

Nanopartikül Lipozomlar: Bakteriyel Enfeksiyonlar İçin Yeni Bir Strateji Olabilir mi?

Nanoparticle Liposomes: A New Strategy in Bacterial Infections

Perihan Erkan-Alkan¹ , M. Ertan Güneş² , Cüneyt Özakin³ , A. Ümit Sabancı⁴ 

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Bursa, Türkiye; ²Bursa Uludağ Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Bursa, Türkiye; ³Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye;

⁴Sağlık Bakanlığı Bursa Çekirge Devlet Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Bölümü, Bursa, Türkiye

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda TR201804452A2 patent başvuru numaralı nanopartikül lipozom molekülü kullanılmış ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) suşları için Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) 1562 ppm olarak bulunmuştur. ASTM F 1980 standardına göre, bir yıllık stabilite karşılığı olarak 37 gün ve 55 °C'de bekletilmiş nanopartikül lipozom solüsyonunun etkinliğini koruduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızla hedeflenen, yeni geliştirilen solüsyonun uzun süre etkinliğini koruduğunu göstermektedir.

Yöntemler: Standard ozonlama mekanizmalarından farklı bir teknikle geliştirilmiş olan nanopartikül lipozom solüsyonunun, CLSI M07-A10 (Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Tenth ed. Approved Standard) standard test yöntemi temas süresi modifiye edilerek antibakteriyel testleri yapılmış ve solüsyonun MİK değeri ve zamana bağlı etkisi belirlenmiştir. Nanopartikül lipozom solüsyonunun kararlılık testi için ise ASTM F 1980 standardına göre, bir yıllık stabilite karşılığı olarak 37 gün ve 55 °C'de bekletilmiştir.

Bulgular: Nanopartikül ozon solüsyonunun MİK'i, CLSI M07-A10 standard test yöntemi temas süresi modifiye edilerek, *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) suşları için 1.562 ppm olarak saptanmıştır. *S. aureus* (ATCC 25923) için 1. saatin sonunda 2000 ve 1750 ppm nanopartikül lipozom solüsyonu konsantrasyonunda etkinliğin başladığını, *E. coli* (ATCC 25922) suşu için ise 2000 ppm nanopartikül ozon solüsyonu konsantrasyonunda 10. dakikada etkinliğin başladığı saptanmıştır. Solüsyon etkinlik açısından ASTM F 1980 standardına göre bir yılın sonunda halen etkin olarak bulunmuştur.

Sonuçlar: Sonuç olarak, yeni bir ürün olan nanopartikül lipozom solüsyonu, bilinenin aksine uzun süre kararlılığını ve etkinliğini kaybetmemektedir. Gaz ozonun yarılanma ömrü 20 dakika gibi kısa bir süre olmasına rağmen, nanopartikül lipozom solüsyonunda stabilite en az 1 yıl olarak belirlenmiştir. Nanopartikül lipozom solüsyonu, doğal ve yavaş salınımlı bir ürün olduğu için, uygun dozlarda hazırlanacak solüsyonlarla burun, boğaz, göz ve kulak gibi bölgelerdeki mukozal membranlarda bir bariyer oluşturabileceği, bu sayede de bakteri yerleşmesini engelleyebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Nanopartikül lipozomlar, ozon, antibakteriyel etkinlik, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922)

ABSTRACT

Objective: In our study, a nanoparticle liposome molecule with patent application number TR201804452A2 was used, and the Minimum Inhibitor Concentration (MIC) was found to be 1562 ppm. According to the ASTM F 1980 standard, it has been determined that the nanoparticle liposome solution kept at 37 days and 55 °C in return for one-year stability preserves its effectiveness. Our study aimed to show that the newly developed solution maintains its effectiveness for a long time.

Methods: CLSI M07-A10 (Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Tenth ed. Approved Standard) standard test method of the nanoparticle liposome solution developed with a technique different from the standard ozonation mechanisms, and antibacterial tests were performed by modifying the contact time and the MIC value of the solution, and its effect on time has been determined. For the stability test of the nanoparticle liposome solution, it was kept at 55 °C for 37 days in return for one-year stability according to the ASTM F 1980 standard.

Results: MIC of nanoparticle liposome solution CLSI M07-A10 standard test method for *S. aureus* (ATCC 25923) and *E. coli* (ATCC 25922) strains by modifying contact time It was determined as 1.562 ppm. For *S. aureus* (ATCC 25923), at the end of the first hour, it was determined that the activity started at 2000 and 1750 ppm nanoparticle liposome solution concentration. For *E. coli* (ATCC 25922) it was determined that the activity started at the 10th minute at 2000 ppm nanoparticle liposome solution concentration. The solution was still effective at the end of one year according to the ASTM F 1980 standard in terms of effectiveness.

Conclusions: As a result, the nanoparticle liposome solution, a new product, does not lose its stability and effectiveness for a long time, contrary to what is known. Although the half-life of gaseous ozone is as short as 20 minutes, the stability in the nanoparticle liposome solution has been determined as at least one year. Since nanoparticle liposome solution is a natural and slow-release product, it is thought that it can create a barrier in mucosal membranes in regions such as the nose, throat, eye and ear with solutions to be prepared in appropriate doses thus preventing bacteria from settling.

Keywords: Nanoparticle liposomes, ozone, antibacterial efficiency, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922)

Cite this article as: Erkan-Alkan P, Güneş ME, Özakin C, Sabancı AU. [Nanoparticle liposomes: A new strategy in bacterial infections]. Klimik Derg. 2021; 34(2): 99-102. Turkish. **Sorumlu Yazar / Correspondence:** Perihan Erkan-Alkan, E-posta / E-mail: perihanerkan@uludag.edu.tr, **Geliş / Received:** 22 Aralık / December 2020; **Kabul / Accepted:** 11 Mayıs / May 2021; **Yayın Tarihi / Published:** 9 Temmuz / 9 July 2021, **DOI:** 10.36519/kd.2021.3633

GİRİŞ

Ozon, bakteriler, mantarlar ve virusler için antimikrobiyal özellikli bir ajandır. Bu etkisini mikroorganizmaların organellerini etkileyerek, hücre duvar yapısını bozarak ya da protein sentezini durdurarak gösterir. Yıllardır ozon ile yapılan pek çok araştırma göstermiştir ki, bakterisidal, fungisidal, virüsidal ve antiparazitik etkisi nedeniyle, bu tür mikroorganizmalardan kaynaklanan infeksiyonların ve eşlik eden inflamasyon ve ağrı gibi semptomların tedavisinde etkin rol oynamaktadır (1-2).

Ozon gaz haldeyken kararlı bir ürün değildir ve uygulamalarında özel makine gerektirdiği için yaygın ve pratik kullanım imkanı bulunmamaktadır. Bu nedenle, ozonu stabilize etmek ve onun antiviral ve antibakteriyel etkilerinden yararlanmak için ozon çözeltileri hazırlanmıştır. Ozonun bitkisel yağlar ya da emülgatörlerle kullanılması, ürünün yavaş salınımlı ve nanopartikül yapısında olmasını da sağlamıştır. Criegee tarafından 1975'te önerilen, çift bağların oksidatif bölünmesini içeren mekanizma, yaygın olarak etkinliği gösteren mekanizma kabul edilmiştir (3).

Literatürde ozonun bitkisel yağlarda stabil olduğu ve yıllarca aynı dozlarda kalabileceği belirtilmiştir (4). Dolayısıyla ozonlanmış yağlar uzun yıllardır kozmetik sektöründe ya da yara tedavileri gibi amaçlarla etkin ve güvenilir şekilde kullanılabilmiştir (5). Benzer bir ozonlama tekniği ile geliştirmiş olduğumuz nanopartikül lipozom solüsyonunun, standard stabilite ve sterilite testlerini yaparak bir yıl süreyle antibakteriyel etkinliğini sürdürdüğünü gösterdik.

YÖNTEMLER

Antimikrobiyal Solüsyonun Hazırlanması

Çalışmamızda bitkisel yağın ozonlanma miktarı mg cinsinden, bitkisel yağdaki ozon gazı ağırlığı ise mg/gr olarak hesaplanmıştır. Literatürde kabul edilen önceki ozon yağ ürünlerinde sadece ozon yağındaki ozon miktarı verilebilmişken, bizim ürünümüzde hem yağın ozonlama miktarı hem de ozon gazı ağırlığı verilebilmiştir. Dolayısıyla solüsyonu elde ederken bitkisel yağ oranı düşürülür ve ozon oranı arttırılırsa daha aktif nanopartikül lipozom solüsyonu; bitkisel yağ oranı arttırılır ve ozon oranı azaltılırsa daha yavaş salınımlı bir solüsyon elde edilebilme avantajı sağlanmıştır.

Çalışmamızda, ozonlanmış tıbbi bitkisel yağ ve %0,9 NaCl içeren hacim olarak litreye ayarlanmış distile suyun yüksek devirde ultrasonik kaviteasyonu ve soğuk spreyleme tekniği ile homojenize nanopartikül lipozom solüsyonunu elde edilmiştir. Solüsyonumuz mg/l olarak kabul ettiğimiz değerde ozon içermektedir ve bu oran ppm değerini göstermektedir. Nanopartikül lipozom solüsyonu için TR201804452A2 numaralı patent başvurusu da yapılmıştır.

Nanopartikül Lipozom Solüsyonunun Antibakteriyel Etkinliği

Mikroorganizmalar antimikrobiyal ürünlere karşı çok farklı şekilde duyarlılık gösterirler. Bu durum, hem antibakteriyel ürünün yapısına ve hem de mikroorganizmaların türüne göre değişebilir. Bu nedenle koruyucu amaçla ve daha da önemlisi sağaltım için kullanılacak antimikrobiyal ürünlerin spesifik hastalık etkenine karşı olan statik ve/veya sidal etkisinin çok iyi belirlenmesi ve böyle bir ürünün seçilerek, bir program dahilinde yeterli sürede ve dozda kullanılması gereklidir.

Nanopartikül Ozon Solüsyonunun Minimal İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Belirlenmesi

Çalışmamızda, CLSI M07-A10 (Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically. Tenth ed. Approved Standard) standard test yöntemi temas süresi modifiye edilerek antibakteriyel testler yapılmış ve nanopartikül ozon solüsyonunun MİK,

Staphylococcus aureus (ATCC 25923) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) bakterileri kullanılarak belirlenmiştir. Klinik ve Laboratuvar Standardları Enstitüsü (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI)'nin önerileri doğrultusunda, 24 saatlik bakteri kültür kolonilerinden 0,5 McFarland bulanıklığa eşit olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlanıp, son konsantrasyonu 3×10^6 koloni oluşturan birim (cfu)/ml olacak şekilde U tabanlı tüplere konulmuştur. 50 000 ppm ozon içeren stok bir çözelti hazırlanıp, son ozon konsantrasyonları 50 000 ppm – 25 000 ppm – 12 500 ppm – 6250 ppm - 3125 ppm- 1562 ppm - 780 ppm – 390 ppm – 195 ppm – 97 ppm olacak şekilde tüpler ayarlanmıştır. Bir saat sonra tüplerden standard öze kullanılarak alınan örnekler kanlı agar besiyerine (Germany - Becton Dickinson) ekilmiş ve 37°C' de 24 saat inkübasyon sonrasında yapılan değerlendirmede gözle üreme görülmeyen en düşük nanopartikül ozon solüsyonunun konsantrasyonu MİK olarak kabul edilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol için *E. coli* (ATCC 25922) süspansiyonu ve negatif kontrol için de bakteri süspansiyonu içermeyen nanopartikül lipozom solüsyonu kullanılmıştır.

Nanopartikül Ozon Solüsyonunun Zamana Bağlı Etkisinin Belirlenmesi

Minimal inhibitör konsantrasyon değeri belirlendikten sonra, MİK altı ve üzerine yakın konsantrasyonlarda hazırlanmış nanopartikül ozon solüsyonunun üzerine 0.5 McFarland'a ayarlanmış *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) süspansiyonları eklenerek, son konsantrasyonları 2000 ppm -1750 ppm - 1500 ppm-1250 ppm -1000 ppm -750 ppm – 500 ppm olacak şekilde tüpler ayarlanmıştır. Bu karışımlardan 2.dk-10.dk-30.dk-1. saat-2. saat-3. saat- 4.saat - 5.saat-6.saatte örnek alınmış, alınan örneklerin kanlı agar besiyerine (Germany- Becton Dickinson) ekimleri yapılarak 37°C' de inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından plaklar üreme açısından incelenmiş ve üremenin olmadığı plaklar, üremenin inhibisyonunun gerçekleştiği değer olarak kayıt altına alınmıştır.

Nanopartikül Ozon Solüsyonunun Kararlılık Testi

Standard kararlılık testi için, yapılan testlerin sonucunda etkinliğin saptandığı konsantrasyonda ozon solüsyonu hazırlanarak ASTM F 1980 standardına göre, bir yıllık stabilite karşılığı olarak 37 gün ve 55 °C' de bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda, nanopartikül ozon solüsyonu yine 0.5 McFarland'a ayarlanmış *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) suşlarının süspansiyonları eklenerek, 2.dk-10.dk-30.dk-1.saat-2. saat-3.saat-4.saat-5.saat-6.saat bekleme sürelerinin sonunda örnek alınarak, kanlı agar besiyerlerine (Germany- Becton Dickinson) ekim yapılmış, 24 saatlik 37 °C'de inkübasyona bırakılmış ve sürenin sonunda üreme olup olmadığı değerlendirilmiştir. Daha önceden etkinliğin saptandığı konsantrasyonda ve belirlenen temas süresinde solüsyonun etkin olması kararlılık olarak yorumlanmıştır.

BULGULAR

Nanopartikül ozon solüsyonunun MİK'i, CLSI M07-A10 standard test yöntemi temas süresi modifiye edilerek *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) suşları için 1.562 ppm olarak saptanmış ve değerlendirme Tablo 1'de sunulmuştur.

Nanopartikül ozon solüsyonunun zamana bağlı etkisinin belirlenmesi için yapılan çalışmada, *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) suşlarının, nanopartikül lipozom solüsyonunun farklı ppm düzeylerinde ve farklı sürelerdeki etkinliği ile ilgili veriler Tablo 2' de sunulmuştur. Test sonucunda *S. aureus* (ATCC 25923) için 1. saatin sonunda 2000 ve 1750 ppm nanopartikül lipozom solüsyonu konsantrasyonunda etkinliğin başladığı, test edilen tüm konsantrasyonlarda ise nanopartikül lipozom solüsyonunun 2. saatten itibaren etkin olduğu saptanmıştır. *E. coli* (ATCC 25922) suşu için ise, 2000 ppm nanopartikül ozon solüsyonu konsantrasyonunda 10. dakikada; 1750, 1500 ve 1250 ppm nanopartikül

Tablo 1. CLSI M07-A10 Yöntemine Göre *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) ve *Escherichia coli* (ATCC25922)'a Karşı 1 Saat Temas Süresi Sonrası MİK Değerleri

Numune Adı	Tüp	Sulandırma	ppm	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Nanopartikül Ozon Solüsyonu	1	1	50 000	Üreme yok	Üreme yok
	2	2	25 000	Üreme yok	Üreme yok
	3	4	12 500	Üreme yok	Üreme yok
	4	8	6260	Üreme yok	Üreme yok
	5	16	3125	Üreme yok	Üreme yok
	6	32	1562	Üreme yok	Üreme yok
	7	64	781	Üreme var	Üreme var
	8	128	390	Üreme var	Üreme var
	9	256	195	Üreme var	Üreme var
	10	512	97	Üreme var	Üreme var

Tablo 2. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) Bakterilerinin, Farklı Ppm Düzeylerindeki ve Farklı Sürelerdeki Testleri

2000 ppm Nanopartikül Ozon Solüsyonu							
	2000 ppm	1750 ppm	1500 ppm	1250 ppm	1000 ppm	750 ppm	500 ppm
<i>Staphylococcus aureus</i>							
2. dk	+	+	+	+	+	+	+
10. dk	+	+	+	+	+	+	+
30. dk	+	+	+	+	+	+	+
1. saat	-	-	Azalma*	Azalma*	Azalma*	+	+
2. saat	-	-	-	-	-	-	-
3. saat	-	-	-	-	-	-	-
4. saat	-	-	-	-	-	-	-
5. saat	-	-	-	-	-	-	-
6. saat	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>							
2. dk	Azalma*	+	+	+	+	+	+
10. dk	-	Azalma*	Azalma*	Azalma*	+	+	+
30. dk	-	-	-	-	Azalma*	+	+
1. saat	-	-	-	-	-	-	+
2. saat	-	-	-	-	-	-	-
3. saat	-	-	-	-	-	-	-
4. saat	-	-	-	-	-	-	-
5. saat	-	-	-	-	-	-	-
6. saat	-	-	-	-	-	-	-

*20 koloni ile 40 koloni arasındaki üreme azalma kabul edilmiştir.

Tablo 3. Nanopartikül Lipozom Solüsyonu* Kararlılık Test Sonuçları

Zaman	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)
2. dk	Üreme Var	Üreme var
10. dk	Üreme var	1 Koloni
30. dk	Üreme var	1 Koloni
1. saat	20 koloni	Üreme Yok
2. saat	Üreme Yok	Üreme Yok
3. saat	Üreme Yok	Üreme Yok
4. saat	Üreme Yok	Üreme Yok
5. saat	Üreme Yok	Üreme Yok
6. saat	Üreme Yok	Üreme Yok

*(1000 ppm ve 37 gün 55 °C' de bekletilerek)

ozon solüsyonu konsantrasyonunda 30. dakikada; 500 ppm nanopartikül ozon solüsyonu konsantrasyonu dışındaki diğer konsantrasyonlarda 1. saatin sonunda ve 500 ppm konsantrasyonda ise 2. saatin sonunda etkinliğin başladığı saptanmıştır.

Yapılan testlerin sonucunda 1000 ppm düzeylerinde bile nanopartikül lipozom solüsyonunun oldukça etkin olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle kararlılık testi için 1000 ppm konsantrasyonda nanopartikül lipozom solüsyonu test edilmiştir. Test edilen solüsyon 37 gün ve 55 °C' de bekletilerek bir yıla karşılık gelen standard kararlılık testi uygulanmıştır. 37 günün sonunda nanopartikül ozon solüsyonunun, *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) suşlarına 2. dk-10. dk.-30. dk-1. saat-2. saat-3. saat-4. saat-5. saat-6. saat temas süreleri sonunda saptanan etkinliği Tablo 3'de sunulmuştur. Elde edilen veriler taze nanopartikül lipozom solüsyonu verileri ile uyumludur ve solüsyon etkinlik açısından ASTM F 1980 standardına göre bir yılın sonunda halen etkin olarak bulunmuştur.

İRDELEME

Çalışmamızda, belirlenen MİK değerinin altındaki konsantrasyonlarla zamana bağlı öldürme etkisi yönünden ürün incelendiğinde, MİK değerinin altındaki ppm düzeylerinde de ürünün antibakteriyel etkinlik gösterdiği görülmüştür.

Sonuç olarak, yeni bir ürün olan nanopartikül lipozom solüsyonu, bilinenin aksine uzun süre kararlılığını ve etkinliğini kaybetmemektedir. Ozon gazı kararsız bir molekül olmasına rağmen, tıbbi bitkisel yağlara özel tekniklerle bağlandığında kararlı bir yapı oluşturduğu gösterilmiştir. Gaz ozonun yarılanma ömrü 20 dakika gibi kısa bir süre olmasına rağmen, nanopartikül lipozom solüsyonunda stabilite en az 1 yıl olarak belirlenmiştir. Uzun süre etkinliğini devam ettirdiği için nanopartikül lipozomların farklı dezenfektanların eldesinde ya da ilaç sektöründe belirli alanlarda kullanılabileceği düşünülmektedir. Ozonun antibakteriyel özelliği nedeniyle nanopartikül lipozom solüsyonunun yüzey dezenfektanı olarak da kullanılması mümkündür. Nanopartikül lipozom solüsyonu, doğal ve yavaş salınımlı bir ürün olduğu için, uygun dozlar da hazırlanacak solüsyonlarla burun, boğaz, göz ve kulak gibi bölgelerdeki mukozal membranlarda bir bariyer oluşturabileceği, bu sayede de bakteri yerleşmesini engelleyebileceği düşünülmektedir (8). Öte yandan pek çok antibakteriyel ürünün toksik etkisine karşın, nanopartikül lipozomların toksik bir etkisinin olmaması yine önemli bir avantaj sağ-

layacaktır. Ürünün toksik etkiye yol açmadığı, Çukurova Üniversitesi Adana Genetik Hastalıklar Tanı ve Tedavi Merkezi (AGENTEM) tarafından 06.11.2020 tarih ve AGTM-17 sayılı test raporu ile gösterilmiştir. Nanopartikül lipozomların farklı kombinasyonları ile araştırmalarımız sürdürülmektedir.

Danışman Değerlendirmesi

Bağımsız dış danışman.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram - P.E.A., C.Ö., M.E.G.; Tasarım - P.E.A., C.Ö.; Denetleme - ; Kaynak ve Fon Sağlama - P.E.A., C.Ö., M.E.G.; Malzemeler/Hastalar - .E.A., C.Ö.; Veri Toplama ve/veya İşleme- .E.A., C.Ö., M.E.G.; Analiz ve/veya Yorum - .E.A., C.Ö., M.E.G., A.Ü.S.; Literatür Taraması - P.E.A., C.Ö.; Makale Yazımı - P.E.A.; Eleştirel İnceleme- C.Ö., P.E.A., A.Ü.S.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek beyan etmemiştir.

KAYNAKLAR

- Fernandez-Cuadros ME, Perez-Moro OS, Albaladejo-Florin MJ. Ozone fundamentals and effectiveness in knee pain: Chondromalacia and knee osteoarthritis. Middle East J Rehabil Health. 2017 January;4(1):e41821.
- Fernández-Cuadros ME, Pérez-Moro OS, Albaladejo-Florin MJ, Álava S. El ozono intrarticular modula la inflamación, mejora el dolor, la rigidez, la función y tiene un efecto anabólico sobre la artrosis de rodilla: estudio cuasiexperimental prospectivo tipo antes-después, 115 pacientes. Rev. Soc. Esp. Dolor. 2020;27(2):78-88 / [CrossRef]
- Criegee R. Mechanism of ozonolysis. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1975;14:745-752. [CrossRef]
- Cirlini M, Caligiani A, Palla G, De Ascentiis A, Tortini P. Stability studies of ozonized sunflower oil and enriched cosmetics with a dedicated peroxide value determination. Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association, 2012;34:4,293-299 [CrossRef]
- Guerra BP, Poznyak T, Pérez A, Gómez YM, Bautista RME, Chairez I. Ozonation Degree of Vegetable Oils as the Factor of Their Anti-Inflammatory and Wound-Healing Effectiveness. Ozone: Science & Engineering, 2017;39:5,74-384 [CrossRef]
- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
- ASTM F1980-07(2011), Standard Guide for Accelerated Aging of Sterile Barrier Systems for Medical Devices, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2011, www.astm.org
- Alkan PE, Güneş ME, Özakin C, Sabancı AÜ. New Antibacterial Agent: Nanobubble Ozone Stored in Liposomes: The Antibacterial Activity of Nanobubble Ozone in Liposomes and Their Thymol Solutions. Ozone: Science & Engineering, 2021. [CrossRef]