

ALPHANOVA® *Bébé*

ALPHAPROTECT® Bilimsel dosyası

**CİLT EKOSİSTEMİ 'nin
aktif korunması için**

BERATLI ALINMIŞ YENİ AKTİF

İÇİNDEKİLER

1. Giriş.....	1
2. l'Alphaprotect'in tanımı.....	8
3. Mikrobiyolojik testler	9
3.1. Mikrop çoğalması.....	9
3.2. Çoğalma yarışı	13
4. Sonuç ve kozmetik yarar	16

1. GİRİŞ

CİLT EKOSİSTEMİ

Normal ve sağlıklı cilt cildin yüzeyinde veya üst tabakalarında kendisi ile sembiyoz yaşam içinde bulunan çok sayıda mikroorganizma barındırır. Bununla birlikte cilt üzerinde bulunan **farklı tür sayısı** kısıtlıdır.

1938'de cerrah Price [1] cilt jermelerini iki sınıfa ayırır :

- Değişmez orta yoğunlukta kalmakla ve kişilerin çoğunda bulunmakla beraber cilt üzerinde çoğalanlar. Bunlar **Saprofit flora veya kalıcı sakinlerdir.**
- Cilde bağlı kalmaksızın yaşayıp dışarıdan gelenler ve bileşimi ve türler arasındaki dağılımı daha değişken olanlar: Bunlar **geçici flora, parazitlerdir.**

Çok basite indirildiği için bazı yönleri tartışılabilir bu sınıflama bugün bile geçerlidir

Cilt florasının bileşimi :

Cildin kalıcı florasının bileşimi aşağıdadır :

Tablo 1

.	<i>Micrococcaceae</i>
.	<i>Koagülaz negatif stafilokoklar</i>
.	<i>Peptokoklar</i>
.	<i>Microcoklar spp.</i>
.	<i>Korineform bakteriler</i>
.	<i>Korinebakteriler spp.</i>
.	<i>Brevibacterium</i>
.	<i>Propionibacterium</i>
.	<i>Acinetobacter</i>
.	<i>Pityrosporum.</i>

Kalıcı organizmalar yüzeyde ve üst derinin üst tabakalarında mikro koloniler oluştururlar. Bu jermeler bir yerden diğerine ve bir kişiden diğerine büyük dağılım çeşitlilikleri gösterirler.

1. tabloda sözü edilen farklı sınıflar konusunda birkaç not :

Sağlıklı cilt üzerinde en az 8 türü bulunan " *Koagülaz negatif stafilokoklar* en yaygın mikroorganizmalardır (*S. epidermis*, *S. hominis* vs. . .), bunlar temelde ve normal olarak patojen değildir.

[Buna karşılık meşhur *S. Aureus* (*altınlı Stafilokok*)) koagülaz pozitifir ve dışarıdan gelen patojen jermeler arasında sınıflanır. 1 nolu tabloda yer almaz. İnsan cildi *S. aureus*'ün barınmasına karşı belli bir direnç gösterir, bununla birlikte kişilerin % 20 ila 40'ı tarafından taşınırlar. Dolayısıyla kalıcı ile geçiciler arasındaki sınıflama kesin değildir.

Bol miktarda *Mikrokok* (en az 8 türü) *Stafilokokları* izlerler.

Aerobik ve anaerobik *Corynebacterium* jermi önemli fakat hala az bilinen bir cilt jermi sınıfını oluştururlar (*C. minutissimum*, *C. xerosis*, *C. lipophilicus*). Bu jermeler sıklıkla nemli parmak aralarında bulunurlar. Önemli bir kısmı *Propionobacterium granulosum*'den oluşur (evvelce *Corynebacterium granulosum* olarak adlandırılırdı).

Propionobacteries ler arasında *P.acnes* en yaygın ve en bilinenidir. *P.acnes* sayısı ile cilt sebumlarının miktarı arasında lineer bir bağlantı ortaya konulmuştur [2].

Esasen *Pityrosporum* yağ salgı alanlarına (saç derisi) bağlantılı olarak bulunan lipofil bir lipittir (*P. ovale*). Saç derisinde oluşan kepeklerin sorumlusu olarak addedilirler.

Candida albicans ile ilgili olarak : yukarıdaki tabloda yer almamasına rağmen bu tür çok sayıdaki vakada (kişilerin % 40'ında) mukozalarda fakat nadiren normal cilt üzerinde bulunur. Ancak Bağışıklığın yok edilmesi vakalarında veya Psoriasis cinsi patolojilerde ve atopik dermatitlerde cilt düzeyinde *C. Albicans* 'e rastlanır.

Yukarıda sözü edilen sınıfların dışında olan ve cilt veya saç derisinden ayrıştırılabilen mikroorganizmalar geçici floraya ait mikroorganizmalar olarak addedilmelidir.

Cilt florasının rolü

Bu konu bizi şu soruya götürür : cilt mikroflorası ne işe yarar, organizmanın savunmasında rolü nedir ?

Eller, yüz, saç derisi bir “jerm tuzağı” gibi çalışırlar. Bu yüzeyler dışardan gelmiş jermelerin çoğunu temas ile yakalarlar : buna paralel olarak cilt istilalara karşı yüksek savunma yeteneğine sahiptir.

Geçici jermeler sağlıklı, dokunulmamış bir cilt üzerinde çabucak nötralize edilirler.

Belli sayıda in vitro ve in vivo araştırmaların sonuçları bizi kalıcı cilt florasının cildi dışarıdan gelen bir mikrobiyolojik istilaya karşı iki mekanizma yardımıyla koruduğunu düşünmeye sevk eder :

- **Pasif savunma : arazinin işgali,**
- **Aktif savunma : inhibe edici biyositler veya hücre bağlantısını koruyucu maddeler salgılayarak patojen jermelere elverişsiz bir ortam yaratılması.**

İkinci görüş çok sayıda yayında temel unsur olarak belirtilmiş olduğu halde şimdi anlaşılmaktadır ki daha çok birinci görüş cildin üzerinde zararsız mikroorganizmaların baskınlığını açıklamaya imkân vermektedir.

Böylece cildin hafifçe asitli pH'ı, sebum yağ asitlerinin varlığı, bazı jermeler tarafından salgılanan antibiyotikler mikrobiyolojik dengede ve cilt savunma mekanizmalarında önemli bir rol oynamıyor olarak görülürler.

Buna karşılık, bir cerrahi yarada zararlı bir enfeksiyonu önlemek için bir dezenfeksiyona ve ulaşılması imkânsız bir steriliteye sahip olmaya çabalamak yerine yara üzerine patojen olmayan stafilokok süspansiyonu buharlaştırmak daha yararlı görülmüştür. Yağdan arınmış ve aseptize edilmiş bir cilt üzerinde Altınlı Stafilokok kolonizasyonu işlem görmemiş bir cilde göre daha kolaydır.

Kligman 1976'da şöyle yazıyordu : “Tehditkâr mikroorganizmalar ile derinin mücadele etmesine imkân veren ne uzmanlaşmış bir mekanizma ne de fizyolojik bir ajan vardı. Doğuştan gelen mikroflora yabancı istilasına karşı ana engeldir.

Dolayısıyla kalıcı floranın korunması veya yeniden düzenlenmesi bir enfeksiyon riskini ve zararlarını azaltmak için koruyucu bir engel oluştururlar.” [3]

Bugün hiç kimse bedensel sağlığın talk ve parfüm ile pudralamaktan ibaret olduğu zamana dönüşün “avukatı” olmayacaktır. Günlük duş, sabun, jel, banyo köpüğü, deodorant kullanımı sürekli gelişmekte olan hijyen, temizlik ve rahatlık önlemleridir.

Bununla birlikte ölçüsüz davranışlar çoğalıyorlar, cilt çok sık tekrarlanan bir soyulmadan, deterjanların, çamaşır tozlarının ve diğer sabunların saldırganlığından zarar görüyor. Cilt ekosistemine saygı anlamında hiçbir şey öngörülüyor. Bu ise mikropların genel nüfusunun azalmasına yol açıyor.

Uygun çoğalma sahası olan cilt dolayısıyla kalıcı jermeler ile dışarıdan gelen jermeler arasında bir yarış düzenlenecektir. Gittikçe daha çok kirlenen çevreye böylesine maruz kalmış bir cilt çeşitli mikrop saldırılarına uğramaya adaydır.

Bundan korunmak için çözüm muhakkak ki gittikçe daha fazla antibakteriyel etkenli ürün kullanmak değil fakat bu yönde tasarlanmış ürünler ile ekolojik müdahale imkanları üzerinde düşündürmektir.

ALPHAPROTECT

Bu düşünmeye katkıda bulunmaya, **doğuştan gelen doğal mikroflorayı seçici şekilde korumaya ve yeniden düzenlemeye**, doğanın cilde ayırdığı ekolojik yuvaları mikrofloranın işgal etmesine yardımcı olmaya aday oluyor.

Cilt üzerinde ekolojik bir müdahale nasıl öngörülebilir?

Bunun için cilt mikroorganizmalarının yaşam şekli üzerinde biraz daha fazla eğilmek gerekir. Birçok tür aynı zamanda aerobik ortamda da çoğalma yeteneğine sahip olsalar bile jermelerin büyük kısmı daha çok anaerobik bir ortamda bulunur. Cildin en zararsız bakterileri arasında yer alan *C. Granulosum* sadece oksijensiz ortamda çoğalır, hâlbuki *C. xerosis* ve de *S. Epidermis* oksijenli veya oksijensiz bir ortama tahammül ederler.

Mikroorganizmalar tarafından en kolay özümlenen gıda kaynaklarından biri her yerde hazır olan glikozdur. Üst deride glikoz yoğunluğu büyük miktarda mikroorganizmayı beslemek için yeterlidir. Bununla birlikte *Corynebacterium lipophilicus* gibi bazıları lipitlerden ayrı olarak yağ asitlerine veya trigliseritlere ihtiyaç duyarlar.

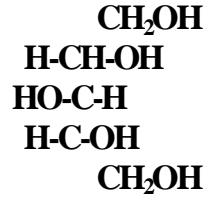
Böylece oksijen, besleyici ortam ve temel unsurlar mikrop ayıklamasında bir rol oynayabilirler. Seçilmiş bir alan üzerinde mevcut jerm sayısı daha sonra mevcut su miktarına ve jermeler arasında yarışmaya bağlıdır. Normal olarak zararsız, saprofit olan jermelerin bile sayıları belli bir eşiği aştığında patojen olduklarını kabul etmek gerekir (örneğin : *C. minutissimum*).

Bir defa daha, aşırı hijyen ile (kalıcı jermelerin yokluğu) hijyen yoksunluğu (jermelerin aşırı sayıda mevcudiyeti) ve çok kuru cilt (bakteri gelişmesine az uygun) ile çok nemli cilt (koltuk altları, kapalı elbiseler) arasındaki iyi denge cilt florasının yararlı şekilde sürdürülmesini kolaylaştırır.

2. ALPHAPROTECT'İN TANIMI

ALPHAPROTECT: iki tamamlayıcı aktif ilkeden oluşur :

· **XYLITOL**, xylose'dan türemiş bir pentol (C₅H₁₂O₅)



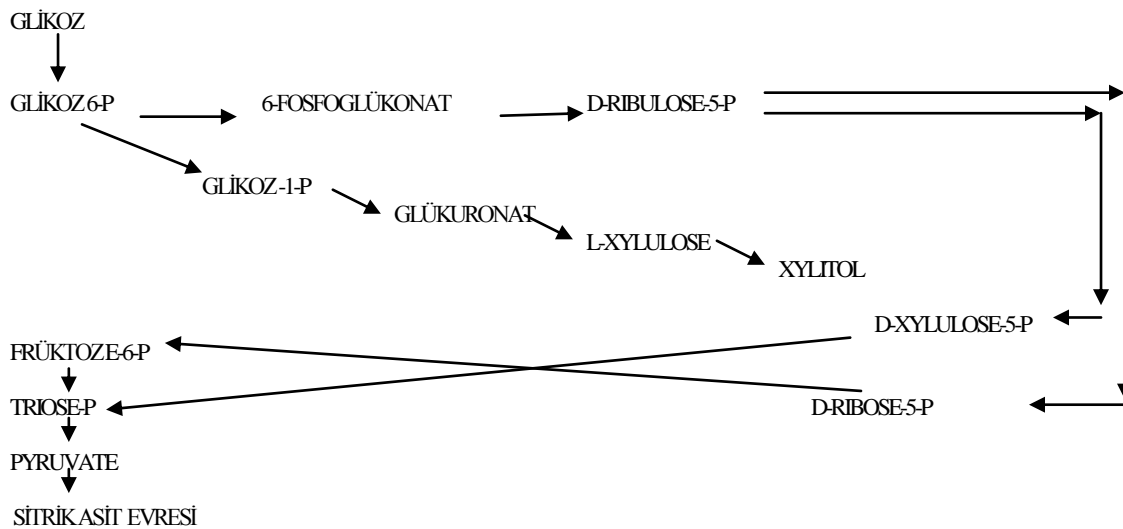
· **LACTITOL**, (4-O-(β-galactosyl) D-glucitol.

Bu iki molekülün ortak noktası yumuşak bir kimyasal yöntem olan katalitik hidrojenasyon ile doğal maddelerden türemiş olmalarıdır. **XYLITOL** türediği madde **xylose**'dur, kepek, saman ve odun'un hemisellüloz monomeridir ; **LACTITOL** ise sütün doğal şekeri olan laktozdan elde edilir

Bu molekülleri iki özellik belirginleştirir : moleküller düşük kalori değerli bir şekerlendirme yeteneğine sahiptirler ve çürüğe yol açmazlar. Bizi ilgilendiren bu ikinci gözlemdir : çürümeden sorumlu ağız jermeleri (örneğin *Streptococcus mutans*) bu polyolleri metabolize edemezler (sakarozun aksine), bazı jermeler büyümeleri sırasında bile inhibe edilirler.

Buna karşılık, bağırsak florasının diğer mikroorganizmaları bu maddeleri hazmetme yeteneğine sahiptir. Bu polyoller olan **XYLITOL** ve **LACTITOL** dolayısıyla diğer görevlerinin yanı sıra gıdaların hazmedilmesi bakımından mikrop ekolojisinin regülâtörü olarak konumlanırlar.

Bu seçiciliğin mekanizmaları polyolleri özümsebilir şekere dönüştürme yeteneğine sahip enzimlerin varlığı veya yokluğu üzerine şüphesiz oturur, özümsebilir şekerler yararlı jermelerin zararlı ve tehlikeli jermelerin aleyinde çoğalmalarını desteklerler.



ŞEMA 1

3. MİKROBİYOLOJİK TESLTLER

3.1. Mikrop çoğalması

Önce farklı üç jermi **ALPHAPROTECT®** ihtiva eden veya etmeyen standart ortamlarda çoğalmasını karşılaştırdık.

Bir yandan cilt üzerinde her zamanki kalıcı bakteri olmayan, çoğu zaman kötü hijyenin göstergesi jerm olarak addedilen gram negatif *Escherichia coli* ve bunun yanı sıra *Staphylococcus aureus* (iyi bilinen, cilt üzerinde sıkça rastlanan patojen jerm) ve diğer yandan cildin doğal kalıcı jermi olan, patojen olmayan, zararsız *Corynebacterium xerosis* söz konusudur.

Bu jermilerin % 2 ila % 5 **ALPHAPROTECT®** ihtiva eden veya etmeyen ortamlarda çoğalmasını bireysel olarak inceledik.

Standart ortamda bileşim:

Kazeik Peptone	0.5%
Maya özü	0.5%
NaCl	0.5%
Glikoz	0.5%
Su	qsp. 100
pH 6,5'a ayarlıdır	

Glikozu bu ortamlara karbonlu kaynak olarak dahil etmeyi seçmemizin iki sebebi vardır :

- Cilt ihmal edilemez yoğunlukta glikoz ihtiva eder. Dolayısıyla **ALPHAPROTECT®**'i glikozun varlığında (glikozun alternatifi kaynak olarak değil) test etmek doğaldır.
- Sonra bazı jermi glikozun varlığı karşısında çoğalmazlar, karşılaştırma yapan araştırmalar bu katkı olmaksızın yanlış sonuç verirlerdi.

İşlem şekli :

Her bakterinin ana eriyiğinden yola çıkarak olağan bir jeloz kutusu tohumlanır. Bu kutular *E. coli* ve *S. Aureus* için 37°C'de bir gece boyunca, *C. Xerosis* için 2 gece boyunca kuluçkaya yatırılır. Aynı sürelerde 37°C 'de tutulmuş sıvı standart ortamlar bu kutularla tohumlanırlar.

Daha sonra ÖRNEK ortam ve **ALPHAPROTECT**[®] ihtiva eden araştırma ortamları eşdeğer yoğunlukta tohumlanır.

Tüm araştırma anaerobik olarak yapılır, böylece jermelerin gözenekler içinde, katlanmış deri arasında, kendi üzerine dönmüş organlar içinde ve keseciklerin dibinde çoğunlukla havadan uzak kaldıkları şartlar benzeştirilmiş olur.

Bulanıklılık ve jerm sayısı arasındaki orantısal ilişki önceden sayma yoluyla belirlenmiş olarak bakteri çoğalmasının izlenmesi 700 nm'de optik densite ölçümü yoluyla yapılır (bulanıklılık). (başlangıçta ortamın her ml'si için yaklaşık 10⁶ bakteri sayılır).

Sonuçlar :

Her üç jerm ortamlarda farklı şekilde gelişirler: *E. coli* çoğalır, *S.aureus* daha yavaş harekete geçer, *C. Xerosis* daha uzun bir belirsizlik süresine sahiptir.

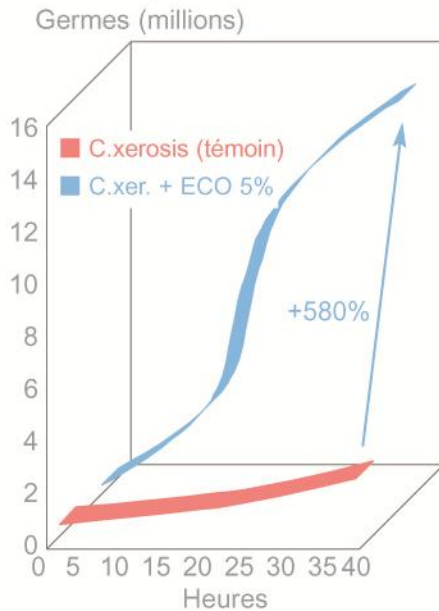
Bununla birlikte şekil 1 dışardan gelen ve kalıcı olmayan her iki jermi çoğalmalarının **ALPHAPROTECT**[®] karşısında inhibe edildiğini , halbuki cildin doğal jermi olan *Corynebacterium*'un **ALPHAPROTECT**[®] varlığı halinde daha iyi ve daha hızlı geliştiğini açıkça gösterir.

Şekil 1

Kalıcı doğal jermeler

Corynebacterium xerosis'in çoğalması = f (zaman)
Jermier (milyon)

Croissance de *Corynebacterium xerosis* = f (temps)

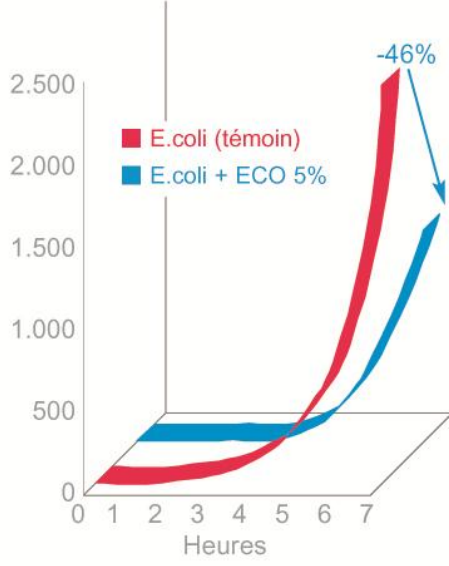


(Témoin = örnek) (Heures = saatler)

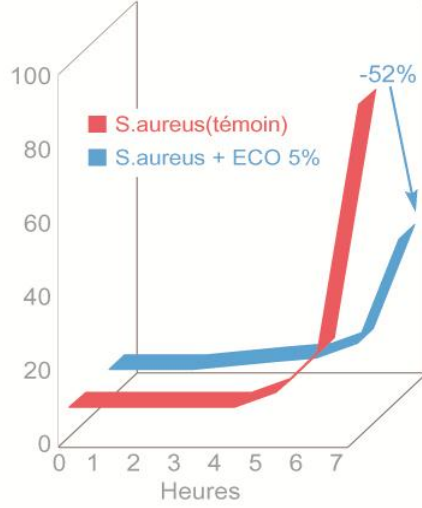
Parazit geçici jermeler

E.coli'nin çoğalması = f (zaman)
Jermeler (milyon)

Croissance de E.coli = f (temps)
Germes (millions)



Croissance de S.aureus = f (temps)
Germes (millions)



S. aureus'un çoğalması = f (zaman)
Jermeler (milyon)

Alt yazısı : ECO = ALPHAPROTECT®

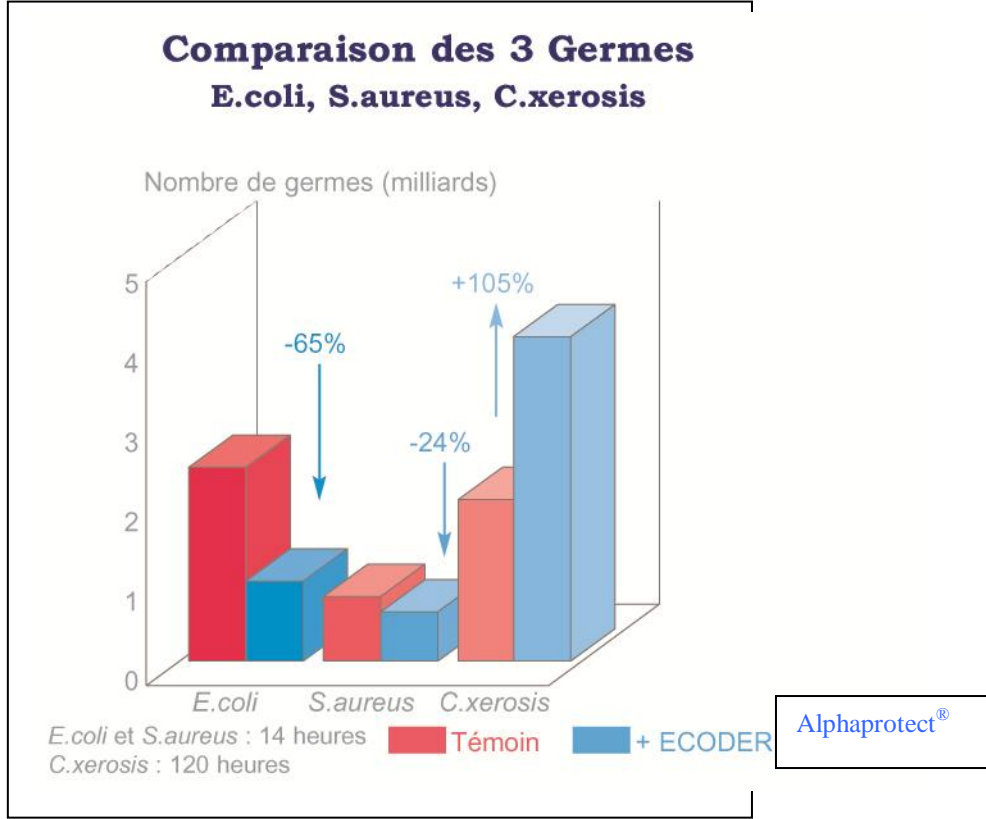
Şekil 2 daha az yoğunlukta ALPHAPROTECT® ile ikinci bir araştırmanın sonucunu gösterir.

Şekil 2

3 jermi karşılaştırılması

E. coli, *S. aureus*, *C. xerosis*

Nombre de germes (milliards) = Jerm sayısı (milyar)



Heures = saatler

Témoïn = örnek

Böylece cildin saprofit jermi polyolleri özümseme yeteneğine sahiptir, hâlbuki dışarıdan gelen arzu edilmeyen jermeler olan *E. coli* ve *S. aureus* çoğalmada gecikme gösterirler.

3.2. Çoğalma yarışı

Staphylococcus aureus ile *Corynebacterium xerosis*' in aynı ortamda yarışma halinde çoğalmalarını farklı bir testte karşılaştırdık.

Protokol :

Pastör Enstitüsünün *S.aureus*'unun (CIP 53154) ve *Corynebacterium xerosis'inin* (CIP 100653) liyofilizatları Triptik Soya Bulyonunun sıvı ortamında yeniden canlandırılır. Aynı ortamda (TSB) çift pikajdan sonra her örneğin bir kısmı -50°C'ye konur, diğer kısmı örneğin metabolizmasını şartlandırmak için aşağıdaki ortamların her birine 48 saat süreyle konur :

	A ortamı	B ortamı
Glikoz	0.5	0.5
ALPHAPROTECT	-	2.0
Kazeik pepton	0.5	0.5
Maya özü	0.5	0.5
NaCl	0.5	0.5
Su	qsp 100	qsp 100

Her ortamın pH'ı 6,5'a ayarlanır ; kültürün hacmi 10 ml (tüp) dir, kuluçka süresi 37°C'de 48 saattir. Kültürlerin her biri anaerobi fiyoller çinde 250 ml'lik A veya B ortamına aşılır.

Ortamların sterilizasyonlarından ve aşılmasından sonra Stafilokokları Komibakterilerden ayırt etmek için kültür 700 mn de optik densitede ve olağan jeloz üzerinde sayım ile izlenir. Jeloz üzerinde sayım lar 10^6 , 10^8 , 10^{10} 'lık dilüsyonlar ile yapılır.

Sonuçlar :

İki jerm arasındaki yarışmanın bir kantitatif analizi 3. şekil üzerinde mümkündür.

Teknik sebeplerden dolayı (örneğin harekete geçiş zamanı, eksponansiyel safhada çoğalma hızı) *S. aureus*'u 300.000 jerm/ml ve *C. Xerosis*'i 300.000 jerm/ml tohumladık.

Şekil 4 bu iki jermi ihtiva eden standart ortamlarda (dolayısıyla **ALPHAPROTECT**[®] olmayan ortamlarda) *Staphylococcus aureus* 'un germ sayısının *C. Xerosis* jermlerinin sayısını yakaladığını ve geçtiğini gösterir, çünkü *Staphylococcus aureus* daha hızlı gelişir, *C. Xerosis* 'ün çoğalması ise 4 saatten sonra durağanlaşır.

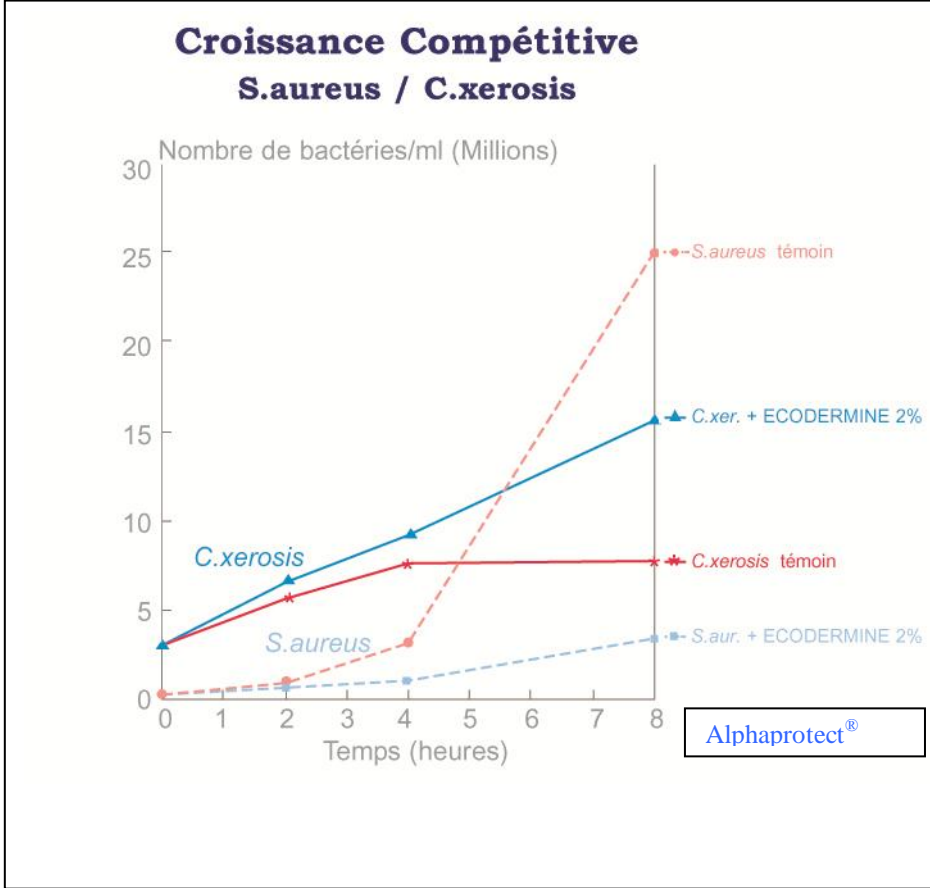
Buna karşılık, ALPHAPROTECT[®] mevcudiyeti halinde sadece *S. aureus*'un artışında yüksek oranda bir inhibisyon (% 85) gözlemlenir, aynı zamanda *C. xerosis*'in artışında da bir uyarı gözlemlenir, 8 saatlik çoğalması % 100'e ulaşır.

Şekil 3 bu konuda açıktır : cilt florasının doğal jermi ile dışarıdan gelen oportünist jerm in yarışında ALPHAPROTECT®'in varlığı halinde yarışı kazanan cilt florasının doğal jermidir, ALPHAPROTECT®'in yokluğu halinde ise yarış dışarıdan gelen oportünist jerm kazanır.

Şekil 3

Çoğalma yarışı
S. aureus/C. xerosis

Bakteri sayısı / ml (milyon)



Zaman (saat)
Témoin = örnek

Böylece ALPHAPROTECT®'in dışarıdan gelen zararlı jermilerle (*Staphylococcus aureus*) yarış halindeki cilt florasının kalıcı doğal jermilerinin (*corynebacterium xerosis*) çoğalmasını destekleyebildiği teyit edilir

4. SONUÇ ve KOZMETİK YARAR

Kalıcı ve doğal cilt florası, yüzey hidrolipidik filmi ve stratum comeum'un hücreler arası seramidik bariyeri cildin kendini ve kapladığı organizmaları korumak için dışarıdan gelen çeşitli saldırılara karşı ortaya koyduğu savunma kalkanlarını oluştururlar

Patojen olmayan ve özellikle keseciklerde ve yağ kanallarında yerleşik *Corynebacterium* türü mikroorganizmalar tercih edilen cilt içi istila yollarını böylece korurlar.

Cildin tamamı üzerinde mevcut glikoz tüm bakteriler tarafından kullanılabilir.

Doğuştan gelen floranın sarsılmasından (yıkama, dezenfeksiyon, kurutma) sonra jermeler araziye işgal etmek amacıyla çok çabuk çoğalırlar.

Bu çoğalmayı düzenlemek amacıyla ALPHAPROTECT® yeni orijinal bir karbonlu kaynak getirmektedir, bu kaynak geçici veya invazif jermelerin çoğalmasını yavaşlatırken cilt jermelerinin gelişimini desteklerler.

ALPHAPROTECT® cilt ekosistemine ılımlı ve yumuşak şekilde müdahale ederken doğal savunmayı alarm halinde tutar.

ALPHAPROTECT® vücut hijyeni ürünleri, sabunlar, duş jelleri, makyaj temizleme ürünleri, şampuanlar için tavsiye edilir ; aynı zamanda özellikle kuru ve hassas ciltler için cilt bakım ürünlerinde kullanılabilir.

BİBLİOGRAFYA

- [1] PRICE, P.B. 1938, J. INFECT. DIS. 63, 301-318
- [2] Mc GINLEY, K. WEBSTER GF ve diđerleri. 1980 J. CLIN. MICROBIOL. 12, 672-675
- [3] KLIGMAN A.M. ve diđerleri 1976, J. INVEST. DERMATOL. 67, 160-168