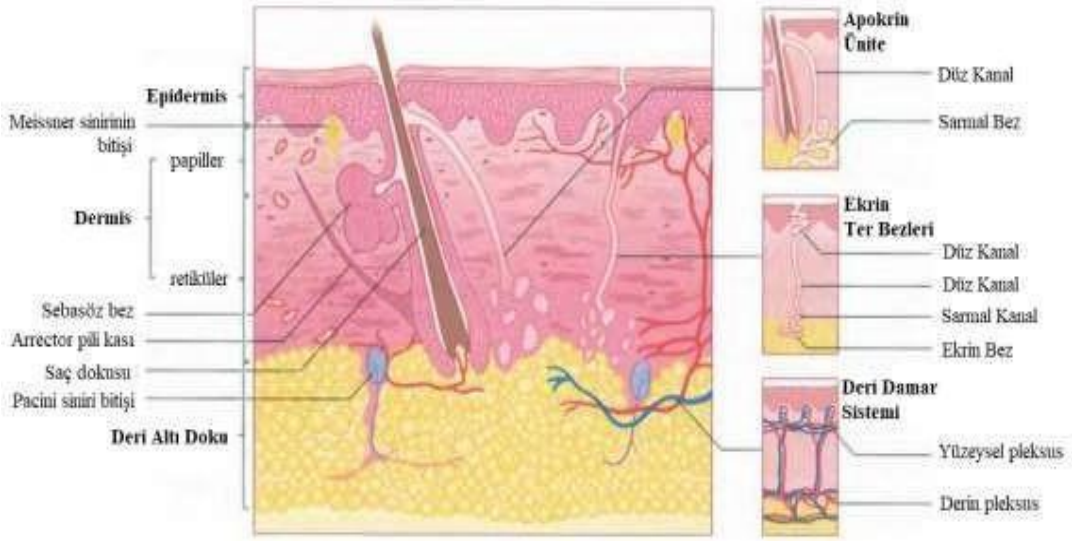
kullanımı da önerilmektedir. Valde'z ve arkadaşları; *L. plantarum* ve/veya ürünlerinin yanıklarda ortaya çıkan *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel terapötik ajanlar olduğunu öne sürmüşlerdir. Yazarlar, *L. plantarum* ile yapılan *in vitro* tedavinin *P. aeruginosa* nedeniyle oluşan biyofilm tabakasında yer alan quorum algılayan açıl-homoserin-laktonlar ve elastaz sinyal moleküllerinin, üretimini inhibe edebildiğini göstermiştir. Öte yandan, yanmış bir fare modelinde gelişen *P. aeruginosa* yanık enfeksiyonunda; *L. plantarum* kullanılarak yapılan 5, 10 ve 15 gün subkutan enjeksiyonları sonucunda, alınan cilt, karaciğer ve dalak örneklerinde *P. aeruginosa* kolonizasyonunun inhibe edildiğini ve buna bağlı olarak da dokuda önemli bir iyileşmeye yol açtığını görmüşlerdir [58,59].

2.8. Deri

Deri vücudun en büyük organıdır. Deri bizi mikroplardan ve çevresel etmenlerden korur, vücut ısısının düzenlemeye yardımcı olur ve dokunma, sıcaklık ve soğukluk hissini sağlar. Derimiz, deri mikrobiyomumuzu oluşturan milyonlarca bakteri, mantar ve virüse ev sahipliği yapar. Bağırsaklarımızdaki mikroorganizmalar gibi cildimizdeki mikroorganizmalar da istilacı patojenlere karşı savunmada, bağışıklık sistemimizi oluşturmada ve doğal ürünleri parçalamada önemli rol oynar. İnsan vücudundaki en büyük organ olan deri, faydalı mikroorganizmalara ev sahipliği yapar ve patojenlerin girişini engelleyen fiziksel bir bariyer görevi görür [60]. Bariyerin kırıldığı durumlarda veya komensaller ve patojenler arasındaki denge bozulduğunda, cilt hastalığı veya hatta sistemik hastalık ortaya çıkabilir. İnsan cildinin yağlı, nemli veya kuru bölgeleri fizyolojik özelliklerine göre sınıflandırılabilir. Mikrobiyota bileşiminin farklı bölgelerde incelenmesi, dirsek içinde egzama ve dirsek dışında sedef hastalığı gibi belirli cilt bölgelerine yaygın olarak neden olan yaygın cilt koşullarının etiolojisini aydınlatmada değerlidir [61].

2.8.1. Deri katmanları

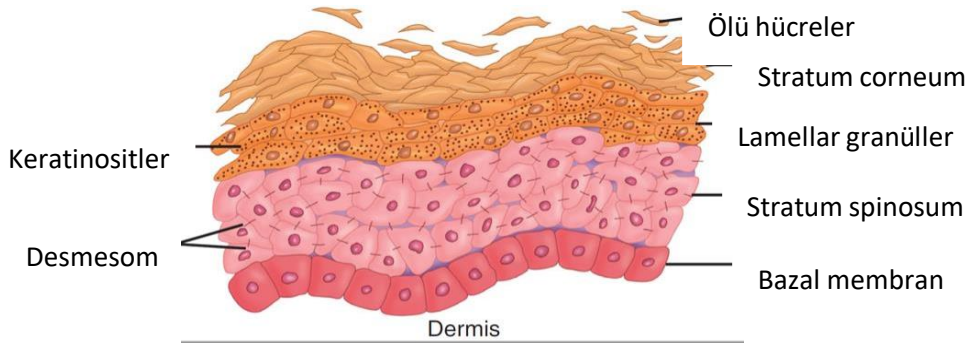
Derinin üç katmanı vardır, cildin en dış tabakası olan epidermis su geçirmez bir bariyer sağlar ve cilt tonumuzu oluşturur. Epidermin altındaki dermis, sert bağ dokusu, saç kökleri ve ter bezleri içerir. Daha derin deri altı dokusu (hipodermis) yağ ve bağ dokusundan oluşur. Derinin rengi, melanin pigmentini üreten melanosit adı verilen özel hücreler tarafından oluşturulur. Melanositler epidermiste bulunur [62]. (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. İnsan derisi katmanları [63].

2.8.1.1. Epidermis

Epiderminin beş farklı hücresel katmanı vardır. Bu katmanlar (yüzeyselden derine) *stratum corneum*, *stratum lucidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* ve *stratum germinativum* içerir (Şekil 2.4). Mitoz sırasında, *stratum germinativumdaki* hücreler, epiderminin daha yüzeysel katmanlarını doldurmak için yüzeysel olarak göç eder. Hücrelerin daha derin katmanları yapıda sütunludur, ancak yüzeyle doğru göç ettikçe, hücreler farklılaşma gerçekleştikçe görünüşte daha düz hale gelirler. Keratinositler yukarı doğru göç ettikçe olgunlaşırlar ve keratin ve lipitlerle doldururlar. Keratinositler *stratum granulosumda* apoptoza girer ve daha sonra *stratum corneuma* ulaştıklarında daha yeni hücrelere yol açmak için dökülür. Keratinizasyon olarak bilinen bu süreç, yaşam boyunca sürekli olarak gerçekleşir [64].



Şekil 2.4. Epiderminin katmanları [65].

2.8.1.2. Dermis

Dermis, epidermisin derinliklerinde ve deri altı yağ tabakasının yüzeyselinde bulunan mezenkimal kökenli bir bağ dokusu tabakasıdır. Dermisin bileşimi, hem kollajen hem de elastik liflerden oluşan esas olarak liflidir. Lifli bileşenler arasında hyaluronik asit, proteoglikanlar ve glikoproteinler gibi glikozaminoglikanlar içeren amorf bir hücre dışı "zemin maddesi" bulunur [66].

Dermis iki katmana ayrılır: papiller dermis ve retiküler dermis. Papiller dermis, epidermisin derinliklerinde yatan yüzeysel tabakadır. Papiller dermis, oldukça vasküler olan gevşek bağ dokusundan oluşur. Retiküler tabaka, dermisin büyük kısmını oluşturan kalın bir yoğun bağ dokusu tabakası oluşturan derin tabakadır. Dermiste kan damarları, sinir uçları, saç kökleri ve bezler bulunur. Dermisin bağ dokusunda fibroblastlar, makrofajlar, adipositler, mast hücreleri, Schwann hücreleri ve kök hücreler dahil olmak üzere birçok hücre tipi bulunur [67].

2.8.1.3. Hipodermis

Hipodermis, cildin en iç tabakasıdır ve lipositlerden oluşur. Dermis ile deri arasında bulunan yağ dokusu tabakası olarak tanımlanır. Kalınlığı anatomik bölgeye, yaşa, bireyin cinsiyeti, ırkı, endokrin ve beslenme durumuna göre değişir [68]. Doku yapısal ve işlevsel olarak sinir yoluyla dermis ile iyi bir şekilde bütünleşir ve damar ağları ve kıllar ve sinirler gibi epidermal uzantıların sürekliliği sağlar. Obez olmayan kişilerde, tüm vücut yağlarının yaklaşık %80'i hipodermis içinde bulunur [69].

2.9. Covid-19 Pandemisi

Merkezi Çin Halk Cumhuriyeti'nin Hubei Eyaletinde bulunan yeni koronavirüs SARS-CoV-2'nin (koronavirüs hastalığı 2019; eski adıyla 2019-nCoV) mevcut salgını, diğer birçok ülkeye yayıldı. 30 Ocak 2020'de DSÖ Acil Durum Komitesi, Çin'de ve uluslararası yerlerde artan vaka raporlama oranlarına dayalı olarak küresel bir sağlık acil durumu ilan etti. Vaka tespit oranı günlük olarak değişir ve Johns Hopkins University 1 ve diğer forumlar tarafından sağlanan web sitesinde neredeyse gerçek zamanlı olarak izlenebilir [70].

Coronavirüsler, insanları ve çok çeşitli hayvanları enfekte eden büyük zarflı, pozitif tek sarmallı RNA virüsleridir. Coronavirüsler ilk olarak 1966'da soğuk algınlığı olan 2 hastadan virüsleri yerleştiren Tyrell ve Bynoe tarafından tanımlandı. (taç). Dört

alt ailesi vardır: *alfa-*, *beta-*, *gama-* ve *delta-*koronavirüsler. Alfa ve beta-koronavirüsler görünüşe göre memelilerden, özellikle yarasalardan kaynaklanırken, gama ve delta virüsleri domuzlardan ve kuşlardan kaynaklanır. Genom boyutu 26 kb ile 32 kb arasında değişmektedir. İnsanları enfekte edebilen yedi koronavirüs alt tipi arasında beta-koronavirüsler ciddi hastalık ve ölüme neden olabilirken, *alfa-*koronavirüsler asemptomatik veya hafif semptomatik enfeksiyonlara neden olur [71].

Pnömoni, SARS-CoV-2 ile ilişkili hastalık olan COVID-19'un vaka tanımlamasına izin veren ilk klinik belirtisiydi. Daha yakın tarihli raporlar, özellikle küçük çocuklar arasında gastrointestinal semptomları ve asemptomatik enfeksiyonları da tanımlamaktadır. Semptomatik hastalarda, ateş, öksürük, burun tıkanıklığı, yorgunluk ve üst solunum yolu enfeksiyonlarının diğer belirtilerinden oluşan hastalığın klinik belirtileri genellikle bir haftadan kısa bir süre sonra başlar. Enfeksiyon, başvuru sırasında bilgisayarlı tomografide görüldüğü gibi, hastaların yaklaşık %75'inde pnömoniye karşılık gelen nefes darlığı ve şiddetli göğüs semptomları ile birlikte şiddetli hastalığa ilerleyebilir. Pnömoni genellikle semptomatik bir enfeksiyonun ikinci veya üçüncü haftasında ortaya çıkar. Viral pnömoninin ayırt edici belirtileri arasında oksijen saturasyonunda azalma, kan gazı sapmaları, buzlu cam anormallikleri, yamalı konsolidasyon, alveolar eksüdal ve interlobüler tutulum ile göğüs röntgeni ve diğer görüntüleme tekniklerinde görülebilen değişiklikler yer alır ve sonuçta bozulmayı gösterir. Lenfopeni yaygın gibi görünmektedir ve inflamatuvar belirteçler (C-reaktif protein ve proinflamatuvar sitokinler) yükselmiştir [72].

2.9.1. El dezenfektanları

Önceki bulaşıcı patojenlerde olduğu gibi, bu virüsün yayılmasını önlemenin birçok yolundan biri de ellerinizi sık ve etkili bir şekilde yıkamaktır. Sağlık ve toplum ortamlarında, alkol bazlı el dezenfektanları, sabun ve suyla geleneksel el yıkamaya popüler bir alternatif haline geldi. Bazı el dezenfektanları çeşitli kombinasyonlarda mevcuttur. Bu pandemi sırasında el dezenfektanlarının popülaritesi göz önüne alındığında, bu yeni virüse karşı hangi el dezenfektanının en iyi sonucu verdiğini anlamanız önemlidir [73].

2.9.1.1. Alkol bazlı el dezenfektanları (ABHS)

Alkol bazlı el dezenfektanları (ABHS), koronavirüs hastalığına neden olan virüs olan SARS-CoV-2 ile mücadelede önemli bir araç olarak ortaya çıktı. Hastalık tüm dünyaya hızla yayıldığından, bulaşmasını en aza indirmek için sıkı önlemler ve kontroller gerektirmiştir. Savunulan kilit önlemlerden biri el hijyeninin sağlanması ihtiyacıdır [74].

El dezenfektanları, patojenik mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek için ellere sürülerek sürülen ürünlerdir. Bu ürünler, uygulamadan sonra hızla kuruyacak şekilde tasarlanmıştır, böylece sabun, su ve havlu gibi kurutma yardımcılara olan ihtiyacı ortadan kaldırır. El dezenfektanlarının rahatlığı ve taşınabilirliği, ABHS'nin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından alternatif bir el hijyeni önlemi olarak önerilmesi nedeniyle 2020'de yaygın olarak kullanılmasına yol açmıştır [75].

Etanol ve izopropanol (2-propanol), ABHS'de yaygın olarak kullanılan alkollerdir. Tipik olarak yumuşatıcılar, nemlendiriciler ve kokular gibi birkaç başka içerikle birlikte sulu karışımlar olarak formüle edilirler. ABHS performansının ana odak noktası alkol konsantrasyonu olmasına rağmen, eklenen bileşenler ve yardımcı faktörler bunların etkinliği, güvenliği ve uzun vadeli kullanımında kritik bir rol oynamaktadır [76].

2.9.1.2. Alkolsüz dezenfektanlar(NABHS)

Alkolsüz dezenfektanlar için, ana aktif bileşen olarak alkolün yerini çeşitli antiseptikler almıştır. NABHS'deki en yaygın aktif bileşen, bir kuaterner amonyum olan benzalkonyum klorür, yaygın olarak kullanılan bir dezenfektandır. Benzalkonyum klorür antiseptikleri genellikle alkol bazlı olanlardan daha az tahriş edicidir, ancak yeni kanıtlar, bunların önceden düşünülen daha sık kontakt dermatite neden olabileceğini düşündürmektedir [77].

2.9.1.3. El dezenfektanlarını cilt üzerinde olumsuz etkileri

Sık el dezenfeksiyonu, atopik dermatit (kuru cilt) gelişiminden tahriş edici kontakt dermatite (ICD) veya nadiren alerjik kontakt dermatit yanıtına (ACD) kadar değişen cilt dokusunda çeşitli değişikliklere neden olabilir. Toplu olarak, bu cilt koşullarına çeşitli fiziksel, kimyasal ve immünolojik mekanizmalar neden olur. Sıkı el

hijyeni önlemleri alındığında, bu mekanizmalar öncelikle aşağıdaki koşullar tarafından tetiklenebilir [78].

Cildin uzun süre suya ve nemli ortamlara maruz kalması: Stratum corneum'un (cildin en dış tabakası) ve hücreler arası lipidlerin üst yapısının aşırı şişmesine neden olarak cildin geçirgenliğini ve cildin fiziksel veya kimyasallara duyarlılığını artırır. Ek olarak, uzun süre koruyucu eldiven giymek aşırı terlemeye ve artan neme neden olabilir, bu da tahriş edici maddelere karşı inflamatuvar yanıtı daha da artırır [79].

1. Sabunların, yüzey aktif maddelerin, deterjanların veya çözücülerin tekrarlanan kullanımı: Bu ev temizlik maddeleri, zayıf tahriş edicidir ve genellikle çok iyi tolere edilir. Bununla birlikte, bu maddelere tekrar tekrar maruz kalma, kronik kümülatif ICD'ye yol açabilir. Ayrıca, kişisel veya ailede atopik dermatit öyküsü olan hastalarda, cilt tahriş edici maddelere karşı duyarlılıklarını artıran, kronik olarak işlevsiz bir kutanöz bariyer bulunur .Nadiren, bazı kişilerde sabun veya deterjan gibi bir el hijyeni ürünündeki bir bileşene karşı T hücresi aracılı, gecikmiş tipte bir aşırı duyarlılık reaksiyonu olan ACD gelişebilir [80].
2. Alkol bazlı el dezenfektanlarının tekrar tekrar kullanımı: DSÖ, sabun ve su bulunmadığı ve eller gözle görülür şekilde kirlenmediği sürece en az %60 alkol içeren el dezenfektanlarının kullanılmasının makul bir alternatif olduğunu belirtmektedir.Bu ürünlerin sık kullanımı da ciltte kuruluğa ve tahrişe neden olabilir. Öte yandan, alkole alerjinin kendisi bilinmemektedir ve alkol el jellerine eklenen diğer bileşiklere atfedilebilen ACD oldukça nadirdir. Bu, sağlık profesyonellerinin 10 yıl boyunca ürüne herhangi bir alerjik reaksiyon bildirmeden ticari alkol bazlı el dezenfektanını rutin olarak kullandığı İsviçre'deki büyük bir hastanenin deneyimiyle kanıtlanmıştır [81].

Bu zamanlarda, COVID-19'un yayılmasına karşı etkili koruma sağlamak ve olumsuz cilt reaksiyonları riskini azaltmak için el yıkama alışkanlıklarımızı uyarlamak çok önemlidir. Bu doğrultuda aşağıdaki koruyucu önlemleri almayı çok faydalı buluyoruz [82].

1. DSÖ'nün önerdiği gibi, özellikle halka açık alanlarda bulunduktan sonra, yemeklerden önce, öksürdükten veya hapsirdikten sonra ve sonrasında eller en az 20

saniye boyunca ılık su ve sabun kullanılarak iyice (tırnaklar, interdigital ağlar, bilekler dahil) yıkanmalıdır.

2. Yıkandıktan sonra, cildi fiziksel tahriş neden olmadan hafif manevralarla ellerinizi durulamanızı öneririz.

3. El temizliğinden sonra nemlendirici cilt bakım ürünleri uygulamak, cildi nemli tutmak ve daha fazla anormal cilt reaksiyonunu önlemek için en önemli adımdır. Bu nemlendirici ürünler, özellikle el yıkamadan hemen sonra, günde birkaç kez bolca uygulanmalıdır.

4. Nemlendiricilerin birkaç alt türü vardır, ancak nemlendiricilerin tıkayıcı yumuşatıcılarla birleştirilmesinin cilt bariyerinin kalitesini verimli bir şekilde iyileştirdiği büyük ölçüde belirtilir. Hümektanlar (örneğin, topikal üre, propilen glikol) çevreden ve derinin daha derin katmanlarından suyu stratum corneum'a çekebilir. Oklüzif yumuşatıcılar (örneğin petrolatum bazlı ürünler, lanolin, mineral ve bitkisel yağlar, mumlar) su kaybını önler ve tahriş giderir. İkisinin kombinasyonu, korneum seviyesinde suyu çekmek ve yalıtılmak ve cildi yatıştırmak için faydalıdır.

5. Kalın yağlı kremler ve merhemler (örneğin, petrol jölesi), losyonlara göre kseroza karşı daha yüksek koruma sağlar. Temas hassasiyeti riskini azaltmak için kokusuz ve hipoaerjenik ürünler kullanılması şiddetle tavsiye edilir.

6. Sabun ve su bulunmadığında, CDC alkol bazlı el dezenfektanlarının (en az %60 alkol içeren) kullanılmasının virüsü yok etmek için etkili bir alternatif olduğunu önermektedir. Bunlar tahriş edici olabileceğinden, cildin hemen ardından nemlendirilmesi önemlidir. Sonrasında nemlendirici krem sürmek bu tip dezenfektanların özelliklerine ve etkinliğine hiçbir şekilde müdahale etmez.

7. Koruyucu eldivenlerle çalışan kişilerin eldivenlerini her çıkardıklarında ellerini yıkamaları ve nemlendirici sürmeleri şiddetle tavsiye edilir. Ayrıca nemi azaltmak için sistematik olarak değiştirilmeli ve sadece kuru ellere uygulanmalıdır.

8. Kolayca tahriş edici dermatit formları geliştiren çok hassas cilde sahip kişiler için, inflamasyonun belirti ve semptomlarını azaltmak için kısa süreli topikal kortikosteroidler kullanılabilir [83,84].

2.10. Deriye Uygulanan Kremler

Kremler, deri üzerinde kolay uygulanabilmeleri ve uzaklaştırılmaları nedeniyle çok eski zamanlardan beri topikal preparatlar olarak kozmetik ürünlerin önemli bir parçası olarak kabul edilmiştir. Kozmetik amaçlı olarak, farmasötik kremler temizlemek, güzelleştirmek, görünümünü değiştirmek, nemlendirmek vb. için kullanılır. Kesik, yanık ve cilt yaralarını iyileştirmenin yanı sıra deriyi bakteri ve mantar enfeksiyonlarından koruma gibi çeşitli uygulamaları vardır. İnsan derisi çok hassastır, ancak kendini iyileştirme yeteneğine sahiptir. Bununla birlikte, doğal iyileşme süreci zaman alabilir ve özellikle bir yaralanmanın erken evrelerinde enfeksiyon riski de vardır. Bu gibi durumlarda iyileşme sürecini hızlandırmak ve yarayı enfeksiyondan korumak için yaralı bölgeye ilaçlı kremler sürülebilir [85].

"Kozmetik" kelimesi, süslemek anlamına gelen Yunanca "kosmasticos" kelimesinden türetilmiştir. O zamandan beri, kişinin görünümünü güzelleştirmek veya geliştirmek için kullanılan herhangi bir malzemeye kozmetik denir [86].

Kozmesötikler ve ya "aktif kozmetikler" olarak tanımlanan ürünler ise, kozmetiklerle ilaçlar arasında geniş bir yelpazeye girer. Kozmesötikler, deri ve deri eklerinin yapı ve fonksiyonlarını biyofizyolojik etkiyle olumlu yönde değiştirmek suretiyle kozmetik etki gösteren preparatlardır [87].

Dermokozmetik, günümüzde çeşitli cilt bozukluklarının bilimsel tedavisinde kozmetik kullanan bir dermatoloji dalıdır [88]. Dermokozmetik kapsamında bulunan ürünler ilaç olarak tanımlanamaz. Dermokozmetik ürünlerinin amacı doğal bileşenler ile cilt hastalıkları durumunu yavaşlatmak, hastalığa neden olacak etkenleri doğal yollarla çözmek olsa da ilaçlar gibi hızlı bir etki sağlamadıkları için ilaç sınıfında bulunmamaktadır [89].

2.10.1. Krem formülasyonları

Kremler s/y veya y/s tipte olup, bir dizi kozmetik işlevin yanı sıra temizleme, güzelleştirme, estetiği iyileştirme, koruma ve tedavi etme işlevleri için kullanılır. Bu topikal formülasyonlar ilaç endüstrisinde geliştirilen stratejiler kullanılarak oluşturuldukları için sağlıklı ürünler olarak sınıflandırılır. Geliştirilen kremler bitkisel veya tıbbi desteklidir ve insanlar bunları deri problemlerini tedavi etmek için kullanır [90]. Uygun bir baz içinde çözülmüş veya dağılmış bir veya daha fazla ilaç maddesi

içerirler. Kremler, faz bazında y / s veya s / y tipi emülsiyonlar olarak sınıflandırılabilir [91].

Kremlerinin üretiminde kullanılan hammaddeler şunlardır

- Su: Bu, herhangi bir krem formülasyonunda en önemli ve yaygın olarak kullanılan bileşendir. Bunlar en ucuz ve en kolay bulunabilenlerdir. Kremdeki diğer bileşenleri çözmek için çözücü olarak su kullanılır. Su toksinler, kirleticiler, bakteriler ve daha fazlasını içermez. Su ayrıca emülsiyonlar da oluşturabilir, bu formülasyonda kullanılan su miktarına bağlıdır ve bazen su içinde yağ emülsiyonu ve bazen de yağ ve su fazlarının miktarına bağlı olarak su içinde yağ emülsiyonu olarak anılır [92].
- Yağ, ve mumlar: yağlar ve mumlar kremlerin önemli bir bölümünü oluşturur. Yağlar koyulaştırıcı görevi görür, mumlar bir emülgatör görevi görür.
- Mineral yağ: Mineral yağ berrak, kokusuz ve ağır rafine yağdır ve kozmetikte yaygın olarak kullanılır. Mineral yağ katılaşamaz ve derinin gözeneklerini tıkayamaz, nadiren alerjik reaksiyonlara neden olur ve vücuttan su kaybını azaltmaya yardımcı olur, vücudu nemli tutar.
- Gliserit yağı: Gliserit yağı çoğunlukla bitkisel yağlardır. Gliserit yağlarına örnek olarak, hindistancevizi yağı, arakis yağı, badem yağı, hint yağı vb verilebilir.
- Bitkisel yağ: Derinin yüzeyinde bir bariyer oluşturur ve su kaybını azaltır, cildin dolgunluğunu korumaya yardımcı olur. Örneğin avokado yağı, badem yağı, vb [93].
- Lanolin: Bir koyunun yün yağından elde edilir. Bu bileşenler cilt yüzeyinde bir yağlayıcı görevi görür ve bu da cilde pürüzsüz ve yumuşak bir görünüm kazandırır. Lanolin, emülsiyon oluşturmaya yardımcı olur ve kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde kullanılan diğer maddelerle iyi karışır.
- Renkler: Modern teknolojinin gelişmesinden önce, renkler öncelikle doğada bulunan zerdeçal, safran, çivit vb. maddelerden geliyordu. 19. yüzyıldan sonra laboratuvarında renkler üretildi ve daha fazla renk yoğunluğu ile çok daha kararlı olduğu tespit edildi.
- Nemlendiriciler: Bunlar çoğu cilt bakım formülasyonunda yer alan çok önemli fonksiyonlu bileşenlerdir. Nemlendiriciler hidroskopik organik bileşiklerdir.

- Bunlar nemi tutabilen ve ya emebilen malzemelerdir. Nemlendiricinin örnekler betain, sodyum PCA, Sodyum-L-Laktat vb.
- Parfümler: Parfüm, hoş ve tatlı bir koku da dahil olmak üzere bir koku veya düzen veren bir maddedir [94].
- Vitaminler: Vitaminler tüm derinin ve vücudun fizyolojik fonksiyonunun korunmasında çok önemli bir rol oynar. A, B, C, E vitaminleri vb. genellikle kremlerin formülasyonunda kullanılır.
- Koruyucular: Depolama, sevkiyat ve tüketici kullanımı sırasında kontaminasyonun ve mikroorganizma neden olduğu değişiklikleri önlemek için kozmetikte koruyucuların kullanılması esastır. Antioksidanlar, oksijene maruz kalmanın neden olduğu değişiklikleri korumak için de kullanılabilir [95].

2.10.1.1. Y/S emülsiyon kreminin hazırlanması

Yağda çözünen ve emülgatörler, bir kap içindeki bir su banyosunda karıştırılır. Koruyucular ve suda çözünen bileşenler, ayrı bir su kabına eklenir. 75 ° C'de eritilir .Yağ fazı ısıtıldıktan sonra bir havana konur ve su fazı yavaş yavaş ilave edilerek tık sesi gelene kadar ezilir . Son olarak, sıcaklık soğuduğunda, parfüm maddeleri veya koruyucular eklenir. Bu preparatta, su içeriği yağdan daha fazla olacaktır [96].

2.10.1.2. S/Y emülsiyon kreminin hazırlanması

Yağda çözünen bileşenler ve emülgatör bir beherde alınır ve 75 ° C'de eritilir ve başka bir beherde su ve suda çözünen bileşenler alınır ve 75 ° C'de eritilir. Eritildikten sonra, havaneli içinde su fazı alınır ve yavaşça yağ fazı eklenir ve tıklama sesi duyulana kadar öğütülür.. Bu preparatta su fazı daha az, yağ fazı daha fazla olacaktır [97].

2.10.1.3. Kremlerde yapılan karakterizasyon çalışmaları

1.pH tayini: Kremin pH değeri oda sıcaklığında bir çözücü ile seyreltilmiş yeterli miktarda formülasyon kullanılarak standart bir dijital pH metre ile ölçülebilir.

2.Viskozite: Formüle edilmiş kremlerin viskozitesi Brookfield Viskozimetresi kullanılarak belirlenebilir.

3.Homojenlik: Formülasyon, görsel görünüm ve dokunma ile homojenlik açısından test edilmiştir.

4. Boya testi: Kırmızı boya krem ile karıştırılır. Bir slayda bir damla krem koyun ve bir kapakla örtün ve mikroskop altında inceleyin. Dispersiyon küresi kırmızı ve zemin renksiz görünüyorsa y / s tipindedir ve ters durum s/ y tip kremlerde görülür.

5.Fiziksel görünüm: Kremin fiziksel görünümü rengi, pürüzlülüğü ve dokusu ile belirlenir.

6. Stabilite çalışması: Bu çalışma, hazırlanan ürün üzerinde ICH yönergelerine göre yapılır [98].

2.11. Taşıyıcı Sistemler

2.11.1. Emülsiyonlar

Kozmetikte kullanılan farklı emülsiyon dağıtım sistemleri şunlardır:

- Mikroemülsiyonlar;
- Sıvı kristaller;
- Çoklu emülsiyonlar;
- Nanoemülsiyonlar;

2.11.1.1. Mikroemülsiyonlar

Mikroemülsiyonlar şeffaf (veya yarı saydam), kararlı, yüzey aktif madde moleküllerinden oluşan bir ara yüzey filmi ile stabilize edilmiş ve <100 nm çapa sahip su ve yağ dispersiyonlarıdır. Mikroemülsiyon oluşumu çoğunlukla üç ila dört bileşenin bir kombinasyonunu içerir – yağ, su, yüzey aktif madde/maddeler ve yardımcı yüzey aktif madde/maddeler [99].

2.11.1.2. Sıvı kristaller

Sıvı kristal faz tamamlanmamış bir erime durumunu temsil eder ve termodinamik olarak kararlıdır . Sıvı kristaller esasen iki sınıftan oluşur – liyotropik sıvı kristaller ve termotropik sıvı kristaller (smetik ve nematik tip). Sıvı kristaller,

emülsiyon damlacıkları etrafında çok tabakalar oluşturarak van der Waal'ın enerjisini azaltır ve emülsiyon stabilitesini artıran viskoziteyi artırır. Bu tabakalar, birleşmeye karşı reolojik engeller olarak hareket eder [100].

2.11.1.3. Çoklu emülsiyonlar

Çoklu emülsiyonlar, dağılmış fazın globüllerinin, çoğu durumda sürekli faz ile aynı olan daha küçük damlacıkları kapsüllediği emülsiyonlardır. İki ana çoklu emülsiyon türü, iç ve dış sulu fazların bir yağ tabakası ile ayrıldığı s/y/s ve suyun iki yağ fazını ayırdığı y/s/y'dir. Kozmetikte en yaygın kullanılan tip s/y/s'dur. Kozmetikte, uzun süreli cilt nemlendiricileri, sürekli salimli aerosol kokuları ve hassas biyolojiklerin korunması, parfümler için kişisel bakım formülasyonları, vitaminler, cilt lipidleri ve serbest radikal süpürücüler hazırlamak istendiğinde çoklu emülsiyonlar yararlıdır [101].

2.11.1.4. Nanoemülsiyonlar

Nanoemülsiyonlar, aktif olan farmasötik bileşenlerin verilmesini iyileştirmek amacıyla üretilen nano boyutlu emülsiyonlardır. Nanoemülsiyonlar, iki karışmaz sıvının, bir emülsifiye edici madde, yani yüzey aktif madde ve yardımcı yüzey aktif madde vasıtasıyla tek bir faz oluşturmakla karıştırıldığı termodinamik olarak kararlı izotropik sistemlerdir. Nanoemülsiyonun damlacık boyutu tipik olarak 20-200 nm aralığındadır [102].

2.12. Postbiyotik ve Cilt İlişkisi

İnsan derisinde bulunan çoğu mikroorganizma insan sağlığı için tehlikeli değildir. Bazıları cilt sağlığı için bile gereklidir. Antibakteriyel maddeler salgırlarlar, cildin patojenik kolonizasyonunu önlerler ve bağışıklığını etkilerler. Mikroorganizmalar "güneşteki yeri" için sürekli olarak rekabet ederler ve cildin daimi sakinlerinin yaşam alanlarını "yabancıların" yaşamalarına izin vermemeleri, hastalıklara karşı korunmanın en önemli ve etkili yollarından biridir. Son araştırmalar, dış etkenlere rağmen insan derisinin sağlıklı mikrobiyomunun uzun süre stabil olduğunu kanıtlamıştır [103].

Bir ürünün probiyotikli olarak kabul edilebilmesi için üç temel özelliğe sahip olması gerekir:

1. Suş(lar), amaçlanan kullanıma dahil edilmeleri için, genetik ve fenotipik olarak ve hakemli makalelerde yayınlanan belgelenmiş deneylere dayalı olarak verilen bir gerekçe dahil olmak üzere karakterize edilmelidir.

2. Ürün, istenen hedef bölgeye bir fayda sağlamak için ürünün klinik çalışmalarda gösterildiği zamana eşdeğer, kullanım sırasında yeterli canlı mikroorganizma içermelidir.

3. Teslim yöntemi, dozajı ve kullanım süresi, amaçlanan alıcı insanlarsa, insanlardaki bilimsel kanıtlara dayanmalıdır.

İçerikler üzerinde yapılan araştırmaları takip etmek imkansız hale geldiğinden, ürün etiketinde gerilim tanımlarının belirtilmemesi, potansiyel kullanıcıların işini zorlaştırmaktadır. Dozajlar etiketlerde nadiren belirtilir ve bazı ürünler yalnızca filtrelenmiş ekstraktlar veya fermentler veya parçalanmış bakteriler içerir, bu da canlı mikroorganizmaların bulunmadığı anlamına gelir: bu nedenle ürün probiyotik değildir ve terim kullanılmamalıdır.

Kuzey Amerika'daki iki büyük kozmetik perakendecisinin web sitelerinde yapılan bir araştırma, probiyotik içerdiği iddiasıyla en az 50 ürünün halihazırda ticarileştirildiğini ortaya çıkardı [104].

Çizelge 2.2. Probiyotikli kozmetik ürünler ve mikroorganizma içerikleri [105].

Numara	Ürün ismi	İçerikleri
1	Balsam	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
2	Balsam	<i>Lactobacillus</i> ferment
3	Temizleyici	Bifida ferment lizati
4	Temizleyici	<i>Lactobacillus</i> ferment
5	Temizleyici	Bifida ferment lizati
6	Krem	<i>Lactobacillus</i> ferment, <i>Lactococcus</i> ferment lizati, Bifida ferment lizati , <i>Lactobacillus</i>
7	Krem	Bifida ferment lizati
8	Krem	<i>Lactobacillus</i> ferment
9	Krem	Bacillus pıhtılaştırıcılar
10	Krem	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
11	Krem	<i>Lactobacillus</i> ferment lizati
12	Krem	Bifida ferment lizati

Çizelge 2.2. (Devam) *Probiyotikli kozmetik ürünler ve mikroorganizma içerikleri [105].*

13	Deodorant	Saccharomyces ferment filtratı
14	Fondöten	<i>Lactobacillus</i> ferment
15	Fondöten	<i>Lactobacillus</i>
16	Fondöten	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
17	Gel	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
18	Gel	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> ferment ekstraktı
19	Gel	<i>Leuconostoc</i> ferment filtratı
20	Gel	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
21	Gel	<i>Lactobacillus</i> , Greek yogurt, yogurt, yogurt pudrası
22	Maske	<i>Lactobacillus</i> , Greek yogurt, yogurt, yogurt pudrası
23	Maske	Bifida ferment lizati
24	Maske	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
25	Maske	<i>Lactobacillus</i> ferment
26	Maske	<i>Lactobacillus</i> ferment, <i>Lactococcus</i> ferment lizati, Bifida ferment lizati , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> termofil ferment
27	Eksfoliant	<i>Lactobacillus</i> ferment
28	Eksfoliant	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
29	Baz	Saccharomyces ferment filtratı
30	Eksfoliant	<i>Lactobacillus</i> ferment lizati, <i>Leuconostoc</i> ferment filtratı
31	Eksfoliant	Saccharomyces ferment filtratı
32	Eksfoliant	<i>Lactobacillus</i> ferment lizati, <i>Leuconostoc</i> ferment filtratı
33	Serum	<i>Lactococcus</i> ferment lizati
34	Serum	<i>Lactobacillus</i> ferment, <i>Lactococcus</i> ferment lizati, Bifida ferment lysate , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> termofil ferment
35	Serum	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> ferment filtratı
36	Serum	<i>Lactobacillus</i> ferment ekstraktı
37	Serum	Bifida ferment lizati
38	Serum	<i>Lactobacillus</i>
39	Sabun kalıbı	Bifida ferment lizati, Yogurt

Çizelge 2.3. Piyasadaki ürünleri [106]

Piyasadaki ürünler
Biossance Squalane + Probiyotik Jel Nemlendirici
Neogen dermalogy Probiotics Çift Etkili Serum
Elemis Dynamic Resurfacing Yüz pedleri
Tom's of Maine Prebiyotik Bar Sabunu
Missha Time Revolution The First Treatment Essence Rx
Eminence Organik Cilt Bakımı Şeffaf Cilt Probiyotik Maske
Manyo Fabrikası Bifida Kompleks Ampul
LaFlore Probiyotik Konsantre Serum
Marie Veronique Pre
Columbia Skincare Probiyotik Konsantre
Glowbiotics HydraGlow Krem Yağı

2.12. Kolostrum Nedir?

Kolostrum, yenidoğanın doğumundan sonra üretilen, 2-4 gün süre ile salgılanan anne sütüdür. Kolostrum anne sütünün çok önemli bir parçasıdır ve bağışıklık sisteminde bulunan büyüme faktörleri ve diğer koruyucu faktörleri yavruya geçirmektedir [107].

Kolostrum, bilinen en güçlü doğal bağışıklık güçlendiricidir. Bileşiminde süten daha fazla protein, immünoglobulin (Ig), protein dışı azot, yağ, kül, vitamin ve mineral içeren önemli bir besin kaynağıdır. Bazı vitaminler plasental bariyeri geçemediği için , kolostrum doğumdan sonra emzirme ile bu besinlerin geçişini sağlayan birincil kaynaktır [108].

Kolostrum zengin bir besin kaynağıdır ve belirli işlevler için gerekli olan birkaç biyolojik olarak aktif molekül içerir. Hücre büyümesini ve doku onarımını artırırken bağışıklık sistemini yeniden yapılandırmaya yardımcı olma potansiyeline sahiptir. Kolostrum, sağlığı koruyan ve geliştiren olağanüstü bir besin takviyesidir. Kolostrum türevlerinin arzu edilen özellikleri, olumlu etkileri arttırmak için konsantre edilebilir. Kolostrumun etkili fraksiyonlarını probiyotik laktik asit bakterileri ile birleştirmek mümkün olabilir [109].

2.13. Laktobasiller

Laktobasiller, Lactobacillaceae familyasına ait olan katalaz negatif, gram pozitif, mikroaerofilik veya fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Çoğu türü basildir. İnsanların normal bağırsak florasında da yer almakta olan Laktobasilluslar probiyotik ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Süt fermantasyonunu sağlayarak çoklu sayıda fermante süt ürününü oluştururlar., *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Lactobacillus reuteri* bu grupta yer alan probiyotiklere örneklerdir [110].

Lactobacillus bakterilerinde hücre duvarında 20-40nm kalınlığında su, metabolitleri ve mineral maddeleri geçirebilen peptidoglikan bir tabakaya sahiptir. Bu duvar aynı zamanda çoğalma ve azotlu maddelerin parçalanmasında rol alan proteaz enzimlerine sahiptir [111].

2.14.1. *Lacticaseibacillus rhamnosus*

Lacticaseibacillus rhamnosus , Lactobacillaceae familyasından olan, sinonimi *Lactobacillus rhamnosus* olarak da bilinen, gram pozitif, homofermentatif, fakültatif aerobik, sporsuz, çukuk şeklinde bir bakteridir. İzolasyon ortamları çok farklılık göstermekle birlikte, süt ürünleri, fermente et, balık, sebze, hububatlar, insanlardan ise oral, vajinal ve intestinal ortamlar bunların başında gelmektedir [112]. *Lacticaseibacillus rhamnosus* gastrik pH ve safrada yaşama, çoğalma ve bağırsak hücrelerine bağlanma yeteneği sayesinde 1989 yılında patenti alınmış Lactobacillus cinsinin ilk suşudur. Ek olarak, LGG hem mukozayı mekanik olarak koruyabilen biyofilm oluşmasını indükleyebilir hem de bağırsak kriptinin kalıcılığını artırarak, bağırsak epitelinin apoptozunu azaltarak ve bağırsak bütünlüğünü koruyarak bağırsak için faydalı olan çeşitli çözünür faktörleri indükleyebilmektedir [113].

Lactobacillus rhamnosus asit ve safra direnci, iyi büyüme özellikleri ve bağırsak epiteline yapışma yeteneği nedeniyle potansiyel bir probiyotik suş olarak da tanımlanmıştır [114]. O zamandan beri, ticari olarak temin edilebilen çok çeşitli probiyotik ürünlerde kullanılan en çok çalışılan probiyotik suşlardan biri olmuştur. Bu suşun faydalı etkileri, klinik deneylerde ve insan çalışmalarında kapsamlı bir şekilde incelenmiştir .LGG'nin geniş bir çapta incelenmiş olan temel özelliklerinden biri, in vitro nun yanı sıra insanlarda in vivo olarak belgelenen güçlü bir yapışma kapasitesinin

olmasıdır. LGG diğer probiyotik suşlarla karşılaştırıldığında, Lakcobacillus suşuna çok iyi yapışan bir mukus olduğu gösterilmiştir. Oral olarak uygulanan LGG, yetişkin insanlarda uygulamadan en az bir hafta sonra dışkıdan alınabilir [115].

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Madde adı	Firma adı
Cutina MD	Doğa İlaç/Türkiye
Lanetto O	Doğa İlaç/Türkiye
Cutina AGS	Doğa İlaç/Türkiye
Emulgin B1	Doğa İlaç/Türkiye
IPM	Doğa İlaç/Türkiye
Eutanol G	Doğa İlaç/Türkiye
Parafin	Doğa İlaç/Türkiye
Gliserin	Doğa İlaç/Türkiye
Koruyucu (Nipagin M)	Doğa İlaç/Türkiye
MgSO ₄ ·7H ₂ O	Detsan/Türkiye
Dehymuls F	Doğa İlaç/Türkiye
Cetiol V	Doğa İlaç/Türkiye
Vazelin	Doğa İlaç/Türkiye
MRS(broth)	Merck/Almanya
H ₂ O ₂	Merck/Almanya
TSI	Merck/Almanya
Metanol	Merck/Almanya
Mutlak Alkol	Merck/Almanya
MRS agar	Merck/Almanya
MRS broth	Merck/Almanya
Nutrient agar	Merck/Almanya
Mueller hinton agar (MHA)	Merck/Almanya
Mueller hinton broth (MHB)	Merck/Almanya
Sodyum hidroksit	Merck/Almanya
H ₂ SO ₄	Merck/Almanya
MTT	Merck/Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

Cihaz adı	Firma adı
Buzdolabı	Arçelik/Türkiye
Distile su cihazı	MilliQ Millipore, Fransa
Etüv	Nüve, FN 500/ Türkiye
Hassas terazi	Mettler AM 100/ ABD
Mekanik karıştırıcı	IKA/Almanya
Manyetik karıştırıcı	Jeitech MS-53M/Güney Kore
Mikropipet seti	Eppendorf, Almanya
pH metre	WTW Profi Lab. pH 597, Almanya
Reometre	Brookfield DV-II,Amerika
Ultrasonik banyo	Elma T470/H/ Almanya
Vorteks karıştırıcı	Jeitech VM96B, Güney Kore
Steril kabin	Heraeus
ICP-OES	Perkin Elmer Model DV 4300/Kanada
Sterilizatör	NÜVE
Otoklav	ALP
Mikroskop	CXK41 Inverted Microscope
Santrifüj	Eppendorf,Almanya
Texture analiz cihazı	TA.XT plusC/İngiltere
Zetasizer	Nano Series, Almanya
Trinoküler İverted ışık mikroskopu	Olympus Corporation/Japon

4. YÖNTEMLER

4.1. Mikrobiyolojik Çalışmalar

4.1.1. Besi ortamları ve kimyasallar

4.1.1.1. MRS agar

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 5,4± 0,2' ye ayarlanmış ve 121 ° C'de 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Çizelge 4.1. MRS agar içeriği

MRS agar (Merck)
Diamonyum hidrojen sitrat 2 g
Dipotasyum hidrojen fosfat 2 g
Glukoz 20 g
Magnezyum sülfat 0,2 g
Mangan sülfat 0,04 g
Et ekstraktı 8 g
Pepton 10 g
Sodyum asetat 5 g
Maya ekstraktı 4 g
Tween 80 1 mL
Agar 14 g
Distile su 1 L

4.1.1.2. MRS broth

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH 6,2± 0,2'ye ayarlanmış, 1 mL Tween 80 eklenmiş ve 121°C'de 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Çizelge 4.2. MRS broth içeriği

MRS broth (Merck)
Dipotasyum hidrojen fosfat 2 g
Glukoz 20 g
Magnezyum sülfat heptahidrat 0,2 g
Mangan sülfat tetrahidrat 0,05 g
Et ekstraktı 8 g

Çizelge 4.2. (Devam) *MRS broth içeriği*

Pepton 10 g
Sodyum asetat trihidrat 5 g
Triamonyum sitrat 2 g
Yeast ekstraktı 5 g
Distile su 1 L

4.1.1.3. Nutrient agar

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $6,8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmış ve 121°C 'de 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Çizelge 4.3. *Nutrient agar içeriği*

Nutrient agar (Merck)
Et ekstraktı 3 g
Pepton 5 g
Agar 15 g
Distile su 1 L

4.1.1.4. Mueller hinton agar

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $6,8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmış ve 121°C 'de 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Çizelge 4.4. *Mueller hinton agar içeriği*

Mueller hinton agar (MHA) (Merck)
Sığır eti-kalp ekstraktı 4 g
Kazein hidrolizat 17,5 g
Nisasta 1,5 g
Agar 17 g
Distile su 1 L

4.1.1.5. Mueller hinton broth

Besiyeri içeriği distile suda çözüldükten sonra, pH $6,8 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmış ve 121°C 'de 1,5 atm basınçta 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Çizelge 4.5. *Mueller hinton broth içeriği*

Mueller hinton broth (MHB) (Merck)
Sığır eti-kalp ekstraktı 4 g
Kazein hidrolizat 17,5 g
Nisasta 1,5 g
Distile su 1 L

4.1.1.6. Fizyolojik tuzlu su içeriği

Fizyolojik tuzlu su çözeltisi sodyum klorür steril distile su içerisinde çözülerek kullanılmıştır.

Çizelge 4.6. *Fizyolojik tuzlu su içeriği*

Fizyolojik tuzlu su
Sodyum klorür 85 g
Distile su 1000 mL

4.1.1.7. Hidrojen peroksit tespiti için standart çözelti

0,1 mL saf (%35) hidrojen peroksit alınıp distile su ilavesi ile 30 mL'ye tamamlanmıştır. Daha sonra bu çözeltiden 1 mL başka bir erlene alınmış ve tekrar distile su ile 30 mL'ye tamamlanmıştır.

4.1.1.8. Sodyum hidroksit çözeltisi

Çözelti, sodyum hidroksitin distile su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Molaritesi, ayarlı hidroklorik asitle ayarlanmıştır.

Çizelge 4.7. *Sodyum hidroksit içeriği*

0,1M Sodyum hidroksit çözeltisi
Sodyum hidroksit 4 g
Distile su 100 mL

4.1.1.9. H₂SO₄ çözeltisi

Saf sülfürik asitten distile su ilavesi ile 1N olacak şekilde çözelti hazırlanmıştır.

Çizelge 4.8. H_2SO_4 çözeltisi içeriği

1N H_2SO_4 çözeltisi
Sülfürik asit 1,67 mL
Distile su 100 mL

4.1.1.10. McFarland standardı

Yukarıdaki çözeltiler karıştırıldığında elde edilen bulanık çözelti spektrofotometrede 625 nm dalga boyunda okunmuştur. Bu dalga boyunda absorbans değerinin 0,08-0,10 aralığına girip girmediği kontrol edilmiştir. Bu değer 0,5 Mc Farland standardı olarak kabul edilmiştir. Standardın bulanıklığı ile bakteri süspansiyonlarının bulanıklığı çıplak göz ile karşılaştırılarak ayarlanmıştır. 0,5 Mc Farland standardı, mL’de 10^8 bakteri yoğunluğunun bulanıklığına karşılık gelmektedir [116].

Çizelge 4.9. McFarland standardı içeriği

McFarland standardı
$BaCl_2$ (% 1,175, 0.048 M) 0,50 mL
H_2SO_4 (% 1, 0.18 M) 99,5 mL

4.1.1.11. MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) çözeltisi

0,5 g 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (Sigma) tartılıp steril 100 mL fosfat tamponu içinde çözülmüştür. Hazırlanan bu stok çözelti $-20^\circ C$ saklanmıştır. Stok çözelti 1/10 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Çözelti her çalışmadan önce taze hazırlanmıştır. Sitotoksik aktivite testlerinde kullanılmıştır [117].

4.1.2. Kolostrum örneğinin temini

Kolostrum örneği; Afyonkarahisar Sandıklı Reşadiye Köyü’nden besi hayvancılığı ile beslenen sığırdan, doğum sonrası 6 saat içerisinde alınmıştır. Alınan kolostrum örneği laboratuvara ulaştırılmaya kadar $-20^\circ C$ ’ de muhafaza edilmiştir.

4.1.3. Kolostrumdan laktobasil izolasyonu

Kolostrum örneği, oda ısısında çözüldükten sonra, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarında fizyolojik tuzlu su ile bir seri dilüsyon yapılmıştır. Dilüsyon yapıldıktan

sonra, her bir dilüsyon tüpünden 1 mL alınarak, MRS agar besiyeri bulunan petrilere yayma ekim yapılarak ekilmiştir. Ekim yapılan petrilere aerob koşullarda 37°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası petrilere gelişen koloniler incelenmiştir. Üreme görülen petrilere morfolojik olarak birbirinden farklılık gösteren koloniler seçilip, saf kültür elde etmek amacıyla tek koloni ekimi ile aynı besiyerini içeren yeni bir petriye ekilerek 37°C’de 48 saat inkübe edilmiştir. Saf olan kültürler stoklanmıştır. MRS agardan izole edilenler %20 gliserol içeren ependorfa alınmış ve - 85°C’de stoklanmıştır.

4.1.4. İzole edilen mikroorganizmaların tanımlanmaları

Saf kültürlerden izole edilen mikroorganizmaların, öncelikle gram boyamaları ve katalaz testleri yapılmıştır. Gram pozitif, katalaz negatif bakteri izolatları, laktik asit bakterisi olarak ayrılmıştır. Daha sonra pH’sı 5.5 olan MRS agar da en iyi gelişen suş seçilmiştir.

4.1.5. Gram boyama yöntemi

Gram boyama, bakterileri hücre duvarlarının yapısındaki farklılıklara dayanarak bakterileri Gram pozitif ve Gram negatif olarak ayırmamızı sağlayan bir yöntemdir. Gram boyama sonucunda mikroskop altında mavi-mor görünen bakteriler Gram pozitif; pembe-kırmızıya boyananlar ise Gram negatif olarak değerlendirilir. Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı yapısında ki peptidoglikan tabaka kalın, Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapısındaki peptidoglikan tabaka incedir ve Gram pozitiflerden farklı olarak LPS (Lipopolisakkarit) tabakası bulunmaktadır. Boyama işleminin yapılabilmesi amacıyla, izolatlar MRS agar besiyerinde çoğaltılmış ve boyamada 18 – 24 saatlik taze kültürler kullanılmıştır. İlk önce preparat hazırlanmıştır. Temiz bir lam yüzeyine 1 damla distile su konmuştur. Katı besiyerinde çoğaltılan mikroorganizma örneğinden öze yardımıyla bir miktar alınıp, distile su içerisinde dağıtılıp, bünzak bek alevinde kurutularak bakterilerin fikse olması sağlanmıştır. Kuruyan preparatın üzerine kristal viyole damlatılıp 1 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda lam distile suyla yıkanıp, üzerine lugol damlatılıp yine 1 dakika bekletilmiştir. Sonrasında yine preparat suyla yıkanıp, üzerine alkol dökülüp, dekolorizasyon işlemine geçilmiştir. Burada preparat 10-15 saniye %95’lik alkol ile muamele edildikten sonra preparat suyla yıkanıp üzerine bazik fuksin boyası damlatılmıştır ve 30 saniye bekletilmiştir. Süre sonunda preparat

suyla yıkanıp, kurutma kağıdıyla kurutularak mikroskopta incelenmiştir. Gram pozitif kontrol örneği olarak *Staphylococcus aureus*, Gram negatif örneği olarak da *Escherichia coli* bakterisi kullanılmıştır. Preparatlar ışık mikroskobunda (Leica DM500) immersiyon yağı kullanılarak 100'lük objektifte mevcut renk ve bakteri morfolojileri incelenmiştir. İnceleme sonrasında mor renge boyanan bakteriler Gram pozitif, pembe renge boyanan bakteriler ise Gram negatif olarak değerlendirilmiştir [118].

4.1.6. Katalaz testi

Bakterilerde katalaz enziminin varlığının ya da yokluğunun araştırılmasını sağlayan katalaz testi, hidrojen peroksitin bu enzim yardımıyla su ve oksijene ayrılması temeline dayanmaktadır. Bu amaçla kültürler MRS agar besiyerinde geliştirildikten sonra, öze ile kültür örneği lam yüzeyine alınıp üzerine %3'lük H₂O₂ damlatılmıştır. *Staphylococcus aureus* test sırasında pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Gaz çıkışının olduğu kültürler katalaz pozitif, gaz çıkışının olmadığı kültürler ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir [119].

4.1.7. 16S rRNA dizi analizi ile genotipik karakterizasyonların belirlenmesi

Seçilen izolatin tanımlanması amacıyla 16s rRNA dizi analizi yapılmıştır. Bu amaçla sıvı besiyerinde hazırlanan gecelik kültür kullanılmıştır. İzolatin DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Bacterial & Yeast DNA izolasyon kiti kullanılmıştır. Elde edilen DNA'nın saflık ve miktar analizleri için Thermo Scientific Nanodrop 2000 spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. 8 F ve 1387 R primeleri (Universal primerler) ile tür tayini için hedeflenen gen bölgeleri PCR kullanılarak çoğaltılmıştır. Bakteri izolasyon protokolü aşağıdaki gibidir.

Bakteri DNA izolasyon Protokolü

1- 1,5 ml ependorf tüpte karıştırılır.

A- 100 µl 1 gece inkübe edilmiş bakteriyel kültür 200 µl Lyse BG buffer

B-Petriden bakteriyel koloni alınarak 300 µl LYSE BG içerisinde süspanse edilir.

C- 0.1-1.5 ml 1 gece inkübe edilen bakteriyel kültür santrifüj edilir ve oluşan pellet 300 µl Lyse BG bufferda süspanse edilir.

- 2- 50 µl BL ve 2 µl RNase A eklenir ve 3 dakika karıştırılır (pipetleme veya vortex ile)
- 3- 37 °C'de 15 dakika inkübe edilir
- 4- 15 µl Proteinaz K ilave edilir. Birkaç defa karıştırılır ya da voretex ile 3 dakika karıştırılır.
- 5- 55 °C'de 30 dakika inkübe edilir.
- 6- 350 µl Sol BG ilave edilir. Birkaç defa karıştırılır ya da voretex ile 3 dakika karıştırılır.
- 7- 55 °C'de 30 dakika inkübe edilir.
- 8- Lizat 2 dakika 11.000xg'de santrifüj edilir ve supernatant kısmından 600 µl DNA binding spin kolona aktarılır ve collection tüpün üstüne konulur.
- 9- 1 dakika 11.000xg'de santrifüj edilir. Collection tüp boşaltılır ve spin-kolon tekrar collection tüpüne konulur.
- 10- Kalan lizat spin-kolona ilave edilir ve 1 dakika 11.000xg'de santrifüj edilir. Collection tüp atılır ve spin kolon yeni bir collection tüpün üstüne konulur.
- 11- 450 µl Wash BGX buffer eklenir ve 11.000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
- 12- collection tüpteki sıvı boşaltılır ve spin-kolon tekrar collection tüpün üstüne konur.
- 13- 450 µl Wash BGX buffer eklenir ve 11.000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
- 14- collection tüpteki sıvı boşaltılır ve spin-kolon tekrar collection tüpün üstüne konur.
- 15- Wash BGX bufferı tamamen uzaklaştırmak için tekrar 11.000xg'de 1 dakika santrifüj edilir.
- 16- spin- kolon yeni temiz bir tüpe alınır (1,5-2 ml) ve 50-100 µl elüsyon buffer eklenir.
 - Elüsyon tamponunun doğrudan reçinenin merkezine eklenmesi DNA verimini artırır. Döndürme sütunları arasında DNA izlerinin aktarılmasını önlemek için mikro pipetle spin-kolon duvarlarına dokunmayın.

- Membrandan genomik DNA'nın elüsyonunun etkinliğini arttırmak için, Elüsyon tamponu 80°C'lik bir sıcaklığa ısıtılabilir.

17- 2dk oda sıcaklığında inkübe edilir.

18- 1 dakika 11.000xg'de santrifüj edilir.

19- Spin-kolon atılır ve tüp daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere 2-8 °C'de ve/veya -20 °C'de saklanır.

Elde edilen genomik DNA, kalıp DNA olarak kullanılarak 16S rRNA gen bölgesi için PCR kurulmuştur. Bu amaçla 8F= AGAGTTTGATCCTGGCTCAG ve 1387R = GGGCGG WGTGTACAAGGC evrensel primerleri kullanılmıştır. Reaksiyon bileşenleri olarak, 10X TaqBuffer (+KCl-MgCl₂), 2,5 µ L; 25 mM MgCl₂, 2,5 µ L; 2,5 mM dNTP mix, 2,5 µ L; 2,5 mM 27F primer, 2,5 µ L; 2,5 mM 1492R primer 2,5 µ L; Taq polimeraz (5 u/ µ L), 0,25 µ L; nükleaz içermeyen distile su, 11,75 µ L; kalıp DNA, 1 µ L kullanılmıştır. PCR işleminde, ön denatürasyon basamağı 94°C'de 3 dak.; denatürasyon basamağı 94°C'de 30 sn., bağlanma basamağı 55°C'de 1 dak., uzama basamağı 72°C'de 2 dak., 35 döngü; son uzama basamağı ise 72°C'de 5 dak. olarak yapılmıştır.

Sanger dizileme ile elde edilen okumalar, bir konsensüs dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır. Diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) üzerinden eşleştirilerek en yakın tür belirlenmiştir. İzolatların dizi analizleri, Microbiota Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketine hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır.

4.1.8. Antibakteriyal aktivite tayini

4.1.8.1. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Bu çalışmada kolostrumdan izole edilen izolatın *Staphylococcus epidermidis*'e karşı antimikrobiyal aktivite varlığı, agar difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. Bu amaçla, izolat MRS broth ortamında 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası MRS broth ortamına %1'lik ekimleri yapıp tekrar inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında LAB'leri 5000 rpm.'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj

sonrası süpernatant kısımları 0,22µm'lik membran filtrelerden geçirilmiştir. *Staphylococcus epidermidis* ise; Nutrient broth ortamında aktifleştirilmiştir. Aktif kültürlerin, %0,85'lik fizyolojik tuzlu suda 0,5 McFarland bulanıklığına göre ayarlamaları yapılmıştır. Bulanıklığı ayarlanan patojen kültürden 0,1 mL kültür örneği alınıp, Mueller Hinton agar petriye yayma ekim tekniği kullanılarak yayılmıştır. 30 dk yayılan bakterilerin kurumması beklendikten sonra petrilerin yüzeyine steril mantar deliciyle kuyucuklar açılmıştır. Açılan her kuyucuğa Mc Farland 5.0 ayarlanmış ve $1,5 \times 10^9$ koloni sayısına karşılık gelen filtre edilerek steril edilmiş postbiyotik içeren krem ve plasebo krem örneği 100 µL eklenmiş ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Testin sonucu, filtratın etrafında zon oluşup oluşmamasına göre ve zon çapının ölçülmesine göre değerlendirilmiştir [120]. Deney üç paralel olarak yapılmıştır.

4.1.8.2. Mikrobroth dilüsyon yöntemi

Bu yöntemde, mikroorganizmaların test edilen kültür sıvısı özütlerine karşı hassasiyetinin belirlenmesinde plastikten yapılmış "U" tipi çukurlara sahip 96 kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Kullanılacak bakteri Nutrient Broth besiyerine inokule edilmiş ve 37°C' de 24 saat inkübe edilmiştir. A1-A11 kuyucukları arasında izolata ait edilerek steril edilmiş postbiyotik içeren krem ve plasebo krem örneği başlangıç konsantrasyonu 10000 mg olan bir seri dilüsyon yapılarak hazırlanmış örnekler kuyucuklara konulmuştur. Daha sonra her bir kuyucuğa 100 µl Mc Farland (0,5) olarak hazırlanmış *Staphylococcus epidermidis* süspansiyonu ve her bir kuyucuğada 100 µl MHB besiyeri konulmuştur. Her bir plakada bakteri süspansiyonu içermeyen, krem için kontrol kuyucuğu ve krem içermeyen bakteriyal süspansiyon kuyucuğu da bulunmaktadır. Plakalar 24 saat 37°C' de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kuyucuklarda üreme olup olmadığı hazırlanan MTT(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) çözeltisi ile gözlenmiştir. MTT hücre zarı ve duvarından geçebilen bir tuz türüdür. Üremenin olduğu kuyucuklarda mavi, üremenin olmadığı kuyucuklarda sarı renk vermektedir. Üremenin olmadığı en son kuyucuktaki konsantrasyon Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlenmiştir.

4.1.9. MTT yöntemi HACAT hücre hattında sitotoksitenin belirlenmesi

MTT testi, ilk olarak Mosmann tarafından tanımlanmış kolorimetrik bir testtir. MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil tetrozolyum bromür; Thiazolyl blue), sarı renkli olup hücrelere aktif olarak absorbe olur ve kültür ortamındaki mitokondriyal

aktivitesi devam eden canlı hücrelerin kantitasyonunu sağlar. Canlı hücrelerin mitokondrilerinde yer alan süksinat dehidrogenaz enzimi, MTT boyasındaki tetrazolium halkasını parçalar. Bunun sonucunda MTT, suda çözünmeyen mor renkli formazana dönüşür. Oluşan bu formazan DMSO gibi başka bir çözücü yardımı ile suda çözünebilir hale getirilir ve oluşan renk reaksiyonu spektrofotometrik olarak okunur.

Bu amaçla, HaCaT (Human adult Calcium high Temperature) (CLS, Almanya, No: 300493) ölümsüzleştirilmiş keratinosit hücre hattı kullanılmıştır. HaCaT hücre hattı %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) besiyerinde %70-80 yoğunluğa ulaşana kadar %5 CO₂ ve %95 bağıl nemli inkübatörde 37°C'de inkübe edilmiştir Hücreler Cedex, Roche hücre sayım cihazında Tripkan mavisi boyası kullanılarak sayılacak, 96 kuyucuklu plakalara 5x10³/100 µL olacak şekilde ekilmiştir. 24 saat hücrelerin yapışabilmesi için inkübe edilmiştir. Sonrasında Mc Farland 5.0 ayarlanmış ve 1.5x10⁹ koloni sayısına karşılık gelen, filtre edilerek steril edilmiş postbiyotik içeren krem ve plasebo krem örneği 62.5-1000 µg/100 µL konsantrasyonlarda HACAT hücrelerine uygulanmıştır. 24 saat inkübasyondan sonra tüm kuyucuklara 10 µL 5 mg/mL MTT boyası ilave edilmiş, 3 saat inkübe edildikten sonra, besiyeri uzaklaştırılarak, üzerine 100 µL DMSO eklenmiş ve 540 nm dalgaboyunda Cytation 3 cihazında absorbans değerleri okunarak; hücre canlılığı belirlenmiştir. Elde edilen absorbans değerleri % Excel programı kullanılarak yüzdelik değerlere çevrilmiştir. Örnek uygulanmamış kuyucuk kontrol, sadece besiyeri uygulanan kuyucuk da negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Deneyler birbirinden bağımsız 3 farklı zamanda 7 tekrarlı çalışılmıştır.

4.2. Plasebo Krem Formülasyonu Hazırlanması

L₁ formülünde, faz I, 75 °C'ye getirilir ve 80 °C'ye getirilen faz II ile soğuyuncaya kadar karıştırılır. İçeriğindeki noniyonik yüzey etkin madde olan Emülgin B1'den dolayı y/s tipi emülsiyon oluşturulmuştur. Bu sebeple iç faz olan (yağ fazı) Faz I, dış faz olan (su fazı) Faz II'ye ilave edilmiştir. Analizleri yapılmak üzere ağzı kapalı tüplerde 4±1 , 25±1 ve 40±1 de saklanmıştır. Bu kremde ikinci ayda mikrobiyal üreme olduğundan çalışmamıza L₂ formülasyonu ile devam edilmiştir.

Çizelge 4.10. *L₁ formülü*

L₁	
Faz I	Faz II
Cutina MD 6g	Gliserin 1g
Lanette O 2g	Distile su y.m 100g
Cutina AGS 4g	
Emülgin B1 3 g	
IPM 8g	
Eutanol G 5g	
Parafin 5g	

Çizelge 4.11. *L₂ formülü*

L₂	
Faz I	Faz II
Dehymuls F 8g	Gliserin 3g
Cetiol V 8g	MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.3g
IPM 15g	Distile su y.m 100g
Vazelin 20g	Nipagin M 0.2 g
Parafin-katı 5g	

Faz I ve Faz II 75 °C'ye getirilir. Soğuyuncaya kadar karıştırılır. İçeriğindeki hem yüzey etkin madde, hem de kıvam verici olan Dehymuls F'den dolayı s/y tipi emülsiyon oluşmuştur. Bu sebeple iç faz olan (su fazı) Faz II, dış faz olan (yağ fazı) Faz I'e ilave edilmiştir. Analizleri yapılmak üzere ağzı kapalı tüplerde 4±1 , 25±1 ve 40±1 'de saklanmıştır. L₂ formülasyonu ile devam ettiğimiz çalışmada kreme Nipagin M koruyucu madde olarak kullanılmıştır.

4.3. Postbiyotik İçeren Formülasyon Hazırlanması

4.2 de belirtilen L₂ formülünde distile suyu yerine bakteriden elde ettiğimiz süpernetan kullanıldı.

Çizelge 4.12. *L₃ formülü*

L₃	
Faz I	Faz II
Dehymuls F 8g	Gliserin 3g
Cetiol V 8g	MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.3g
IPM 15g	Nipagin M 0.2 g
Vazelin 20g	Süpernetan y.m 100g
Parafin-katı 5g	

4.4. Krem Formülasyonunun Karakterizasyon Çalışmaları

Karakterizasyon çalışmaları hazırlanan formülasyonlarda yapılmıştır. Bunlar pH ölçümü, reolojik analiz, tekstür analizi, damlacık boyutu analizi, faz ayrılması analizi, morfolojik analiz, mineral element analizi, termal değişim analizidir.

4.4.1. Formülasyonların pH değeri ölçümü

Probiyotikli ve plasebo formülasyonlarda pH metre ile (WTW Profi Lab. pH 597, Almanya) pH ölçümü yapılmıştır. Formülasyonlar sıfıncı zamanda hazırlandıktan sonra probun uc kısmının beher içerisindeki formülasyona daldırılması ile ölçüm yapılmıştır (n=3). Plasebo formülasyonda da aynı şekilde ölçüm yapılmıştır.

4.4.2. Formülasyonlarda reolojik analiz

Reoloji, formülasyonlarda katıların ve sıvıların akış ve deformasyonunun incelenmesi işlemidir. Ölçümler oda sıcaklığında reometre (Brookfield DV-II, Amerika) ile gerçekleştirilmiştir. Akış tipi belirlenmesi yapılmıştır.

4.4.3. Formülasyonlarda tekstür analizi

Hazırlanmış olduğumuz formülasyonlarda texture analiz cihazı (TA.XT plusC/İngiltere) ile tekstür analizi yapılmıştır. Cihazın test türü sıkıştırma idi.

Ölçümler, mesafeyi ve kuvveti kaydeden, ölçülen numuneye nüfuz edebilen özel problemlerle donatılmış doku analizörü kullanılarak yapıldı. Cihaz, yüzeye temas eden ve bir numunenin özelliklerini inceleyen bir insan parmağının hareketini simüle eder. Yapısal ölçümler için cihaz, bir ölçüm döngüsü için "sıkıştırma mesafesi ölçümü"

modunda çalışır. Ölçümler için, tekstür analiz cihazının probunun yaklaşık bir inç altına ürünle dolu bir şişe yerleştirilir. Her test, probu ürün yüzeyine ön test hızında indirilerek gerçekleştirilir [121].

Çizelge 4.13. *Tekstür analizi yapılma koşulları*

Test Modu	Sıkıştırma.
Hedef Modu	Mesafe
Tetik Tipi	Otomatik (Kuvvet)
Noktayı Durdur	Başlangıç Konumu
Dara Modu	Otomatik
Sıcaklık	(25 ± 2)°C

4.4.4. Formülasyonlarda damlacık boyutu analizi

Formülasyonların damlacık boyutu ve boyut dağılımı lazer kırılım cihazı (Zetasizer Nano Series, Almanya) kullanılarak ölçüldü. Her numune başına en az üç ölçüm yapıldı ve ortalama değerler raporlandı.

4.4.5. Formülasyonların faz ayrılması analizi

Formülasyonlar 3000 rpm' de 30 dakika santrifüj (Eppendorf,Almanya) edildi.

4.4.6. Formülasyonlarda morfolojik analiz

Formülasyonlar önce distille suyu ile seyreltildi.Sonra metilen mavisi ile boyandı ve Trinoküler İverted ışık mikroskopunda (Olympus Corporation/Japon) morfolojisine bakıldı.

4.4.7. Formülasyonların mineral element analizi

Formülasyonların mineral içerikleri ICP-OES (Endüktif Eşleştirilmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi/Kanada) ile belirlendi.

Çizelge 4.14. ICP-OES için Çalışma Koşulları [122].

Nebulizasyon gaz akış hızı	0,55 L dak ⁻¹
Yardımcı gaz akış hızı	0,2 L dak ⁻¹
Plazma gazı akış hızı	17 L dak ⁻¹
Örnek akış hızı	1,5 mL dk ⁻¹
Çalışma gücü	1 450W
Görüş	eksenel
Arayüz	Kesme gazı
Örnek alım oranı	1.0 mL dk ⁻¹
Püskürtme odası	siklonik
Nebulizatör tipi	meinhard
Nebulizatör kurulumu	ani
Kopyalar	3

4.4.8. Formülasyonların termal değişim analizi

Formülasyonlar 1 hafta boyunca birinci gün 4 , ikinci gün 40 olmak üzere sırayla kabinlere yerleştirildi. Bir soğutma / ısıtma döngüsü testi olan termal değişim analizinin amacı farklı sıcaklık koşullarında formülasyonun kararlılığını koruyabilmesidir [123]. 1 hafta sonunda formülasyonların reolojik ölçümleri yapıldı.

4.5. Kararlılık Çalışmaları

Hazırlanan postbiyotikli krem formülasyonu kararlılık çalışmaları kapsamında 4±1 , 25±1 ve 40±1 °C'lik kararlılık kabinlerine yerleştirilmiştir. Formülasyonlarda 1.Ayda pH, reoloji (0. Zaman ve 1. Ay) açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler two-way ANOVA testi uygulanarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir. Deney sonucu olan tüm verilerin istatistiksel analizi için GraphPad Prism version 5.0 istatistik programı kullanılmıştır.

5. BULGULAR

5.1. Kolostrumdan Laktobasil İzolasyonu

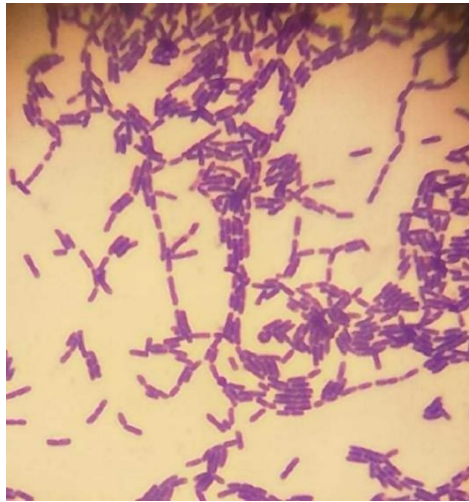
Afyonkarahisar Sandıklı Reşadiye Köyü'nden besi hayvancılığı ile beslenen sığırdan, doğum sonrası 6 saat içerisinde alınmış olan kolostrum örneği; 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 ve 1/32 oranlarında yapılan bir seri dilüsyonudan sonra, örnekler tek koloni ekim tekniğiyle saflaştırılmıştır. Bundan sonraki çalışmalara saf koloni içeren petrilerle devam edilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. *Laktobasilin MRS agarda tek koloni ekim tekniği sonucu petrideki görünümü*

5.2. Gram Boyama

Gram Boyama sonucu, x100 büyütmede ışık mikroskopunda alınan görüntü sonucu laktobasil izolatımızın Gram pozitif olduğu belirlenmiştir (Şekil 5.2.).



Şekil 5.2. *Gram pozitif (+) laktobasil (x100)*

5.3. Katalaz Testi

%3'lük H₂O₂ ile kullanılarak katalaz enziminin varlığının/yokluğunun belirlendiği yöntemde, laktobasil izolatında katalaz enziminin varlığı gaz kabarcığı oluşmasına/oluşmamasına göre belirlenmiştir. Kontrol mikroorganizma olarak katalaz testi pozitif olduğu bilinen *S. aureus* kullanılmıştır. Deneylerimizde kullandığımız laktobasil suşu katalaz negatiftir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. Katalaz (+) laktobasil izolatının görüntüsü (*S.aureus* bakterisi pozitif kontrol olarak kullanılmıştır)

5.4. 16S rRNA Dizi Analizi ile Genotipik Karakterizasyonların Belirlenmesi

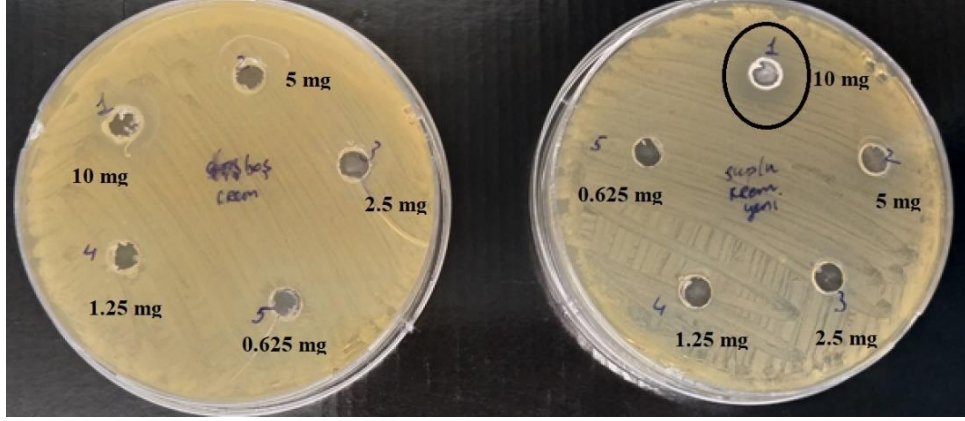
16S rRNA gen dizilimine göre; Sanger dizileme ile elde edilen okumalar, bir konsensüs dizi oluşturmak amacıyla kontig haline getirilmiştir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde BioEdit yazılımı içinde CAP contig assembly algoritması kullanılmıştır. Diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) üzerinden eşleştirilerek en yakın türler belirlenmiştir. Benzerlik Oranı: %99,84 olarak bulunmuş ve türü *Lacticaseibacillus rhamnosus* olarak belirlenmiştir. NCBI Blast sistemine gerekli bilgiler girildikten sonra elde edilen erişim numarası ON238133'dür. Dizi analizi sonucu aşağıdaki gibidir.

```
GACGAGTTCTGATTATTGAAAGGTGCTTGCATCTTGATTTAATTTTGAACGA  
GTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTTAAGTGGGGGATA  
ACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAAATCCAAGAACCGCATGGTTC  
TTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATT  
AGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTACCAAGGCAATGATACGTAGCCGAAC  
GAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGG
```

GAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAAC
GCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTGGAGAA
GAATGGTCGGCAGAGTAACTGTTGTTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAG
CCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGT
TATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGAT
GTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAAGTGCATCGGAGACTGGGAAACTTG
AGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAT
ATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCG
TGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
TGCCGTAAACGATGAATGCTAGGTGTTGGAGGGTCTCCGCCCTTCAGTGCCG
CAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAA
CTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAT
TCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGA
GAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTC
GTCAGCTCGTGTTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGA
CAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGA
GGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCA

5.5. Kuyucuk Yöntemi

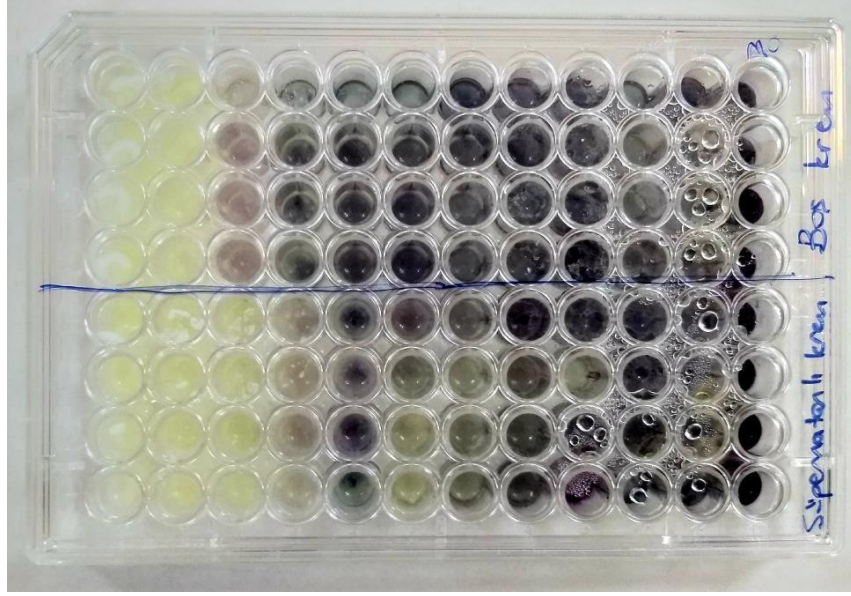
Agar kuyucuk yöntemi olarak da adlandırılan yöntemde; petrilere dökülmüş Müller Hinton agar üzerine 0.5 Mc Farland'a göre ayarlanmış *S. Epidermidis* bakterisinden yayma ekim tekniği kullanılarak ekim yapılmıştır. Sonrasında üzerine açılan 5 kuyucuk içerisine plasebo krem ve postbiyotik içeren kremin 0.625-10 mg/mL konsantrasyonlarında örnekler doldurulmuştur. 24 saat etüvde inkübe edildikten sonra oluşan zon çapı ölçülerek aktivite değerlendirilmiştir. Bu yöntemde postbiyotik içeren kremin sadece 10 mg/ mL konsantrasyonunda 13 mm zon oluşturduğu gözlenmiştir. Diğer kuyucuklarda zon oluşumu gözlenmemiştir. Bu yöntem bir antimikrobiyal aktivite çalışmalarında tarama çalışması olarak kullanılmaktadır. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonunu (MİK) değerini belirleyebilmek için Mikrobroth Dilüsyon metoduyla antimikrobiyal aktivite daha ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Petri fotoğrafları Şekil 5.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 5.4.Kuyucuk yöntemi sonuçları

5.6. Mikrobroth Dilüsyon Yöntemi

S. epidermidis üzerinde mikrobroth dilüsyon yöntemi ile yapılan antimikrobiyal aktivite testinde, postbiyotikli krem ve plasebo krem 10 mg tartılmış ve bir seri ½ dilüsyon hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre postbiyotikli kremin Minimal İnhibisyon değeri (MİK) 1.25 mg/100 µL, plasebo kremin ise; 2,5 mg/100 µL olarak bulunmuştur. 12. sıra mikroorganizma kontrolü olarak kullanılmıştır. Postbiyotik içeren kremi hazırlamak için kullandığımız süpernatant Mc Farland 5.0 bulanıklığa göre ayarlanmış ve kültür 5000 rpm de 15 dk santrifüj edilerek süpernatant elde edilmiştir. Kreme ilave edilmeden önce süpernatant 0,22 µm çaplı filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Steril edilen süpernatandan kontrol amaçlı tekrar MRS agar besiyerine yayma ekim yapılmış, 37 °C' de 48 saatlik inkübasyon sonucunda hiçbir üreme gözlenmemiştir. 96 kuyucuklu plakadan elde edilen sonuçlar Şekil 5.5.'de gösterilmiştir.

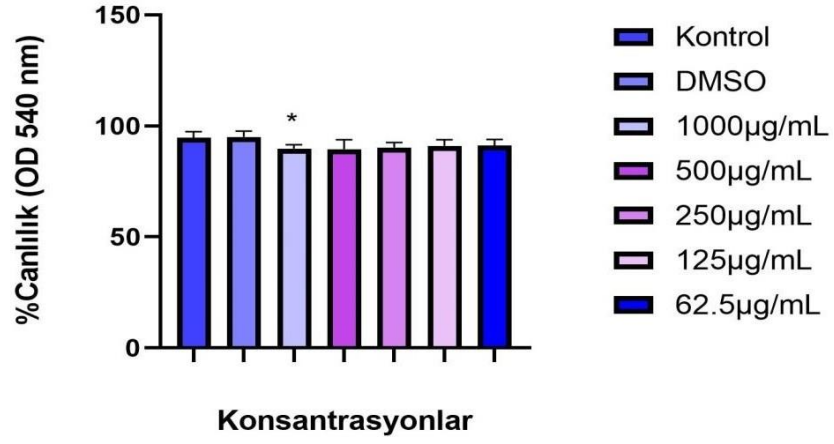


Şekil 5.5. Plasebo krem ve postbiyotikli kremin *S. epidermidis* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesinin Mikrobrot dilüsyon yöntemi ile değerlendirilmesi (n:4)

5.7. Sitotoksite Testi

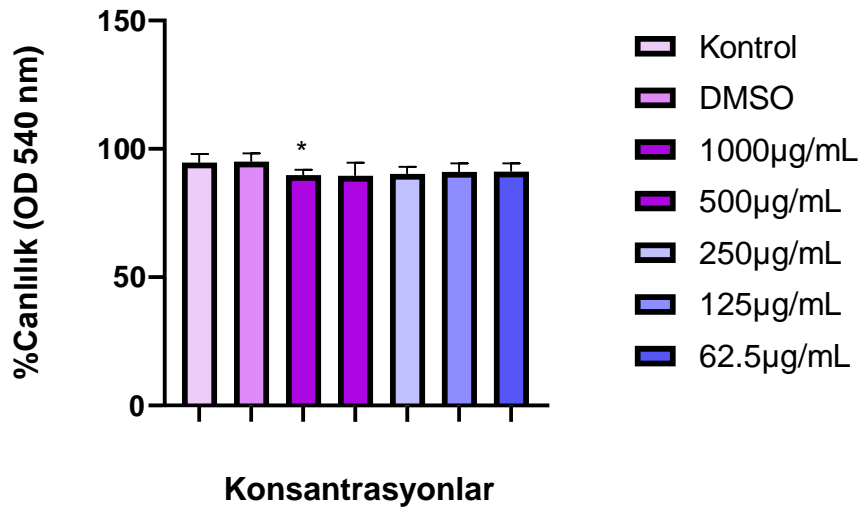
Postbiyotik içeren krem ve plasebo krem örneği 62,5-1000 $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ konsantrasyonlarda HACAT hücrelerine 24 saat süre ile uygulanmıştır. İnkübasyon sonunda MTT boyasıyla sitotoksik aktivite değerlendirilmiştir. Her iki örneğin de en yüksek konsantrasyon olan 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'de sitotoksik etkisinin olmadığı görülmüştür. HaCat hücreleri deri keratinosit hücreleri olduğu için, postbiyotik içeren bakım kreminin sağlıklı hücrelere sitotoksik etkisinin olmaması formüle edilen kremin *in vitro* olarak güvenilir olduğunu göstermektedir. MTT boyasıyla elde edilen absorbans değerlerinin % excel ile yüzdelerle dönüştürülmüş ve sonrasında GraphPad 6.0 programıyla uygulanan one way Anova istatistik proramı ile değerlendirilmiştir. Elde edilen grafikler Şekil 5.6 ve Şekil 5.7 de gösterilmiştir.

Postbiyotik İçeren Krem HaCat Hücreleri zerindeki Sitotoksik Etkisi



Şekil 5.6. Postbiyotik içeren krem HaCat keratinosit hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin MTT testiyle değerlendirilmesi (n=7, *p<0.05)

Plasebo Krem HaCat Hücreleri zerindeki Sitotoksik Etkisi



Şekil 5.7. Plasebo krem HaCat keratinosit hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin MTT testiyle değerlendirilmesi (n=7, *p<0.05)

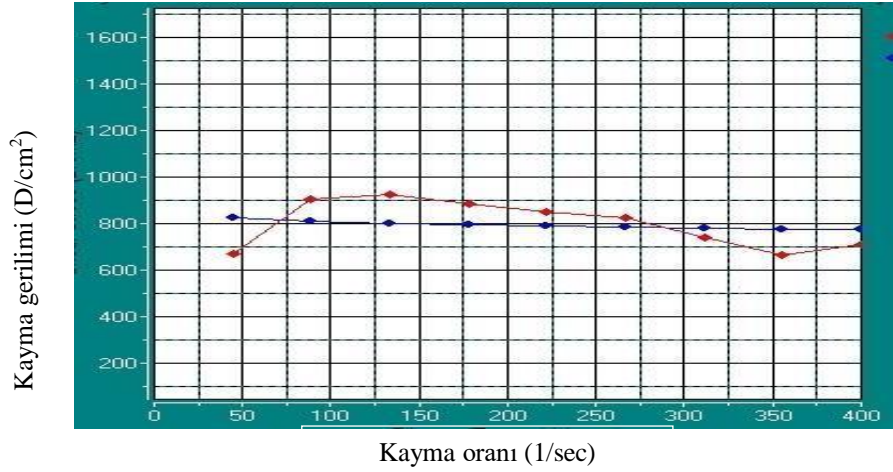
5.8. Formülasyonların pH Değeri Ölçümü

Çizelge 5.1. Formülasyonların 0.zamanda pH değerleri(n=3)

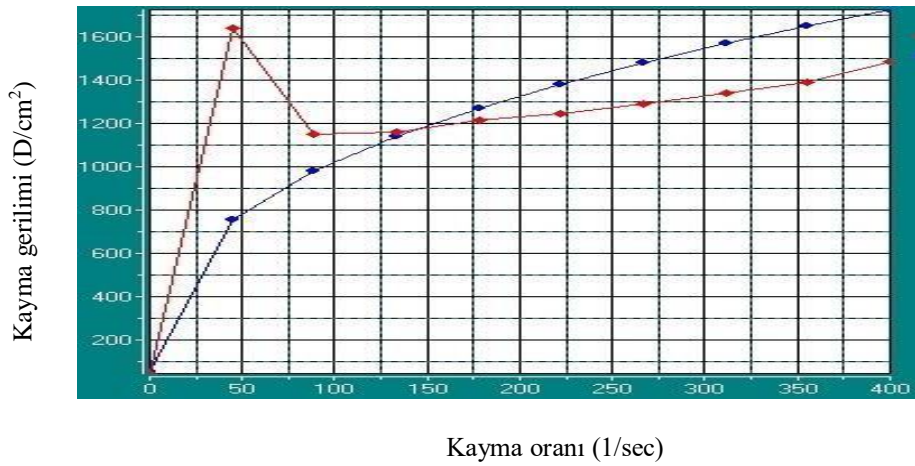
FORMÜLASYON	pH±SH
Postbiyotikli krem	4,80±0,0
Plasebo krem	4,76±0,0

5.9. Formülasyonlarda Reolojik Analiz

Ölçümler 0.zamanda 4.4.2' de anlatıldığı gibi yapılmış ve sonuçlar Şekil 5.8. ve Şekil 5.9.da verilmiştir.



Şekil 5.8. Plasebo krem reolojik ölçümleri



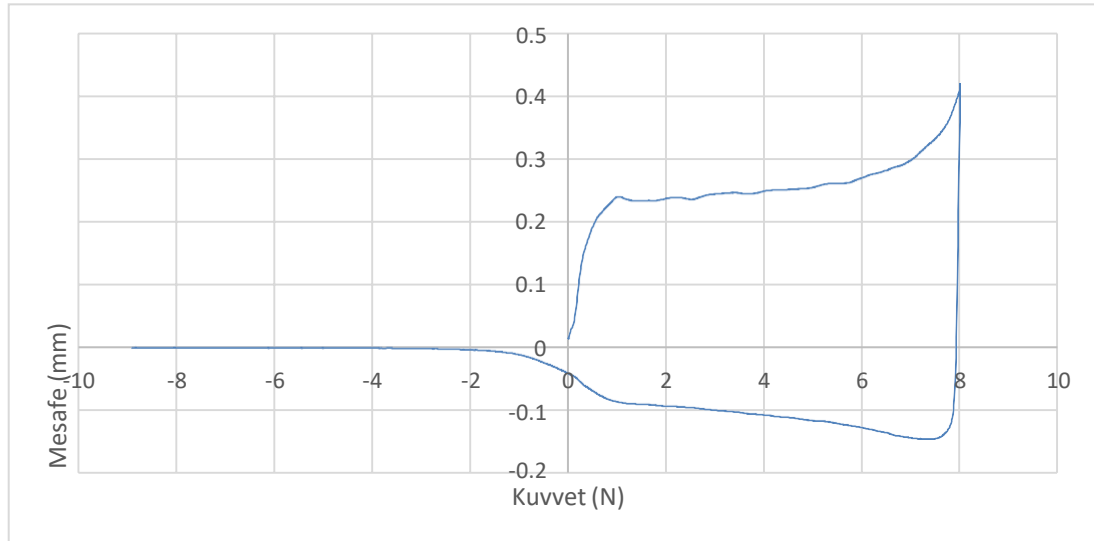
Şekil 5.9. Postbiyotikli krem reolojik ölçümleri

5.10. Formülasyonlarda Tekstür Analizi

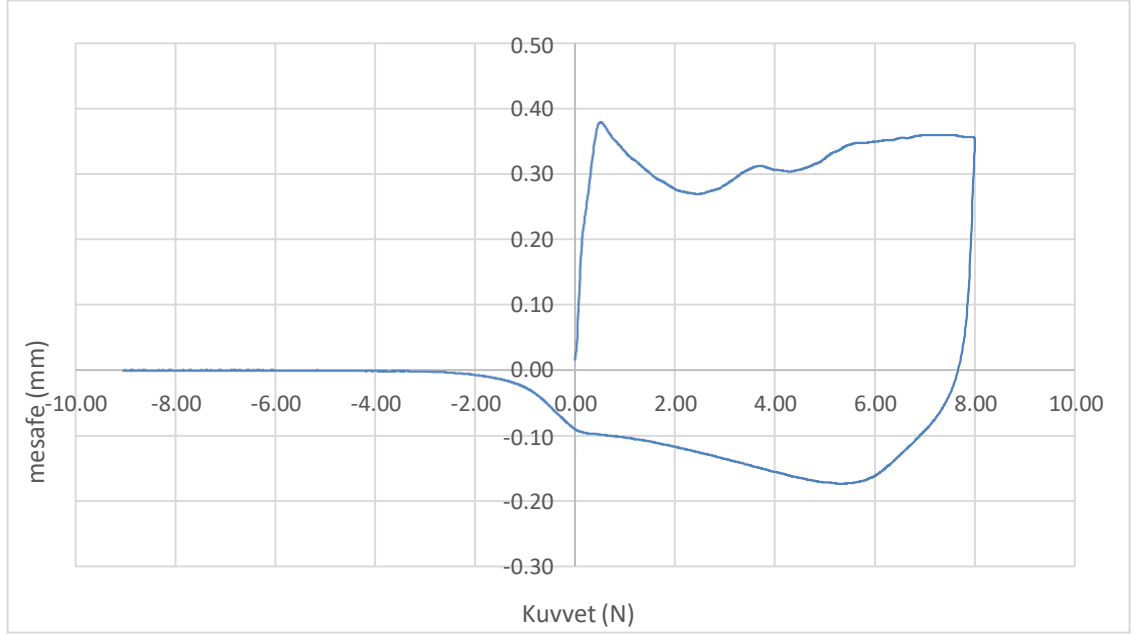
Yapılan analiz sonucunda formülasyonlara ait grafikler elde edilmiştir. Verilen grafiklerde eğrinin ilk kısmı verim noktasında (Y) kesişen iki hisseden oluşur. Birinci bölüm formülasyonun elastik halden plastiğe geçmesi, ikinci bölümse uygulanan basınç altında formülasyonun akmaya başladığı noktadır. Eğrinin grafikden uzaklaşan kısmı daha düşük kuvvetlerde elde edilen değerlerdir.

Çizelge 5.2. Tekstür analizi sonucu

Krem adı	Sıklık değeri
Postbiyotikli krem	7.97 mm
Plasebo krem	8 mm



Şekil 5.10. Plasebo kremin ölçümleri



Şekil 5.11. Postbiyotikli kremin ölçümleri

5.11. Formülasyonlarda Damlacık Boyutu Analizi

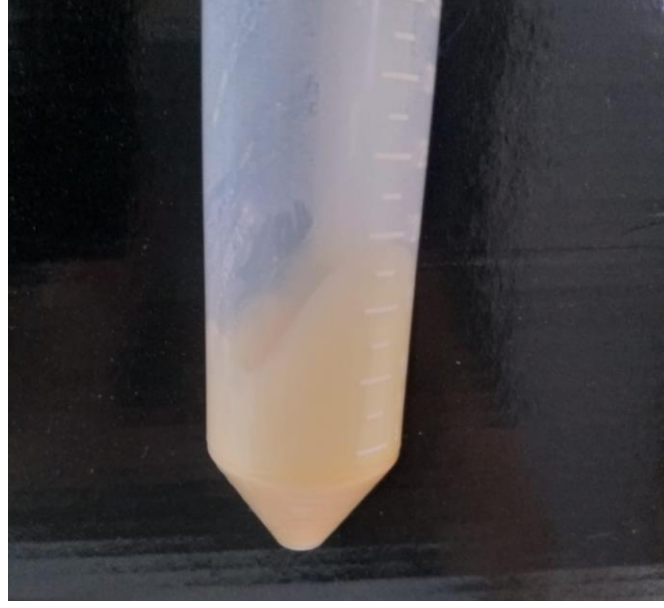
Formülasyonların damlacık boyutu ve boyut dağılımı lazer kırılım cihazı (Zetasizer Nano Series Almanya) kullanılarak ölçülmüş, sonuçlar çizelge 5.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.3. Formülasyonların 0.zamanda damlacık boyutu (DB) ve polidisperslik indisi (PdI) değerleri

Formülasyon	DB(nm)	PdI
Postbiyotikli krem	155,4	0,174
Plasebo krem	199,3	0,299

5.12. Formülasyonların Faz Ayrılması Analizi

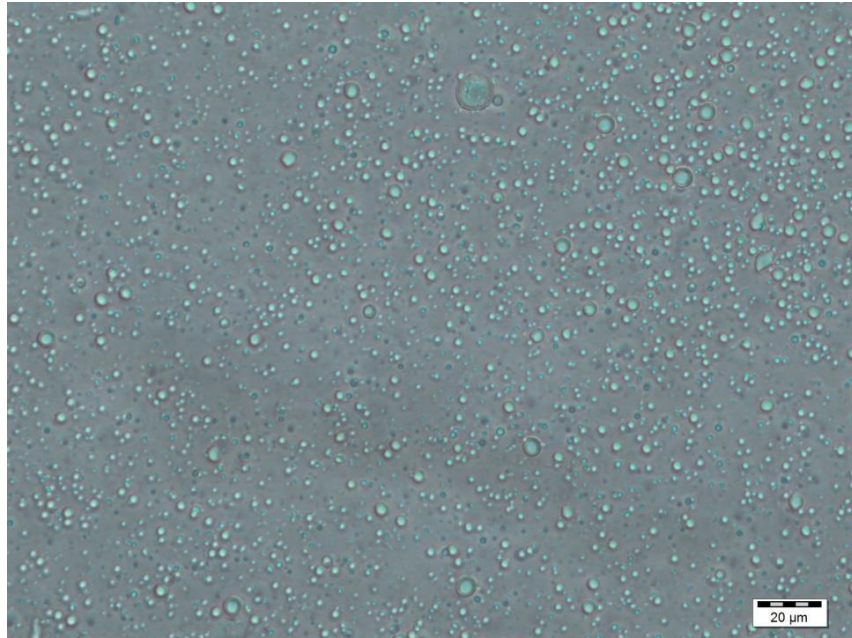
Santrifüj sonucunda formülasyonlarda 0. zamanda faz ayrılması görülmemiştir.



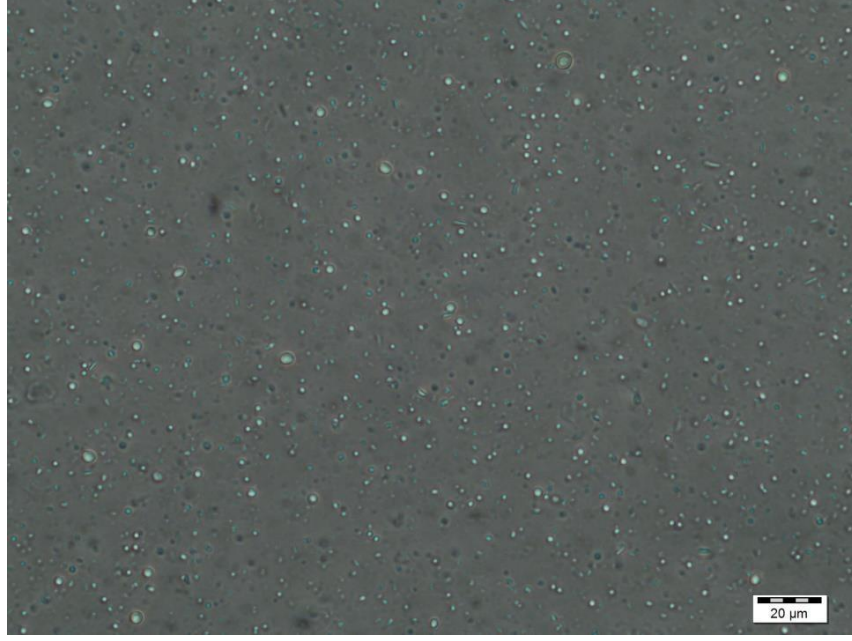
Şekil 5.12. *Faz ayrılması sonucu*

5.13. Formülasyonlarda Morfolojik Analiz

Analizler 0.zamanda yapılmış ve sonuçlar şekil 5.13 ve 5.14’de verilmiştir.Morfoljik analiz sonucu kremin s/y tipi emülsiyon olduğu görülmüştür.



Şekil 5.13. *Plasebo kremin mikroskop görüntüsü*



Şekil 5.14. Postbiyotikli kremin mikroskop görüntüsü

5.14. Formülasyonların Mineral Element Analizi

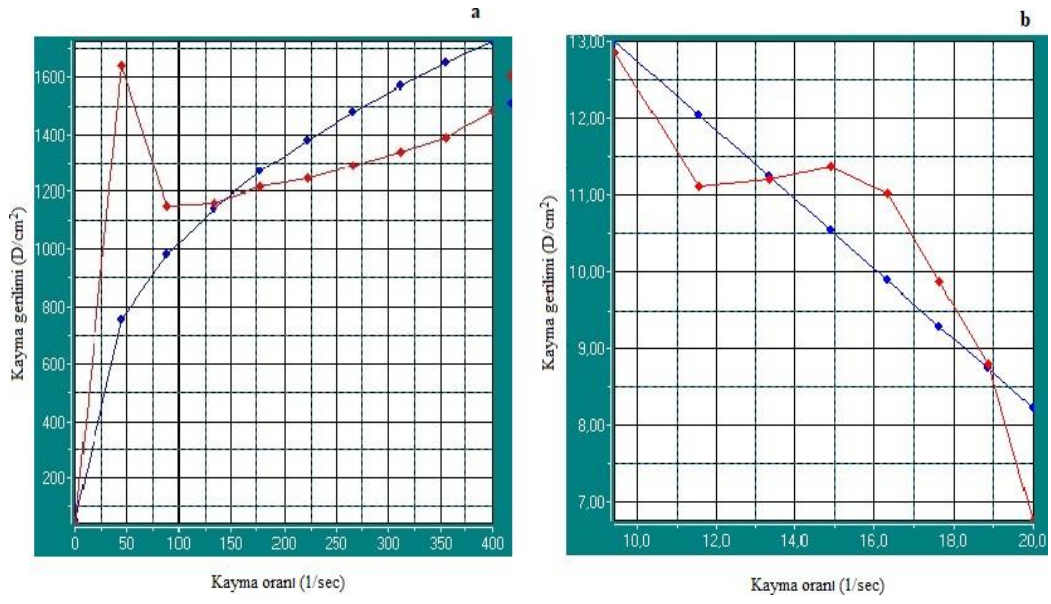
Ölçümler 4.4.7’ de anlatıldığı gibi yapılmış ve sonuçlar g/kg olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 5.4. Mineral element analiz sonuçları.

Krem adı	Mg	Na	K	P	Ca	Fe
Postbiyotikli krem	0.034	0.404	0.165	0.15	0	0
Plasebo krem	0.103	0.223	0	0.09	0	0

5.15. Formülasyonların Termal Değişim Analizi

Formülasyonlara ait sonuçlar reolojik olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 5.15. Postbiyotikli kreme ait reogramlar a.0. zaman; b. termal değişim sonrası.

5.16. Kararlılık Çalışmaları

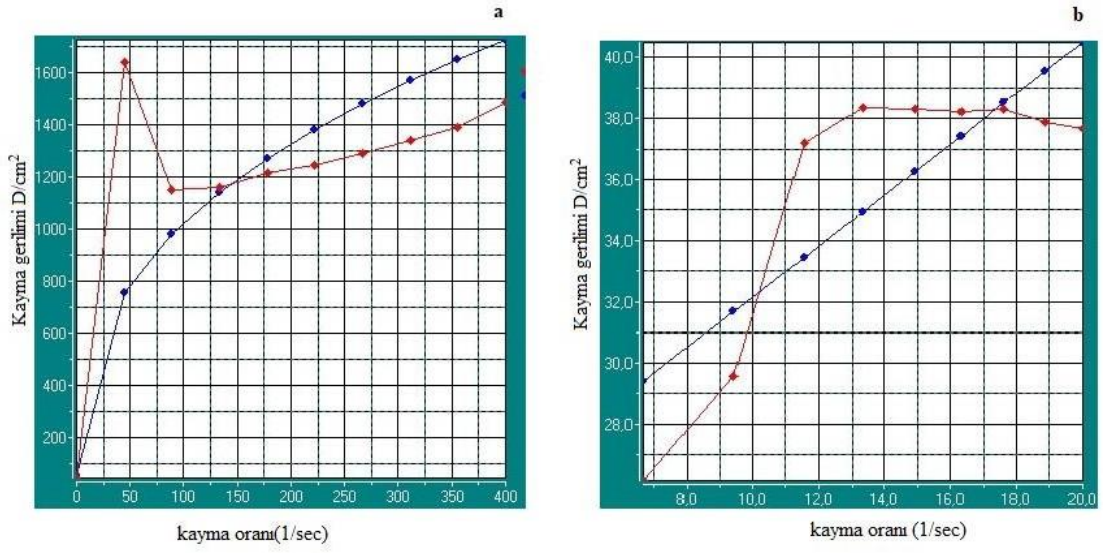
Formülasyonlar stabilite kabinlerinde 1 ay boyunca tutulmuş sonuçlar reolojik ve pH değerleri açısından değerlendirilmiştir.

Çizelge 5.5. Kararlılık testleri

Postbiyotikli krem	pH±SH
0.zaman	4,80±0,0
1.ay	4.77±0,0

Çizelge 5.6. Formülasyonların fiziksel görünüşlerinin kararlılık çalışmaları

Postbiyotikli krem	Renk (0. Ay – 1. Ay)	Koku (0. Ay – 1. Ay)	Görünüş (0. Ay – 1. Ay)
25° C	Değişme yok	Değişme yok	Değişme yok



Şekil 5.16. Postbiyotikli kreme ait reogramlar a.0. zaman; b. 1.ay(Grafiklerde kırmızı çizgi- işlenmemiş veri;mavi çizgi- uygun eğri).

6. TARTIŞMA

Yüksek Lisans tez çalışması kapsamında, postbiyotik içeren yeni bir bakım kremi formülasyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan bakım kreminde kullanılan etkin madde ve yardımcı maddelerin özelliklerine ait elde edilen bulgular ve hazırlanan formülasyona ait karakterizasyon çalışmaları, antimikrobiyal aktivite testleri ve sitotoksosite testleri plasebo kremle karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Emülsiyonlar, cilt bakım ürünlerinin en yaygın şeklidir. Ancak, bu sistemler bazı kararsızlıklar sergileyebilir. Bu nedenle, topikal uygulama için emülsiyonlar geliştirirken, uygun fiziksel ve mekanik özelliklere sahip olup olmadıklarını doğrulamak ve stabiliteelerini daha fazla değerlendirmek ilginçtir. Formülasyonların reoloji çalışmaları, doku analizleri ve mikroskopik gözlemleri yapılmıştır. Numuneler ayrıca santrifüjleme ile hızlandırılmış bir stabilite çalışmasına ve bir termal stres testine tabi tutulmuştur [124].

Formülasyonların oda sıcaklığında 25 °C'de 30 gün saklanması sonrasında formülasyonlarda koku, renk, homojenlik veya faz ayrımında herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Formülasyonlar, 4.03 ile 5.39 arasında, cilt pH'sı ile uyumlu pH değerleri gösterdi ve bu sürenin sonunda da önemli bir değişiklik olmadı. Böylece, hazırlanan kremler kararlı olarak kabul edilmişlerdir [125].

Formülasyonların sıfırıncı zamanda ve kararlılık testinin sonunda reolojik analiz yapılmıştır. Kayma inceme indeksi, kayma hızındaki artışa bağlı olarak viskozitedeki azalma oranını gösterir. Deney sırasında gözlemlenen reogram eğrilerinde herhangi bir tepe noktası veya başka değişiklikler kullanılan ham maddeye bağlı olabildiği için kararsızlığı göstermez [126]. Reometredeki ölçümler sonucunda formülasyonlarda % 93,5 güvenilirliğe sahip Casson modelinin en iyi model olduğu bulunmuştur.

1 aylık kararlılık açılışması sonucunda pH, görünüş ve rolojik sonuçlarda anlamlı fark ($p > 0.05$) gözlenmemiştir.

Bir ısıtma/soğutma döngüsü olan termal değişim testi yapıldı ve formülasyonlar 7 gün boyunca her 24 saatte bir sırasıyla 4 ve 40 °C arasında değiştirildi sonra analizler yapıldı [124]. Formülasyonlarda analiz sonucunda pH ve reolojik açıdan bir değişiklik gözlenmemiştir.

Formülasyonlar, oda sıcaklığında 30 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Faz ayrımı olmayan formülasyonlar en az altı ay boyunca stabil kalmıştır [127]. Santrifüj sonucunda formülasyonlarda faz ayrılması görülmemiştir.

Damlacık boyutu analizi, çoklu emülsiyonların oluşumunu sağlamanın ve çoklu globüllerin zaman içindeki stabilitesini tahmin etmek için oldukça faydalı bir doğrudan yöntemdir. Damlacık boyutu ölçümleri, formülasyon stabilitesinin iyi bir göstergesidir. Stabilitayı etkileyen bir parametrenin damlacık boyutu olduğu ve daha küçük damlacık boyutunun her zaman avantajlı olduğu belirtilmiştir [128]. Analiz sonucunda postbiyotikli kremde damlacık boyutu plasebo kremin damlacık boyutundan daha küçük olduğu görülmüştür.

Doku, mekanik, dokunsal, görsel ve işitsel alıcılar tarafından algılanan bir ürünün mekanik, geometrik ve yüzey özelliklerinin birleşimi olarak tanımlanır. En önemlileri, analiz edilen nesnenin optik (görsel) özelliklerini tanımlamak için kullanılabilen görüntü analizinin yanı sıra mekanik tekniklerdir. Doku mekanik analizi, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde ürün karakterizasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir nesnenin kritik özelliklerinin değerlendirilmesi için hem bir deformasyon hem de çoklu deformasyon protokolleri kullanılır. Tek deformasyon testleri, sertlik, yapışkanlık, esneklik gibi parametreleri belirlemek için kullanılabilir. Tek deformasyon testleri ayrıca ürünün kırılabilirliği ve sıklığı hakkında da bilgi sağlar.

Tekstür analizi, malzemenin elastikten plastik duruma geçtiği ve uygulanan stres altında akmaya başladığı akma noktalarının tanımlanmasını içerir. Bazı ürünler için, TA deneyinin daldırma aşamasında ortaya çıkan ters akma noktalarının varlığı da tespit edilmiştir [121]. Mesafeye karşı grafik kuvvetinden, maksimum kuvvet (N) sıklığa karşılık gelir ve negatif alan (mm) yapışkanlığa karşılık gelir.

Farmasötik formülasyonlarda kullanılacak bir materyal, düşük veya sıfır toksisiteye sahip olmalıdır. Bazı elementlerin eser miktarda dahi bulunması hasta için potansiyel bir tehdit oluşturabilir.

Kozmetik ürünlerde As, Se, Cd, Hg, Pb, Sb ve Tl'ye izin verilmez [129].

Probiyotiklerin tanımlanması genellikle bilinen standart mikrobiyolojik yöntemlerle gerçekleştirilir.FAO/WHO tavsiyelerine göre, probiyotik mikroorganizmalar, suş seviyesine kadar kesin olarak tanımlanmış bir tür sınıflandırmasına sahip olmalıdır. Probiyotik mikroorganizmaların neden olduğu sağlık etkileri, belirli suşa bağlıdır ve bu da doğru tanımlamanın son derece önemli olduğunu gösterir. Ayrıca, suş seviyesine kadar tanımlama, verilen suşların belirli bir ortamda doğal olarak meydana gelen suşlardan ayırt edilmesini sağlar.

Probiyotik bakterilerin ilk karakterizasyonu, Gram boyama yöntemiyle boyamadan sonra hücre şeklinin belirlenmesinin yanı sıra hareketliliğin ve katalaz üretme yeteneğinin değerlendirilmesinden oluşur [130].

Plasebo krem ve postbiyotik içeren kremin antimikrobiyal aktivite testleri deri patojeni olan *S. epidermidis* üzerinde agar kuyucuk testi ve microbroth dilüsyon tekniğiyle değerlendirildi. Postbiyotik içeren kremin MİK değeri 1.25 mg/mL, plasebo kremin MİK değeri ise; 2,5 mg/mL olarak bulundu. Moleküler tanımlama sonucu *Lacticaseibacillus rhamnosus* olduğu belirlenen bakteriden elde edilen postbiyotik içeren bakım kreminin plasebo kreme göre 2 kat daha fazla antimikrobiyal etkisinin olduğu gösterildi. Burada kullanılan bakteri yoğunluğu Mc Farland 5.0 göre ayarlanmıştır. Literatürde Mc Farland değerinin 5-10 arası kullanıldığı, aktivitenin artırılabilmesi için bunun önemli bir avantaj olduğu bildirilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda antimikrobiyal aktivite için genellikle cilt enfeksiyonlarına neden olduğu için *S. aureus* kullanılmıştır. *Lacticaseibacillus rhamnosus* dan elde edilen postbiyotik *S. aureus* gelişimini 10^8 koloniden 10^5 koloniye inhibe ettiği bulunmuştur.

Yine aynı çalışmada *S. aureus* ile enfekte edilmiş epidermal keratinositler kullanılmış ve *Lacticaseibacillus rhamnosus* kullanıldığında keratinositlere karşı olan sitotoksik etkinin azaldığı bulunmuştur [131].

L. plantarum ve *L. reuterinin* postbiyotiklerinin *S. aureus* üzerinde agar kuyucuk testinde, oluşan zon çapları sırasıyla 20.38 ve 26.50 mm olarak bildirilmiştir [132].

Başka bir çalışmada, süpernatanın *S.epidermidis* üzerinde agar kuyucuk testinde ,oluşan zon çapları 15.00 mm olarak bildirilmiştir [133].

HaCat deri keratinositleri üzerinde uygulanan plasebo krem ve postbiyotik içeren kremin en yüksek konsantrasyonu olan 1000 µg/mL'de sitotoksik aktivite göstermemiştir.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızda postbiyotik içeren krem formülasyonu geliştirilmiş olup karakterizasyon ve kararlılık çalışmaları yapılmıştır. Kararlılık çalışmalarında hazırlanmış krem formülasyonları ile plasebo krem formülasyonları kıyaslanmıştır. Formülasyonların 1 aylık kararlılık testi sonucunda görünüş, pH, reolojide anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Kremin hazırlanmasında kullanılan laktobasillis bakterisinin klasik ve moleküler tanımlanması sonucu *Lacticaseibacillus rhamnosus* olduğu tanımlanmıştır. Mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiğinde postbiyotik içeren kremin plesebo kreme göre *S.epidermidis* üzerinde 2 kat daha fazla etkili olduğu bulunmuştur. HaCaT deri keratinositleri üzerinde yapılan sitotoksikite testinde hem plesebo krem hem de postbiyotik içeren kremin sitotoksik etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Postbiyotiklerin, günümüzde yaygın olarak kullanılan probiyotiklere göre bir çok üstünlükleri bulunmaktadır. Bunların başında canlı bakteri içermemeleri, kullanıcılarda sepsise neden olacak kolonizasyon oluşturmamaları, stabil ve güvenilir olmaları sayılabilmektedir. Tez kapsamında formülasyonu yapılan postbiyotik içeren krem için farklı patojen bakteriler üzerinde antimikrobiyal aktivite testleri, farklı sağlıklı deri hücrelerin de sitotoksikite testleri ve immün sisteme etkilerinin araştırılması gibi yöntemler ileri ki çalışmalarda planlanabilir. Tez kapsamında yapılan çalışmaların probiyotik içeren kremlere bir alternatif oluşturabileceğini gelecekte postbiyotiklerle yapılacak çalışmalara önemli bir katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKÇA

- [1] Wegh, C. A., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., & Belzer, C. (2019). Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4673.
- [2] Roberfroid, M. (2007). Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of nutrition*, 137(3), 830S-837S.
- [3] Sezen, A. G. (2013). Prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3), 248-258.
- [4] Vitali, B., Ndagijimana, M., Cruciani, F., Carnevali, P., Candela, M., Guerzoni, M. E., & Brigidi, P. (2010). Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles. *Bmc Microbiology*, 10(1), 1-13.
- [5] Asong, J., Wolfert, M. A., Maiti, K. K., Miller, D., & Boons, G. J. (2009). Binding and cellular activation studies reveal that Toll-like receptor 2 can differentially recognize peptidoglycan from Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Biological Chemistry*, 284(13), 8643-8653.
- [6] Shigwedha, N. (2014). Probiotal cell fragments (PCFs) as “novel nutraceutical ingredients”. *Journal of Biosciences and Medicines*, 2(03), 43.
- [7] Mills, S., Stanton, C., Lane, J. A., Smith, G. J., & Ross, R. P. (2019). Precision nutrition and the microbiome, part I: Current state of the science. *Nutrients*, 11(4), 923..
- [8] Tsilingiri, K., & Rescigno, M. (2013). Postbiotics: what else?. *Beneficial microbes*, 4(1), 101-107.
- [9] Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M., & Feleszko, W. (2020). Postbiotics— a step beyond pre-and probiotics. *Nutrients*, 12(8), 2189
- [10] De Marco, S., Sichetti, M., Muradyan, D., Piccioni, M., Traina, G., Pagiotti, R., & Pietrella, D. (2018). Probiotic cell-free supernatants exhibited anti-inflammatory and antioxidant activity on human gut epithelial cells and macrophages stimulated with LPS. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.

- [11] Singh, P., & Saini, P. (2017). Food and health potentials of exopolysaccharides derived from Lactobacilli. *Microbiol. Res. J. Int*, 22, 1-14.
- [12] Kumar, V., Baweja, M., Liu, H., & Shukla, P. (2017). Microbial enzyme engineering: applications and perspectives. In *Recent advances in applied microbiology* (pp. 259-273). Springer, Singapore
- [13] Contesini, F. J., Melo, R. R. D., & Sato, H. H. (2018). An overview of Bacillus proteases: from production to application. *Critical reviews in biotechnology*, 38(3), 321-334
- [14] Kim, H. S., Chae, H. S., Jeong, S. G., Ham, J. S., Im, S. K., Ahn, C. N., & Lee, J. M. (2005). In vitro antioxidative properties of lactobacilli. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 19(2), 262-265.
- [15] Van Langevelde, P., Van Dissel, J. T., Ravensbergen, E., Appelmelk, B. J., Schrijver, I. A., & Groeneveld, P. H. P. (1998). Antibiotic-induced release of lipoteichoic acid and peptidoglycan from Staphylococcus aureus: quantitative measurements and biological reactivities. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(12), 3073-3078.
- [16] Kearney, S. C., Dziekiewicz, M., & Feleszko, W. (2015). Immunoregulatory and immunostimulatory responses of bacterial lysates in respiratory infections and asthma. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 114(5), 364-369.
- [17] Schaad, U. B., Mütterlein, R., Goffin, H., & BV-Child Study Group. (2002). Immunostimulation with OM-85 in children with recurrent infections of the upper respiratory tract: a double-blind, placebo-controlled multicenter study. *Chest*, 122(6), 2042-2049.
- [18] Huber, M., Mossmann, H., & Bessler, W. G. (2005). Th1-orientated immunological properties of the bacterial extract OM-85-BV. *Eur J Med Res*, 10(5), 209-17.
- [19] Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M., ... & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and

Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(9), 649-667.

[20] Yelin, I., Flett, K. B., Merakou, C., Mehrotra, P., Stam, J., Snesrud, E., ... & Priebe, G. P. (2019). Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nature medicine*, 25(11), 1728-1732.

[21] Imperial, I. C., & Iwana, J. A. (2016). Addressing the antibiotic resistance problem with probiotics: reducing the risk of its double-edged sword effect. *Frontiers in microbiology*, 7, 1983.

[22] Nylund, L., Nermes, M., Isolauri, E., Salminen, S., De Vos, W. M., & Satokari, R. (2015). Severity of atopic disease inversely correlates with intestinal microbiota diversity and butyrate-producing bacteria. *Allergy*, 70(2), 241-244.

[23] Bunyavanich, S., Shen, N., Grishin, A., Wood, R., Burks, W., Dawson, P., ... & Clemente, J. C. (2016). Early-life gut microbiome composition and milk allergy resolution. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138(4), 1122-1130.

[24] Williams, N. T. (2010). Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(6), 449-458.

[25] Boyle, R. J., Robins-Browne, R. M., & Tang, M. L. (2006). Probiotic use in clinical practice: what are the risks?. *The American journal of clinical nutrition*, 83(6), 1256-1264.

[26] Walker, R., & Buckley, M. (2006). Probiotic microbes: the scientific basis.

[27] Fanaro, S. (2013). Feeding intolerance in the preterm infant. *Early human development*, 89, S13-S20

[28] Sanders, M. E. (2009). How do we know when something called “probiotic” is really a probiotic? A guideline for consumers and health care professionals. *Functional Food Reviews*, 1(1), 3-12.

[29] Santosa, S., Farnworth, E., & Jones, P. J. (2006). Probiotics and their potential health claims. *Nutrition reviews*, 64(6), 265-274.

- [30] Senok, A. C., Ismaeel, A. Y., & Botta, G. A. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*, *11*(12), 958-966.
- [31] Shi, L. H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Ismail, N. I. M., & Yin, O. S. (2016). Beneficial properties of probiotics. *Tropical life sciences research*, *27*(2), 73.
- [32] Doron, S., & Snyderman, D. R. (2015). Risk and safety of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*, *60*(suppl_2), S129-S134.
- [33] Snyderman, D. R. (2008). The safety of probiotics. *Clinical infectious diseases*, *46*(Supplement_2), S104-S111.
- [34] Liong, M. T. (2008). Safety of probiotics: translocation and infection. *Nutrition reviews*, *66*(4), 192-202.
- [35] Zeuthen, L. H., Fink, L. N., & Frokiaer, H. (2008). Epithelial cells prime the immune response to an array of gut-derived commensals towards a tolerogenic phenotype through distinct actions of thymic stromal lymphopoietin and transforming growth factor- β . *Immunology*, *123*(2), 197-208.
- [36] Rizzello, V., Bonaccorsi, I., Dongarra, M. L., Fink, L. N., & Ferlazzo, G. (2011). Role of natural killer and dendritic cell crosstalk in immunomodulation by commensal bacteria probiotics. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2011*.
- [37] Iliev, I. D., Tohno, M., Kurosaki, D., Shimosato, T., He, F., Hosoda, M., ... & Kitazawa, H. (2008). Immunostimulatory oligodeoxynucleotide containing TTTCGTTT motif from *Lactobacillus rhamnosus* GG DNA potentially suppresses OVA-specific IgE production in mice. *Scandinavian journal of immunology*, *67*(4), 370-376.
- [38] Iliev, I. D., Kitazawa, H., Shimosato, T., Katoh, S., Morita, H., He, F., ... & Saito, T. (2005). Strong immunostimulation in murine immune cells by *Lactobacillus rhamnosus* GG DNA containing novel oligodeoxynucleotide pattern. *Cellular microbiology*, *7*(3), 403-414.
- [39] Lee, J., Seto, D., & Bielory, L. (2008). Meta-analysis of clinical trials of probiotics for prevention and treatment of pediatric atopic dermatitis. *Journal of allergy and Clinical Immunology*, *121*(1), 116-121.

- [40] del Giudice, M. M., Rocco, A., & Capristo, C. (2006). Probiotics in the atopic march: highlights and new insights. *Digestive and Liver Disease*, 38, S288-S290.
- [41] Majamaa, H., & Isolauri, E. (1997). Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *Journal of allergy and clinical immunology*, 99(2), 179-185..
- [42] Kalliomäki, M., Kirjavainen, P., Eerola, E., Kero, P., Salminen, S., & Isolauri, E. (2001). Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(1), 129-134.
- [43] Nylund, L., Satokari, R., Nikkilä, J., Rajilić-Stojanović, M., Kalliomäki, M., Isolauri, E., ... & De Vos, W. M. (2013). Microarray analysis reveals marked intestinal microbiota aberrancy in infants having eczema compared to healthy children in at-risk for atopic disease. *BMC microbiology*, 13(1), 1-11.
- [44] Burks, A. W., Calderon, M. A., Casale, T., Cox, L., Demoly, P., Jutel, M., ... & Akdis, C. A. (2013). Update on allergy immunotherapy: American academy of allergy, asthma & immunology/European academy of allergy and clinical immunology/PRACTALL consensus report. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(5), 1288-1296.
- [45] Bengmark, S. (2007). Bioecological control of inflammatory bowel disease. *Clinical Nutrition*, 26(2), 169-181.
- [46] Naruszewicz, M., Johansson, M. L., Zapolska-Downar, D., & Bukowska, H. (2002). Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. *The American journal of clinical nutrition*, 76(6), 1249-1255.
- [47] Bowe, W. P., & Logan, A. C. (2010). Clinical implications of lipid peroxidation in acne vulgaris: old wine in new bottles. *Lipids in Health and Disease*, 9(1), 1-11.
- [48] Thomas, D. R. (2004). Psychosocial effects of acne. *Journal of cutaneous medicine and surgery*, 8(4), 3-5.
- [49] Bowe, W. P., & Logan, A. C. (2011). Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis-back to the future?. *Gut pathogens*, 3(1), 1-11.

- [50] Rossi, M., Amaretti, A., & Raimondi, S. (2011). Folate production by probiotic bacteria. *Nutrients*, 3(1), 118-134.
- [51] Kahraman, M., & Karahan, A. G. (2018). Probiyotiklerin tümör baskılayıcı etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 75(4), 421-442.
- [52] Schiraldi, C., Adduci, V., Valli, V., Maresca, C., Giuliano, M., Lamberti, M., ... & De Rosa, M. (2003). High cell density cultivation of probiotics and lactic acid production. *Biotechnology and bioengineering*, 82(2), 213-222.
- [53] Sekhar, M. S., Unnikrishnan, M. K., Vijayanarayana, K., Rodrigues, G. S., & Mukhopadhyay, C. (2014). Topical application/formulation of probiotics: will it be a novel treatment approach for diabetic foot ulcer?. *Medical hypotheses*, 82(1), 86-88.
- [54] Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions—a review. *International journal of medical microbiology*, 300(1), 57-62.
- [55] Meurman, J. H. (2005). Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry?. *European journal of oral sciences*, 113(3), 188-196.
- [56] Hashimoto, M., Tawaratsumida, K., Kariya, H., Aoyama, K., Tamura, T., & Suda, Y. (2006). Lipoprotein is a predominant Toll-like receptor 2 ligand in Staphylococcus aureus cell wall components. *International immunology*, 18(2), 355-362.
- [57] Im, Eunok, et al. "The angiogenic effect of probiotic Bacillus polyfermenticus on human intestinal microvascular endothelial cells is mediated by IL-8. (2009):" *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 297.5 G999-G1008.
- [58] Peral, M. C., Huaman Martinez, M. A., & Valdez, J. C. (2009). Bacteriotherapy with Lactobacillus plantarum in burns. *International wound journal*, 6(1), 73-81..
- [59] Valdez, J. C., Peral, M. C., Rachid, M., Santana, M., & Perdigon, G. (2005). Interference of Lactobacillus plantarum with Pseudomonas aeruginosa in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. *Clinical microbiology and infection*, 11(6), 472-479.
- [60] Wysocki, A. B. (1999). Skin anatomy, physiology, and pathophysiology. *The Nursing Clinics of North America*, 34(4), 777-97.

- [61] Paulino, L. C., Tseng, C. H., Strober, B. E., & Blaser, M. J. (2006). Molecular analysis of fungal microbiota in samples from healthy human skin and psoriatic lesions. *Journal of clinical microbiology*, 44(8), 2933-2941.
- [62] Meglinski, I. V., & Matcher, S. J. (2002). Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions. *Physiological measurement*, 23(4), 741.
- [63] Kolarsick, P. A., Kolarsick, M. A., & Goodwin, C. (2011). Anatomy and physiology of the skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, 3(4), 203-213.
- [64] Koster, M. I. (2009). Making an epidermis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1170(1), 7-10.
- [65] Baumann, L. S., & Baumann, L. (2009). *Cosmetic dermatology*. McGraw-Hill Professional Publishing.
- [66] Yousef, H., Miao, J. H., Alhaji, M., & Badri, T. (2021). Histology, skin appendages. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- [67] Landmann, L. (1986). Epidermis and dermis. In *Biology of the Integument* (pp. 150-187). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [68] Lai-Cheong, J. E., & McGrath, J. A. (2013). Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*, 41(6), 317-320.
- [69] Geerligs, M. (2010). Skin layer mechanics. *Eindhoven: TU Eindhoven*.
- [70] Tyrrell, D. A. J., & Bynoe, M. L. (1966). Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds. *Lancet*, 76-7.
- [71] Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... & Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *nature*, 579(7798), 270-273.
- [72] Chan, J. F. W., Yuan, S., Kok, K. H., To, K. K. W., Chu, H., Yang, J., ... & Yuen, K. Y. (2020). A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *The lancet*, 395(10223), 514-523.

- [73] Pittet, D., Allegranzi, B., Boyce, J., & World Health Organization World Alliance for Patient Safety First Global Patient Safety Challenge Core Group of Experts. (2009). The World Health Organization guidelines on hand hygiene in health care and their consensus recommendations. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 30(7), 611-622.
- [74] Pradhan, D., Biswasroy, P., Naik, P. K., Ghosh, G., & Rath, G. (2020). A review of current interventions for COVID-19 prevention. *Archives of medical research*, 51(5), 363-374.
- [75] Boyce, J. M., & Pittet, D. (2002). Guideline for hand hygiene in health-care settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 23(S12), S3-S40.
- [76] Kratzel, A., Todt, D., V'kovski, P., Steiner, S., Gultom, M., Thao, T. T. N., ... & Pfaender, S. (2020). Inactivation of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 by WHO-recommended hand rub formulations and alcohols. *Emerging infectious diseases*, 26(7), 1592.
- [77] Gold, N. A., Mirza, T. M., & Avva, U. (2018). Alcohol sanitizer.
- [78] Khosrowpour, Z., Ahmad Nasrollahi, S., Ayatollahi, A., Samadi, A., & Firooz, A. (2019). Effects of four soaps on skin trans-epidermal water loss and erythema index. *Journal of cosmetic dermatology*, 18(3), 857-861..
- [79] Spears, M. J., McKillop, K., Marshall, J. L., Stone, K. J., Lilly, N. A., Warner, R. R., & Boissy, Y. L. (1999). Water disrupts stratum corneum lipid lamellae: damage is similar to surfactants1. *Journal of investigative dermatology*, 113(6), 960-966..
- [80] Brandt, S., Meckfessel, M. H., & Lio, P. A. (2014). Tolerability and cosmetic acceptability of a body wash in atopic dermatitis-prone subjects. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 13(9), 1108-1111.
- [81] Widmer, A. F. (2000). Replace hand washing with use of a waterless alcohol hand rub?. *Clinical infectious diseases*, 31(1), 136-143

- [82] Brandt, S., Meckfessel, M. H., & Lio, P. A. (2014). Tolerability and cosmetic acceptability of a body wash in atopic dermatitis-prone subjects. *Journal of drugs in dermatology: JDD*, 13(9), 1108-1111.
- [83] Cucinotta, D., & Vanelli, M. (2020). WHO declares COVID-19 a pandemic. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 91(1), 157.
- [84] Yuen, K. S., Ye, Z. W., Fung, S. Y., Chan, C. P., & Jin, D. Y. (2020). SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions. *Cell & bioscience*, 10(1), 1-5.
- [85] Chauhan, L., & Gupta, S. (2020). Creams: a review on classification, preparation methods, evaluation and its applications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(5-s), 281-289.
- [86] Shah RN, Methal BM, A Hand book of Cosmetics.
- [87] Draelos, Z. D. (2011). The art and science of new advances in cosmeceuticals. *Clinics in Plastic Surgery*, 38(3), 397-407.
- [88] Dreno, B., Araviiskaia, E., Berardesca, E., Bieber, T., Hawk, J., Sanchez-Viera, M., & Wolkenstein, P. (2014). The science of dermocosmetics and its role in dermatology. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 28(11), 1409-1417.
- [89] <https://www.kenevircim.com.tr/dermokozymetik-nedir>
- [90] Kumar, K. K. (2019). Importance of Critical Quality Attributes in Biopharmaceuticals Development. *Research Journal of Topical and Cosmetic Sciences*, 10(1), 29-33.
- [91] Sahu, T., Patel, T., Sahu, S., & Gidwani, B. (2016). Skin cream as topical drug delivery system: a review. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 4(5), 149.
- [92] Sharma, A., Vaidya, D., Gupta, A., & Kaushal, M. (2019). Formulation and evaluation of wild apricot kernel oil based massage cream. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 1017-1021.

- [93] Salgado, A., Raposo, S., Marto, J., Silva, A. N., Simões, S., & Ribeiro, H. M. (2014). Mometasone furoate hydrogel for scalp use: in vitro and in vivo evaluation. *Pharmaceutical Development and Technology*, 19(5), 618-622.
- [94] Mittal, P., Prasoodanan PK, V., Dhakan, D. B., Kumar, S., & Sharma, V. K. (2019). Metagenome of a polluted river reveals a reservoir of metabolic and antibiotic resistance genes. *Environmental microbiome*, 14(1), 1-12.
- [95] Tiwari, V. K. (2012). Burn wound: How it differs from other wounds?. *Indian journal of plastic surgery*, 45(02), 364-373.
- [96] Mahalingam, R., Li, X., & Jasti, B. R. (2008). Semisolid dosages: ointments, creams, and gels. *Pharm. Manuf. Handb*, 1, 267-312.
- [97] Schmidtsdorff, S., & Schmidt, A. H. (2019). Simultaneous detection of nitrosamines and other sartan-related impurities in active pharmaceutical ingredients by supercritical fluid chromatography. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 174, 151-160.
- [98] Rai, P., Poudyl, A. P., & Das, S. (2019). Pharmaceutical Creams and their use in wound healing: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3-s), 907-912.
- [99] Ostergaard, T., Gomes, A., Quackenbush, K., & Johnson, B. (2004). Silicone quaternary microemulsion: A multifunctional product for hair care. *Cosmetics and toiletries*, 119(11), 45-52.
- [100] Cioca, G., & Calvo, L. (1990). Liquid crystals and cosmetic applications. *Cosmetics and toiletries*, 105(5), 57-62.
- [101] Arora, N., Agarwal, S., & Murthy, R. S. R. (2012). Latest technology advances in cosmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(3), 168-182.
- [102] aiswal, M., Dudhe, R., & Sharma, P. K. (2015). Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech*, 5(2), 123-127.

- [103] Oh, J., Byrd, A. L., Park, M., Kong, H. H., Segre, J. A., & NISC Comparative Sequencing Program. (2016). Temporal stability of the human skin microbiome. *Cell*, 165(4), 854-866.
- [104] Ulta Beauty. Available online:<https://www.ulta.com>.
- [105] Puebla-Barragan, S., & Reid, G. (2021). Probiotics in cosmetic and personal care products: Trends and challenges. *Molecules*, 26(5), 1249.
- [106] www.oggusto.com
- [107] Thapa, B. R. (2005). Health factors in colostrum. *The Indian Journal of Pediatrics*, 72(7), 579-581.
- [108] Quigley Iii, J. D., & Drewry, J. J. (1998). Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre-and postcalving. *Journal of Dairy Science*, 81(10), 2779-2790.
- [109] Uruakpa, F. O., Ismond, M. A. H., & Akobundu, E. N. (2002). Colostrum and its benefits: a review. *Nutrition research*, 22(6), 755-767.
- [110] Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. R., & Manual, B. S. (2005). Systematic bacteriology. *The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria, Bergey's Manual Trust, Department of Microbiology and Molecular Genetics*, 2.
- [111] Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. (2008). Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(4), 728-764.
- [112] Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H., Mattarelli, P., ... & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*.
- [113] Capurso, L. (2019). Thirty years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: a review. *Journal of clinical gastroenterology*, 53, S1-S41.

- [114] Doron, S., Snyderman, D. R., & Gorbach, S. L. (2005). Lactobacillus GG: bacteriology and clinical applications. *Gastroenterology Clinics*, 34(3), 483-498.
- [115] Kankainen, M., Paulin, L., Tynkkynen, S., von Ossowski, I., Reunanen, J., Partanen, P., ... & de Vos, W. M. (2009). Comparative genomic analysis of Lactobacillus rhamnosus GG reveals pili containing a human-mucus binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(40), 17193-17198.
- [116] Çolak, F., 2006, Çeşitli Habitatlardan İzole Edilen Endosporlu Basillerin Antimikrobiyal Aktivite Açısından Taranarak Metabolitlerin Saflaştırılması, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 138 s.
- [117] Mosmann, T. (1983) Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63.
- [118] Tamer, A.Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, D., Bursalıoğlu, M., Oğultekin, R. (1989), 3. ve 4. Sınıf Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu, Anadolu Üniversitesi, Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları, No. 74, Eskişehir, 23-25, 240
- [119] Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H.B., Gürgün, V., Halkman, A., Kaleli, D., Kuleasan, H., Özkaya, D.F., Tunail, N., Tükel, Ç. (2000), Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Birimi, Ankara, 2. Baskı, 229- 275,514-515
- [120] Ryan, M.P., Rea, M.C., Hill, C., Ross, R.P. (1996), 'An Application in Cheddar Cheese Manufacture for a Strain Of Lactococcus lactis Producing a Novel Broad-Spectrum Bacteriocin, Lacticin 3147,' *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (2), 612–619. Zhou, J.S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K., Gill, H.S.(2005), 'Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium strains,' *International Journal of Food Microbiology*, 98, 211-217.
- [121] Tai, A., Bianchini, R., & Jachowicz, J. (2014). Texture analysis of cosmetic/pharmaceutical raw materials and formulations. *International journal of cosmetic science*, 36(4), 291-304.

- [122] Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T., Akpınar-Bayızit, A., Turan, M. A., & Taskin, M. B. (2017). Probiotic cream: Viability of probiotic bacteria and chemical characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1), e12797.
- [123] Estanqueiro, M., Conceição, J., Amaral, M. H., Santos, D., Silva, J. B., & Lobo, J. M. S. (2014). Characterization and stability studies of emulsion systems containing pumice. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, 50, 361-369.
- [124] Estanqueiro, M., Conceição, J., Amaral, M. H., Santos, D., Silva, J. B., & Lobo, J. M. S. (2014). Characterization and stability studies of emulsion systems containing pumice. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, 50, 361-369.
- [125] Calixto, L. S., & Maia Campos, P. M. B. G. (2017). Physical–Mechanical characterization of cosmetic formulations and correlation between instrumental measurements and sensorial properties. *International journal of cosmetic science*, 39(5), 527-534.
- [126] Budtova, T., Bel'nikovich, N., & Zoolshoev, Z. (2001). Anomalous behaviour of ultrahigh molecular weight poly (methyl methacrylate) in the converging and shear flows. *European polymer journal*, 37(11), 2231-2237.
- [127] Anchisi, C., Maccioni, A. M., Sinico, C., & Valenti, D. (2001). Stability studies of new cosmetic formulations with vegetable extracts as functional agents. *II Farmaco*, 56(5-7), 427-431.
- [128] Mahmood, T., & Akhtar, N. (2013). Stability of a cosmetic multiple emulsion loaded with green tea extract. *The Scientific World Journal*.
- [129] Silva, P. S., Oliveira, S. M., Farias, L., Fávaro, D. I., & Mazzilli, B. P. (2011). Chemical and radiological characterization of clay minerals used in pharmaceuticals and cosmetics. *Applied Clay Science*, 52(1-2), 145-149.
- [130] Zawistowska-Rojek, A., Zaręba, T., & Tyski, S. (2022). Microbiological Testing of Probiotic Preparations. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(9), 5701.

[131] Mohammedsaeed, Walaa et al. "Lactobacillus rhamnosus GG inhibits the toxic effects of Staphylococcus aureus on epidermal keratinocytes." *Applied and environmental microbiology* vol. 80,18 (2014): 5773-81. doi:10.1128/AEM.00861-14

[132] Yazgan, H. (2020). Effects of Cell Free Supernatants of Lactobacillus reuteri ATCC55730 and Lactobacillus plantarum FI8595 Against Selected Food-Borne Pathogens and Fish Spoilage Microorganisms. *European Journal of Science and Technology* No. 20, pp. 485-489.

[133] Htwe, M. M., Teanpaisan, R., Khongkow, P., & Annuaikit, T. (2019). Liposomes of probiotic's lyophilized cell free supernatant; a potential cosmeceutical product. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74(8), 462-466.