

In vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of *Calendula officinalis* L. essential oil: Potential application in gynecological infections

Calendula officinalis L. uçucu yağının in vitro antibakteriyel ve antifungal aktivitesinin değerlendirilmesi: Jinekolojik enfeksiyonlarda kullanım potansiyeli

Sümeyye Akyüz^{1*}, Emrullah Akyüz²

¹ Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı., Erzincan, Türkiye
² Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ağrı, Türkiye

ABSTRACT

Aim: The increasing rates of antibiotic resistance have intensified the search for alternative therapeutic strategies. The aim of our study is to determine the antimicrobial activity of commercially available marigold (*Calendula officinalis* L.) essential oil against seven different standard bacterial strains and three yeast strains.

Materials and Methods: Gram-positive bacteria included *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), and *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 45615); Gram negative bacteria included *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), and colistin-resistant *E. coli* (ATCC 19846). Yeast strains tested were *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), and *Candida auris* (clinical isolate). Antimicrobial activity was assessed using the disk diffusion method and the resazurin microtiter assay (REMA).

Results: In the disk diffusion assay, the largest inhibition zone among the bacterial strains was observed in *S. pneumoniae* (15.33±0.57 mm), while among the yeasts, the widest zone was recorded for *C. parapsilosis* (17.67±0.57 mm). The antimicrobial effect of *C. officinalis* oil on Gram-positive bacteria and yeasts was significantly higher than that observed in Gram-negative strains (respectively $p<0.01$, $p<0.001$). The lowest MIC values were detected in *S. aureus* and *E. faecalis* among bacteria, and in *C. albicans* and *C. parapsilosis* among yeasts.

Conclusion: Our study demonstrates that marigold essential oil, through its antimicrobial activity particularly against Gram-positive bacteria and *Candida* species-including *C. auris*, represents a promising candidate for plant-based antimicrobial approaches, and that its potential for topical gynecological use may be further evaluated in future *in vivo* studies.

Keywords: *Calendula officinalis*, Disk diffusion, REMA, Antimicrobial, Minimum inhibitory concentration

ÖZ

Amaç: Antibiyotik direncindeki artış oranları, alternatif çözüm arayışını yoğunlaştırmaktadır. Çalışmamızın amacı; ticari olarak temin edilebilen aynisefa (*Calendula officinalis* L.) uçucu yağının yedi farklı standart bakteri suşu ile üç maya mantarı üzerindeki antimikrobiyal etkisini belirlemektir.

Gereçler ve Yöntemler: Gram pozitif bakterilerden; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 45615); Gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve kolistin dirençli *E. coli* (ATCC 19846) ile maya mantarlarından *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) ve *Candida auris* (klinik izolat) test edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon yöntemi ve resazurin mikrotitre testi (REMA) ile test edilmiştir.

Bulgular: Disk difüzyon yöntemiyle en geniş inhibisyon zonu bakterilerde *S. pneumoniae* (15.33 ± 0.57 mm) suşunda, mayalarda *C. parapsilosis* (17.67 ± 0.57 mm) suşunda ölçülmüştür. Aynisefa yağının Gram pozitif bakteriler ve mayalar üzerindeki antimikrobiyal etkisinin, Gram negatif suşlara kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.001$). En düşük MİK değerleri ise bakterilerde *S.aureus* ve *E. faecalis*'te; mayalarda *C. albicans* ve *C. parapsilosis* 'te tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamız, aynisefa yağının özellikle Gram pozitif bakteriler ve *C. auris*'i de içeren *Candida* türleri üzerindeki antimikrobiyal etkileriyle, bitkisel temelli yeni antimikrobiyal yaklaşımlar açısından umut vadeden bir aday olduğunu ve topikal jinekolojik kullanım potansiyelinin ileri *in vivo* çalışmalarda değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Calendula officinalis*, Disk difüzyon, REMA, Antimikrobiyal, Minimum inhibitör konsantrasyon

 0000-0003-1999-7827

 0000-0002-6389-4561

*Sorumlu Yazar:

Sümeyye Akyüz

Erzincan Binali Yıldırım

Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.,

Erzincan, Türkiye

e-mail:

sumeyye_sfl@hotmail.com

Gönderilme Tarihi: 09/12/2025

Kabul Tarihi: 08/02/2026

Yayınlanma Tarihi: 28/02/2026

Cite this article:

Akyüz S, Akyüz E. In vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of *Calendula officinalis* L. essential oil: Potential application in gynecological infections. Ağrı Med J. 2026; 4(1):1-8.

GİRİŞ

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotikler uzun yıllar boyunca temel farmakolojik ajanlar olarak kullanılmış ve modern tıbbın gelişiminde belirleyici rol oynamıştır. Ancak son yıllarda, dünya genelinde artan antibiyotik direnci, mevcut tedavi seçeneklerinin etkinliğini önemli ölçüde azaltmakta ve çoklu ilaca dirençli (ÇİD) patojenlerin ortaya çıkışı ciddi bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (1,2).

Tedaviye dirençli enfeksiyonlarda hastanede yatış süreleri uzamakta, mortalite ve morbidite oranları ile maliyet artmaktadır (3, 4). Bu sebeple son yıllarda bitkisel kökenli doğal ürünlerin tedavi amaçlı kullanımı, yalnızca geleneksel veya tamamlayıcı tıpta değil, modern tıbbın klinik uygulamalarında da ilgi görmektedir. Özellikle fitokimyasal açıdan zengin bitkilerden elde edilen doğal ekstreler ve yağlar, enfeksiyonların kontrolünde ve doku yenilenmesinin desteklenmesinde alternatif ya da tamamlayıcı tedavi seçenekleri olarak önemli bir potansiyel taşımaktadır (5). Bitkisel ekstraktlar ve yağlar, özellikle polifenoller ve terpenler gibi bileşenleri sayesinde, plazma membranını bozma, efflux pompa inhibisyonu ve mevcut antibiyotiklerle sinerjistik etki gibi çeşitli mekanizmalarla antimikrobiyal aktivite gösterebilmektedir (6).

Aynısefa bitkisi (*Calendula officinalis* L.), Asteraceae familyasına ait olup içeriğindeki fenolik maddeler, flavonoidler ve terpen bileşenleri ile tıbbi açıdan oldukça değerli bir bitkidir (7). Bitkinin çiçeklerinden elde edilen uçucu yağlar ve ekstreler antiinflamatuvar (8), antibakteriyel (9), antifungal (10), antioksidan (11) özellikleri ve yara iyileşmesiyle ilişkili büyüme faktörlerinin ekspresyonunu artırabilen biyolojik etkileri nedeniyle doku onarım süreçleri açısından dikkat çekmektedir (12, 13).

Bu çalışmanın amacı, aynısefa uçucu yağının standart bakteriyel ve fungal suşlara karşı *in vitro* antimikrobiyal etkisini değerlendirmek, literatürdeki mevcut verileri analiz etmek ve elde edilen bulgular doğrultusunda jinekolojik enfeksiyonlardaki terapötik potansiyelini ortaya koymaktır.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Bitkisel Ürün

Bu çalışmada, üretici firma tarafından %100 saf olduğu belirtilen aynısefa çiçeklerinden hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiş bitkisel uçucu yağ kullanılmıştır. Ürün, ticari olarak yerel bir tedarikçiden (Panlife, Türkiye) temin edilmiştir (Ürün Kodu: 8681379100441, CAS No: 70892-20-5). Ürünün bileşenleri, üretici tarafından sağlanan Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) analizi ile doğrulanmış ve Tablo 1’de verilmiştir.

Mikrobiyal Suşlar

Çalışmada antimikrobiyal duyarlılıkları bilinen, yedi adet bakteriye ve iki adet maya mantarına ait American Type Culture Collection (ATCC) suşu ve bir klinik maya suşu kullanılmıştır. Bu suşlardan Gram pozitif olanlar *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 45615 olup

Gram negatif olanlar *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve kolistin dirençli *E. coli* ATCC 19846’dır. Test edilen maya suşları ise *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 ve bir adet *Candida auris* klinik izolatıdır. Tüm mikroorganizma suşları, üniversitemizin Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı suş kütüphanesinden temin edilmiştir.

Bileşik Adı	Yüzde (%)
(E)*-β-Ocimene	35.65
(Z)*-β-Ocimene	24.78
Limonene+1,8-Cineole	6.14
Allo-Ocimene	2.62
(E)-Ocimenone	1.64
(Z)-Ocimenone	0.93
Menthol	0.95
(Z)-Tagetone	0.98
(E)-Tagetone	0.82
β-Caryophyllene	0.80

Tablo 1. Aynısefa uçucu yağının GC-MS analiz sonuçları

*E (entgegen) ve Z (zusammen), bileşiklerin çift bağ konfigürasyonuna bağlı geometrik izomerlerini göstermektedir.

İnokulum Hazırlanması

Standart suşlar, -80 °C’de saklanan stok kültürlerden alınarak önce Brain Heart Infusion Broth (bioMerieux, Fransa) besiyerine aktarılmış ve bir gece inkübe edilmiştir. Daha sonra buradan alınarak %5 koyun kanı içeren besiyerine (bioMerieux, Fransa) pasajlanmış ve 37 ± 0.5 °C’de 18–24 saatlik inkübasyon sonrasında elde edilen taze kolonilerden %0.9’luk steril salin içinde süspansiyon hazırlanmıştır. Süspansiyonlar, DensiCHEK Plus cihazı (Biomerieux, Fransa) kullanılarak 0.5 McFarland bulanıklık standardına ayarlanmıştır (bakteriler için yaklaşık 1×10⁸ CFU/mL, mayalar için yaklaşık 1×10⁶ CFU/mL).

Disk Difüzyon Testi

Yağın antibakteriyel etkisi European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), antifungal etkisi ise Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kılavuzlarının önerileri doğrultusunda uygulanmıştır (14,15).

Bakteriyel süspansiyonlar Mueller Hinton agara (MHA, Biomerieux, Fransa) steril pamuklu çubuk ile homojen bir şekilde yayılmış olup, maya süspansiyonları için %2 glikoz ve 0,5 µg/mL metilen mavisi eklenmiş MHA (Merck, Almanya) ve *S. pneumoniae* için Mueller Hinton-F agarı (MHA-F, %5 defibrinlenmiş at kanı ve 20 mg/L β-NAD içeren, Biomerieux, Fransa) kullanılmıştır. Ticari uçucu yağın agar ortamında daha iyi difüzyon göstermesini sağlamak amacıyla 900 µL %10 DMSO + 900 µL aynısefa yağı bire bir oranında karıştırılarak vortex ile homojen bir emülsiyon elde edilmiştir. Steril 6 mm çapındaki boş disklere (Bioanalyse, Türkiye), bu karışımdan 10 dakika ara ile ikişer kez 10 µL emdirilmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika kurutulmuştur. Diskler, bakteri ve mantar solüsyonu ile inoküle edilmiş uygun besiyerlerine steril pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Besiyerleri, bakteriler için 37 ± 0.5 °C’de (*S. pneumoniae* %5 CO₂’li ortamda), mayalar için 35 ± 0.5 °C’de

24 saat inkübe edilmiştir. Tüm testler üç kez tekrarlanmıştır. Pozitif kontrol diskleri olarak Gram pozitif bakteriler için Vankomisin (5 µg/disk, Bioanalyse, Türkiye) ve Eritromisin (15 µg/disk, Bioanalyse, Türkiye), Gram negatif bakteriler için Amikasin (30 µg/disk, Bioanalyse, Türkiye) ve mayalar için Flukonazol (25 µg/disk, Oxoid, Thermo Fisher Scientific, UK) kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak %10'luk DMSO solüsyonu emdirilmiş boş diskler kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zon çapları (disk çapı dahil) mm cinsinden ölçülmüş, sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak kaydedilmiştir.

Mikrodilüsyon Yöntemi

Aynısefa yağının Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerlerini belirlemek amacıyla EUCAST yönergeleri dikkate alınmış ve resazurin mikrodilüsyon test (REMA) yöntemi uygulanmıştır (16,17). Uçucu yağın DMSO içinde 10 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlanmış, vorteksenerek homojenize edilmiş ve 0,22 µM membran filtrelerden süzülmuştür. Hazırlanan stok çözeltiden, kuyucuklardaki final DMSO oranının %2'yi geçmemesine dikkat edilerek steril distile su ile 1024 µg/mL konsantrasyonunda çalışma çözeltisi elde edilmiştir. 96 kuyucuklu steril düz tabanlı plakanın tüm kuyucuklarına test edilen suşlara uygun besiyerleri 100'er µl dağıtılmıştır. Bakteriyel izolatlar için katyon ayarlı Mueller Hinton Broth (CAMHB), *S. pneumoniae* için %5 hemolize at kanı ve 20 mg/L β-NAD içeren MHF (Mueller–Hinton Fastidious) broth ve maya izolatları için RPMI 1640 + %2 glukoz + 0.165 M MOPS (morfolin propan sülfonik asit) içeren sıvı besiyeri kullanılmıştır. İlk kuyucuklara yağ çözeltisinden 100 µl eklenmiş ve iki kat seri dilüsyonlar yapılarak 512, 256, 128, 64, 32, 16 µg/mL konsantrasyonları elde edilmiştir. 0.5 McFarland bulanıklığının ayarlanan bakteri süspansiyonu 100 kat (10^6 CFU/mL), maya süspansiyonu 5 kat (2×10^5 CFU/mL) dilüe edilmiştir. Sonrasında içerisinde 100 µl besiyeri+yağ çözeltisi bulunan her kuyucuğa 100'er µl bakteri/maya süspansiyonu eklenerek son hacmi 200 µl olan kuyucuklardaki son bakteri konsantrasyonu 5×10^5 CFU/mL ve son maya konsantrasyonu $0.5-2.5 \times 10^5$ CFU/mL olarak elde edilmiştir. Plakalar bakteri için 37 ± 0.5 °C'de (*S.pneumoniae* %5 CO₂'li ortamda) 18–24 saat, maya için 35 ± 0.5 °C'de 24–48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Resazurin sodyum tuzu (Sigma-Aldrich) steril distile suda %0,01 (w/v) konsantrasyonunda çözölmüş ve çalışma solüsyonu hazırlanmıştır. Işığa duyarlı olduğundan alüminyum folyo ile sarılarak 4 °C'de saklanmış ve 48 saat içinde kullanılmıştır. Plakaların inkübasyon süresi sonunda her kuyucuğa % 0,01'lik resazurin çözeltisinden 10 µL eklenmiş ve bakteriler için 2–4 saat, mayalar için 4–24 saat ilave inkübasyon yapılmıştır. Resazurin, canlı hücreler tarafından indirgenerek mavi renkten pembe renge dönüşür; bu nedenle pembe renk üreme varlığı, mavi renk ise inhibisyon olarak değerlendirilmiştir. En düşük pembe renk göstermeyen kuyucuk MİK değeri olarak kaydedilmiştir. MİK ölçümleri üç kez tekrarlanmış olup, tekrarlar farklı çıktığında raporlamada medyan MİK değeri kullanılmıştır. Besiyeri+yağ çözeltisi içeren, bakteri/maya içermeyen sterilite kontrolü; besiyeri + mikroorganizma içerip yağ çözeltisi içermeyen büyüme kontrolü ve besiyeri +

mikroorganizma + DMSO içeren çözöcü kontrolü çalışmaya dahil edilmiştir. Pozitif kontrol olarak Gram pozitif bakteriler için Vankomisin (64-1 µg/mL, VANKOPOL®, Türkiye), Gram negatif bakteriler için Amikasin (64-1 µg/mL, Amikozit, Fransa) ve maya mantarları için Flukonazol (64-1 µg/mL, FLUCAN®, Almanya) kullanılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Disk difüzyon yöntemi ile her bir izolat üç tekrar halinde değerlendirilmiş ve zon çapı değerleri ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. Her mikroorganizma için Aynısefa yağına ait inhibisyon zonları, negatif kontrol (6 mm) ve ilgili pozitif kontrolün değerleri arasında normalize edilerek yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Verilerin dağılımı Shapiro–Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Negatif kontrole göre referans karşılaştırmaları tek örneklem t-testi ile analiz edilmiş; Gram pozitif, Gram negatif ve maya grupları arasındaki karşılaştırmalar ise veri yapısına bağlı olarak bağımsız örneklem t-testi veya tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. Ayrıca Gram pozitif (*S. aureus*, *E. faecalis*, *S. pneumoniae*), Gram negatif (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, kolistin dirençli *E. coli*) ve maya (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. auris*) mikroorganizma gruplarının, aynısefa yağına karşı ölçülen inhibisyon zonu yüzdeleri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla, bağımlı değişken olarak inhibisyon zonu yüzdesi ve bağımsız değişken olarak mikroorganizma grubu tanımlanarak doğrusal regresyon analizi uygulanmıştır. Tüm analizler SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı ile gerçekleştirilmiş olup $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Aynısefa uçucu yağının üretici firma tarafından sağlanan GC-MS analizinde, yağın kimyasal bileşiminin büyük oranda monoterpen hidrokarbonlar ve oksijenli terpen türevlerinden oluştuğu belirlenmiştir. Analizde özellikle (E)-β-ocimene (%35.65) ve (Z)-β-ocimene (%24.78) gibi ocimene izomerlerinin toplamda yağın yaklaşık %60'ını oluşturduğu görölmüştür.

Disk Difüzyon Sonuçları

Bu çalışmada, aynısefa uçucu yağının *P. aeruginosa* ve kolistin dirençli *E. coli* hariç test edilen tüm bakteri ve maya suşlarına karşı farklı düzeylerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Disk difüzyon test sonuçlarına göre, yağın özellikle Gram pozitif bakteriler ve *Candida* türleri üzerinde daha güçlü bir inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlenmiştir. Antibakteriyel etkinlik açısından en geniş inhibisyon zonu *S. pneumoniae* suşunda ölçölmüştür (15.33 ± 0.57 mm). Bu suşu sırasıyla *S. aureus* (14.67 ± 0.57 mm) ve *E. faecalis* (12.33 ± 0.57 mm) izlemiştir. En yüksek zon oluşturan Gram negatif bakteri ise *E. coli* (7.33 ± 0.57 mm) olmuştur. Maya suşları arasında en yüksek inhibisyon zonu *C. parapsilosis*'te saptanmıştır (17.67 ± 0.57 mm). Bu suşu sırasıyla *C. albicans* (16.33 ± 0.57 mm) ve *C. auris* (15.00 ± 1.00 mm) izlemiştir. Tüm izolatlara ve pozitif kontrollere ait inhibisyon zonları çapı değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

MİK Sonuçları

Mikrodilüsyon yöntemi ile yapılan testlerde, bakteriler arasında en düşük MİK değerleri *S. aureus* (64 µg/mL) ve *E. faecalis* (64 µg/mL) suşlarında tespit edilmiştir. Gram negatif bakterilerde elde edilen MİK değerlerinin Gram pozitif bakterilere göre belirgin olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Test edilen tüm izolatlar arasında en düşük MİK değerleri, disk difüzyon sonuçları ile benzer şekilde *C. albicans* (32 µg/mL) ve *C. parapsilosis* (32 µg/mL)'te tespit edilmiştir. Test edilen suşlara ait MİK değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Bu sonuçlar, aynısefa uçucu yağının özellikle *Candida* türleri ve Gram pozitif bakteriler üzerinde belirgin etki gösterdiğini, buna karşın Gram negatif bakterilerde etkinliğin sınırlı kaldığını ortaya koymaktadır.

TARTIŞMA

Antimikrobiyal direnç, modern tıbbın karşı karşıya olduğu en ciddi küresel sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir. Gereksiz ve yanlış antibiyotik kullanımı, bakterilerin hızla direnç geliştirmesine yol açmakta; bu durum tedavi etkinliğini azaltırken, hastane yatış sürelerini uzatmakta ve mortalite oranlarını artırmaktadır (18). Küresel raporlara

göre, gerekli önlemler alınmazsa 2050 yılına kadar dirençli enfeksiyonlar nedeniyle her yıl yaklaşık 10 milyon insanın yaşamını yitirebileceği ve yüksek miktarda ekonomik kayıplar yaşanacağı öngörülmektedir (19). Bu durum, özellikle yeni ve tamamlayıcı antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesine yönelik araştırmaların önemini artırmaktadır.

Son yıllarda bitkisel kökenli yağlar, çok yönlü biyolojik aktiviteleriyle dikkat çekmektedir. Bu yağların antimikrobiyal etkisi; mikroorganizmaların hücre zar bütünlüğünü bozma, hücre içi içeriklerin sızmasına neden olma, iyon dengesini bozma ve metabolik yolları inhibe etme gibi mekanizmalara dayanmaktadır (20). Ayrıca, bazı yağların antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında sinerjistik etki gösterdiği, dirençli suşlarda tedavi etkinliğini artırabildiği de bildirilmiştir. Bu özellikleriyle bitkisel yağlar, özellikle jinekolojik ve üriner sistem enfeksiyonlarında destekleyici tedavi ajanı olarak değerlendirilmektedir. (21, 22). Aynısefa bitkisi, Asteraceae (Papatyagiller) familyasına ait tek yıllık veya kısa ömürlü çok yıllık, parlak sarı-turuncu çiçeklere sahip tıbbi bir bitkidir. Triterpenoidler (faradiol, taraksasterol), flavonoidler (quercetin türevleri), karotenoidler, kumarinler, saponinler ve uçucu bileşenler içeren zengin fitokimyasal yapısı sayesinde uzun yıllardır antienflamatuar, yara iyileştirici ve antimikrobiyal etkileri için kullanılmaktadır.

Tablo 2. Aynısefa uçucu yağının disk difüzyon sonuçları (mm±SD, ortalama±standart sapma, n=3)

Standart Suşlar	Aynısefa Zon Çapı	Vankomisin (5 µg/disk)	Amikasin (30 µg/disk)	Flukonazol (25 µg/disk)
<i>S. aureus</i>	14.67 ± 0.57	22.33 ± 0.57	nt	nt
<i>E. faecalis</i>	12.33 ± 0.57	20.33 ± 0.57	nt	nt
<i>S. pneumoniae</i>	15.33 ± 0.57	28.67 ± 0.57	nt	nt
<i>E. coli</i>	7.33 ± 0.57	nt	22.33 ± 0.57	nt
<i>K. pneumoniae</i>	6.67 ± 0.57	nt	19.00 ± 1.00	nt
<i>P. aeruginosa</i>	6.00 ± 1.00	nt	18.67 ± 0.57	nt
<i>E. coli</i> (COL-R)	6.00 ± 1.00	nt	21.33 ± 0.57	nt
<i>C. albicans</i>	16.33 ± 0.57	nt	nt	22.67± 0.57
<i>C. parapsilosis</i>	17.67 ± 0.57	nt	nt	21.33 ± 0.57
<i>C. auris</i>	15.00 ± 1.00	nt	nt	20.67 ± 0.57

nt: test edilmedi, COL-R: Kolistin dirençli

Tablo 3. Aynısefa uçucu yağının ve pozitif kontrollerin MİK değerleri

Mikroorganizma	MİK (µg/mL)	Vankomisin (µg/mL)	Amikasin (µg/mL)	Flukonazol (µg/mL)
<i>S. aureus</i>	64	2	nt	nt
<i>E. faecalis</i>	64	4	nt	nt
<i>S. pneumoniae</i>	128	2	nt	nt
<i>E. coli</i>	256	nt	8	nt
<i>K. pneumoniae</i>	512	nt	8	nt
<i>P. aeruginosa</i>	>512	nt	16	nt
<i>E. coli</i> (COL R)	>512	nt	32	nt
<i>C. albicans</i>	32	nt	nt	16
<i>C. parapsilosis</i>	32	nt	nt	16
<i>C. auris</i>	64	nt	nt	32

nt: test edilmedi, COL-R: Kolistin dirençli, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon

Bitkinin özellikle çiçeklerinden elde edilen hidroalkolik ekstraktlar ve uçucu yağ fraksiyonları; Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve maya türleri üzerinde farklı düzeylerde inhibisyon gösterebilmektedir. Aynı zamanda, ekstraktın yara bölgesindeki oksidatif stresi azalttığını (23), granülasyon dokusunun olgunlaşmasını desteklediğini (24) ve doku iyileşmesini hızlandıran anlamlı bir antiinflamatuvar etki (25) oluşturduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur.

Bu çalışmada, aynısefa uçucu yağının yedi farklı standart bakteri, iki standart maya ve bir klinik *C. auris* suşu üzerindeki antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiş olup vajinal enfeksiyonlarda kullanım potansiyeli tartışılmıştır. Efstratiou ve ark. (9) yaptıkları çalışmada aynısefa bitkisine ait metanol ve etanol ekstraktlarının hem Gram pozitif hem de Gram negatif klinik izolatların anlamlı antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmiş olup en yüksek zon çapı değerlerini *S. aureus* (28 ± 2 mm, mean $\pm$ SD) ve *E. coli*'de (22 ± 1 mm, mean $\pm$ SD) saptamışlardır. Ayrıca *C. albicans* (10 ± 1 mm, mean $\pm$ SD) ve *C. glabrata*'da (12 ± 1 mm, mean $\pm$ SD) pozitif kontrole yakın zon çapı değerleri gözlenmiştir.

Gazim ve ark. (10) yaptıkları çalışmada 23 adet ATCC ve klinik *Candida* suşu üzerinde aynısefa çiçeklerinden elde ettikleri uçucu yağ disk difüzyon yöntemiyle test etmişler ve tüm suşlar üzerinde zon oluşumu saptamışlardır. En yüksek aktiviteyi zon çapları 20-30 mm arasında değişmekle birlikte sırasıyla *C. parapsilosis*, *C. glabrata* ve *C. albicans* suşlarında tespit etmişlerdir. Bazı *Candida* suşları, pozitif kontrol olarak kullanılan nistatinden daha güçlü antifungal etki göstermiştir. Antifungal etkiyi yağın içeriğinde %22.53 oranında bulunan kardinen bileşiği ile ilişkilendirmişlerdir. Başka bir çalışmada ticari aynısefa yağ altı adet standart bakteri ve bir adet standart *C. parapsilosis* üzerinde mikrodilüsyon yöntemiyle test edilmiştir. Test edilen tüm bakteriler üzerinde aynısefa yağının MİK değeri 125 µg/ml olarak bulunurken en düşük MİK değeri *C. parapsilosis* üzerinde 62.5 µg/ml olarak bulunmuştur (26).

Ali ve Abd El-Moaty (27), aynısefa uçucu yağının hem *in vivo* hem *in vitro* belirgin antifungal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Siklofosamid ile immünsüprese edilen farelerde karaciğer fungal yükü 150×10^6 CFU iken, aynısefa uygulanmasıyla bu yük 20×10^6 CFU'ya düşmüştür. Bu etki özellikle klinik olarak önemli türler olan *C. albicans*, *C. tropicalis* ve *C. parapsilosis* üzerinde gözlenmiştir. Çalışmamızda, test edilen aynısefa uçucu yağının GC-MS analizinde özellikle (E)- β -ocimene (%35.65) ve (Z)- β -ocimene (%24.78) gibi ocimene izomerlerinin toplamda yağın yaklaşık %60'ını oluşturduğu görülmüş; bu durum yağın antimikrobiyal ve antifungal etkilerinin temel kimyasal belirleyicisi olarak değerlendirilmiştir. Disk difüzyon test sonuçlarına göre, en geniş inhibisyon zonları sırasıyla *S. pneumoniae* (15.33 ± 0.57 mm), *S. aureus* (14.67 ± 0.57 mm) ve *E. faecalis* (12.33 ± 0.57 mm) suşlarında izlenmiştir. Gram pozitif bakterilerde Gram negatiflere nispeten daha yüksek zon çapları oluşmuştur. Maya suşlarında en yüksek zon çapları sırasıyla *C. parapsilosis* (17.67 ± 0.57 mm), *C. albicans* (16.33 ± 0.57 mm) ve *C. auris* (15.00 ± 1.00 mm)'te izlenmiştir. Mikrodilüsyon sonuçlarına göre ise en düşük MİK değerleri *C. albicans* (32 µg/mL), *C. parapsilosis* (32 µg/mL), *S.*

aureus (64 µg/mL) ve *E. faecalis* (64 µg/mL) suşlarında tespit edilmiştir. Gram negatif bakterilerde elde edilen MİK değerlerinin Gram pozitif bakterilere göre belirgin olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, aynısefa uçucu yağının özellikle *Candida* türleri ve Gram pozitif bakterilere karşı daha yüksek zon çapı ve düşük MİK değerleri sergilediğini, Gram negatif bakterilerde etkinliğin sınırlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, bitkinin hücre duvarı yapısı daha geçirgen olan Gram pozitif bakterilerde daha belirgin antimikrobiyal etki gösterdiğini bildiren literatürle uyumludur (9). Çalışmamızda kullanılan uçucu yağın GC-MS verileri, özellikle maya türlerinde ve Gram pozitif bakterilerde görülen antimikrobiyal aktivitenin kimyasal temeli ile paralellik göstermektedir. Çalışmalar arasındaki sonuç farklılıklarının temel nedeni, bitkisel yağların kimyasal kompozisyonundaki değişkenlikler olabilmektedir (28).

Jinekolojik enfeksiyonlar, kadın sağlığını doğrudan etkileyen, sık tekrarlayan ve tedavisi güç olabilen klinik sorunlar arasında yer almaktadır. Bu durum, lokal olarak uygulanabilen, güvenli ve doku dostu bitkisel ajanlara olan gereksinimi her geçen gün artırmaktadır. Aynısefa uçucu yağ, vajinal maya enfeksiyonlarına ilişkin çalışmalarda biyolojik aktivitesi araştırılan bitkisel bileşenler arasında yer almakta olup, mevcut veriler klinik kullanıma veya tedaviye yönelik bir öneri niteliği taşımamaktadır. (29). Aynısefa ekstresi içeren vajinal ovüller, lokal bakım jelleri ve perine kremleri (ör. Gyntima®, Multi-Gyn®, Calendula ovules) uluslararası düzeyde halk arasında kullanılmakta olup, bu ürünlerin ortak özelliği bitkinin antifungal, antiinflamatuvar ve epitel yenileyici etkisinden faydalanmasıdır (13). Uçucu yağların mukozal dokularda irritasyon veya inflamasyona yol açabilme potansiyeli göz önünde bulundurulduğunda ve bu çalışmada ökaryotik hücreler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmemiş olması nedeniyle, elde edilen bulgular uçucu yağın vajinal enfeksiyonların tedavisinde doğrudan kullanımına yönelik bir öneri olarak yorumlanmamalıdır. Jinekolojik enfeksiyonlar açısından literatüre bakıldığında, vajinal kandidiazisi olan 150 kadında yapılan bir çalışmada aynısefa kremi ile klotrimazole karşılaştırılmış ve ilk izlemde klotrimazole grubunda negatif test oranı daha yüksek iken; ikinci izlemde aynısefa grubunda daha yüksek oranda "negatif test" sonucu bulunmuştur (30). Benzer şekilde, aynısefa üzerine yapılan çift kör, randomize bir klinik çalışmada, özüt bazlı bir krem formülasyonunun 7 gün süreyle intravajinal uygulanmasını takiben hem aynısefa grubunda hem de metronidazol grubunda tüm klinik semptomların gerilediği bildirilmiştir (31). Söz konusu bulgular, aynısefa özütlerinden geliştirilen topikal ürünlerin, antibiyotik tedavilerine alternatif veya tamamlayıcı yaklaşımlar açısından potansiyel taşıyabileceğini ve yan etki profilinin daha sınırlı olabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, bu sonuçların klinik uygulamaya genellenebilmesi için farklı doz, formülasyon ve hasta gruplarını içeren ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Romanya'da yapılan bir derlemede ise aynısefa içeren intravajinal ürünlerin özellikle servikal iyileşme, inflamasyonun azalması, vajinal pH'nın normalleşmesi ve mikrobiyal dengenin geri kazanılması süreçlerine katkı sunduğu vurgulanmıştır (32). Bizim çalışmamızda saptanan

güçlü antifungal etki ile birlikte değerlendirildiğinde, bu bulgular aynısefa uçucu yağının uygun şekilde standardize edilmiş ve güvenlik değerlendirilmeleri yapılmış farmasötik formülasyonlar içerisinde kullanılması halinde, jinekolojik enfeksiyonlarda semptomların hafifletilmesine ve doku rejenerasyonunu destekleyici etkilere sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, aynısefanın vajinal uygulamalarında literatürde önerilen preparatların uçucu yağlar değil, bitkinin uygun taşıyıcı yağlar veya özütler temelinde hazırlanmış formülasyonlar olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

C. auris, başta yoğun bakım üniteleri olmak üzere hastane ortamlarında salgınlara yol açabilen, doğrudan temas veya kontamine yüzeyler aracılığıyla bulaşabilen invaziv bir maya olarak tanımlanmaktadır. Güncel çalışmalar, *C. auris*'in yalnızca sistemik enfeksiyon etkeni olarak değil, vajinal örneklerde de etken olarak saptanabildiğini ve bu bölgede kolonize olabildiğini göstermektedir (33). Bu bulgular, *C. auris*'in vajinal enfeksiyonlar açısından da göz önünde bulundurulması gereken bir patojen olduğunu düşündürmektedir.

Buna karşın literatürde, *C. auris* üzerinde aynısefa yağı veya türevlerinin antifungal etkinliğini değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu kapsamda çalışmamızda, *C. auris* izolatları üzerinde disk difüzyon yöntemi ile 15.00 ± 1.00 mm zon çapı, mikrodilüsyon yöntemi ile ise 64 µg/mL MİK değeri elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, *C. auris*'in vajinal enfeksiyonlardaki olası rolü dikkate alındığında, aynısefa türevlerinin antifungal etkinliğinin ileri çalışmalarla değerlendirilmesine yönelik bilimsel bir gerekçe sunmaktadır.

Çalışmanın kısıtlılıkları ve Öneriler

Çalışmamızda yalnızca referans suşlarının kullanılması, klinik izolatlarda görülen biyofilm oluşumu gibi ilave direnç mekanizmalarının bitkisel yağların antimikrobiyal etkinliğini azaltabileceği gerçeğini tam olarak temsil etmeyebilir. Bu nedenle, gelecekte yapılacak çalışmaların klinik vajinal ve üriner izolatlarla, ayrıca bitkisel yağ-antibiyotik kombinasyonlarını içerecek şekilde tasarlanması önerilmektedir. Bunun yanında uçucu yağın kimyasal profili farklı partilerde değişkenlik gösterebilir ve disk difüzyon yönteminde uçucu yağların agar içinde dağılma kapasitesi sınırlıdır.

SONUÇLAR

Çalışmamızda, aynısefa uçucu yağının literatürle paralel biçimde, başta *S. aureus* olmak üzere Gram pozitif bakteriler ve *Candida* türleri üzerinde belirgin, Gram negatif bakteriler üzerinde ise düşük düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda saptanan antimikrobiyal etkiler ile birlikte, antiinflamatuvar ve doku onarıcı özellikleri göz önünde bulundurulduğunda, aynısefa uçucu yağın içeren, doku uyumu ve irritasyon profili değerlendirilmiş uygun bir topikal formülasyonun geliştirilmesinin, jinekolojik enfeksiyonlarda ek avantajlar sağlayabileceği düşünülmektedir. *C. auris* üzerinde görülen antifungal etki de umut vadetmektedir. Aynısefa özütlerine dayalı ticari formülasyonların tip alanında halihazırda kullanılıyor olması

dikkate alındığında, bitkisel kaynaklı preparatların kimyasal bileşiminin standardize edilmesi, hidrodistilasyon, buhar distilasyonu ve solvent temelli ekstraksiyon gibi elde etme yöntemlerinin karşılaştırılması ile birlikte, aynısefa özüt ve uçucu yağının etkinlik ve güvenliklerinin in vivo modellerde değerlendirilmesi, aynısefa bitkisinin tıbbi kullanımına ilişkin mevcut bilgi birikiminin güçlendirilmesine katkı sağlayacaktır.

Etik Kurul Onayı

Çalışmamızda herhangi bir insan veya hayvan verisi kullanılmamıştır. Bu nedenle etik kurul onayı gerekmemektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansal Açıklama

Yazarlar bu çalışmanın finansal destek almadığını beyan etmişlerdir.

Yazar Katkıları

Ana fikir/Planlama: SA, EA; Veri toplama/İşleme: SA, EA; Veri analizi ve Yorumlama: SA, EA; Literatür taraması: SA, EA; Yazım: SA; Gözden geçirme ve düzeltme: SA. Tüm yazarlar, makalenin revizyonuna katılmış ve önemli entelektüel içerik açısından makaleyi eleştirel olarak gözden geçirmiştir. Tüm yazarlar, bu makalenin son versiyonunu okumuş ve onaylamıştır.

Veri paylaşım beyanı

Çalışmada kullanılan ve analiz edilen veri seti, makul bir talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

Ek bilgi

Bu çalışma daha önce herhangi bir bilimsel toplantıda sunulmamış, bildiri olarak yayımlanmamış ve başka bir dergiye gönderilmemiştir.

Yazım sürecinde üretken yapay zekâ ve yapay zekâ destekli teknolojilerin kullanımı hakkında beyan

Bu çalışmanın hazırlanması sırasında herhangi bir üretken yapay zekâ veya yapay zekâ destekli teknoloji kullanılmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Gajic I, Tomic N, Lukovic B, et al. A comprehensive overview of antibacterial agents for combating multidrug-resistant bacteria: The current landscape, development, future opportunities, and challenges. *Antibiotics*. 2025;14(3):221. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030221>.
2. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022. Accessed November 21, 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240108127>.
3. Nwobodo DC, Ugwu MC, Anie CO, et al. Antibiotic resistance: The challenges and some emerging strategies for

- tackling a global menace. J Clin Lab Anal. 2022;36(9):e24655. <https://doi.org/10.1002/jcla.24655>
4. Laghari SA, Kalwar Q, Rahimoon MM, et al. Global antimicrobial resistance: strategies and challenges. Markhor. 2025;6(1):10-8. <https://doi.org/10.54393/mjz.v6i1.146>
 5. Álvarez-Martínez FJ, Barrajón-Catalán E, Herranz-López M, Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. Phytomedicine. 2021;90:153626. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>
 6. Angane M, Swift S, Huang K, et al. Synergistic antimicrobial interaction of plant essential oils and extracts against foodborne pathogens. Food Sci Nutr. 2023;12(2):1189-206. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3834>
 7. Rigane G, Younes SB, Ghazghazi H, Salem RB. Investigation into the biological activities and chemical composition of *Calendula officinalis* L. Int Food Res J. 2013;20(6):3001-7.
 8. Silva D, Ferreira MS, Sousa-Lobo JM, Cruz MT, Almeida IF. Anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* L. flower extract. Cosmetics. 2021;8(2):31. <https://doi.org/10.3390/cosmetics8020031>
 9. Efstratiou E, Hussain AI, Nigam PS, Moore JE, Ayub MA, Rao JR. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. Complement Ther Clin Pract. 2012;18(3):173-6. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2012.02.003>
 10. Gazim ZC, Rezende CM, Fraga SR, Svidzinski TI, Cortez DA. Antifungal activity of the essential oil from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) growing in Brazil. Braz J Microbiol. 2008;39(1):61-3. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822008000100015>
 11. Oktar C, Boğa İnaltekin B, Kondolot Solak E. Unlocking the antioxidant potential of *Calendula officinalis*: A comparative study of extraction methods. HJBC. 2024;52(4):253-60. <https://doi.org/10.15671/hjbc.1425454>
 12. Hashemi SS, Pakdin A, Mohammadi A, Keshavarzi A, Mortazavi M, Sanati P. Study the effect of *Calendula officinalis* extract loaded on zinc oxide nanoparticle cream in burn wound healing. ACS Appl Mater Interfaces. 2023;15(51):59269-79. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c15745>
 13. Hormozi M, Gholami M, Babaniazi A, Gharravi AM. *Calendula officinalis* stimulate proliferation of mouse embryonic fibroblasts via expression of growth factors TGFβ1 and bFGF. Inflamm Regen. 2019;39(1):1-7. <https://doi.org/10.1186/s41232-019-0097-x>
 14. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Disc diffusion method. Version 13.0. 2025. Accessed Dec 8, 2025. https://www.eucast.org/ast_of_bacteria.
 15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: nineteenth informational supplement. Approved standard M44-A3. Wayne (PA): CLSI; 2018: 1–87. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m44/>
 16. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). MIC determination of non-fastidious and fastidious organisms: broth microdilution – EUCAST reading guide. Version 5.0. 2024. Accessed Dec 8, 2025. https://www.eucast.org/ast_of_bacteria.
 17. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST method for susceptibility testing of yeasts. Version 7.4. 2023. Accessed Dec 8, 2025. https://www.eucast.org/fileadmin/eucast/pdf/AFST/methodology/EUCAST_E.Def_7.4_Yeast_definitive_revised_2023.pdf
 18. Kebede T, Gadisa E, Tufa A. Antimicrobial activities evaluation and phytochemical screening of some selected medicinal plants: A possible alternative in the treatment of multidrug-resistant microbes. PLoS One. 2021;16(3):e0249253. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249253>
 19. O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. London (UK): Review on Antimicrobial Resistance, Wellcome Trust & HM Government; 2016:1-84. https://amrreview.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
 20. Gonelimali FD, Lin J, Miao W, et al. Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. Front Microbiol. 2018;9:1639. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01639>
 21. Rosato A, Sblano S, Salvagno L, et al. Anti-biofilm inhibitory synergistic effects of combinations of essential oils and antibiotics. Antibiotics. 2020;9(10):637. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100637>
 22. Loose M, Pilger E, Wagenlehner F. Anti-bacterial effects of essential oils against uropathogenic bacteria. Antibiotics. 2020;9(6):358. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060358>
 23. Muley BP, Khadabadi SS, Banarase NB. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Calendula officinalis* Linn (Asteraceae): a review. Trop J Pharm Res. 2009;8(5):455-65. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v8i5.48090>
 24. Preethi KC, Kuttan R. Wound healing activity of flower extract of *Calendula officinalis*. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2009;20(1):73-9. <https://doi.org/10.1515/jbcp.2009.20.1.73>
 25. Della Loggia R, Tubaro A, Sosa S, Becker H, Saar S, Isaac O. The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers. Planta Med. 1994;60(6):516-20. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959553>
 26. Giray BG. Piren otu yağı, tüylü adaçayı yağı, aynısafa yağı, zerdeçal yağı ve argan yağının in vitro antibakteriyel ve antifungal özelliklerinin belirlenmesi. Black Sea J Health Sci. 2023;6(4):579-83. <https://doi.org/10.19127/bshealthscience.1325058>
 27. Ali EM, Abd El-Moaty H. Antifungal activity of *Achillea santolina* L. and *Calendula officinalis* L. essential oils and their constituents against fungal infection of liver as complication of cyclophosphamide therapy. J Essent Oil Bear

- Plants. 2017;20(4):1030-43.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1374178>
28. Boy FR, Benito MJ, Córdoba MdG, Rodríguez A, Casquete R. Antimicrobial properties of essential oils obtained from autochthonous aromatic plants. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(3):1657.
<https://doi.org/10.3390/ijerph20031657>
29. Başer KHC. Aynısafa (*Calendula officinalis* L.). *Bağbahçe* 21, 2009, 22-3.
30. Saffari E, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, Adibpour M, Mirghafourvand M, Javadzadeh Y. Comparing the effects of *Calendula officinalis* and clotrimazole on vaginal candidiasis: A randomized controlled trial. *Women Health*. 2017;57(10):1145-60.
<https://doi.org/10.1080/03630242.2016.1243601>
31. Pazhohideh Z, Mohammadi S, Bahrami N, Mojab F, Abedi P, Maraghi E. The effect of *Calendula officinalis* versus metronidazole on bacterial vaginosis in women: A double-blind randomized controlled trial. *J Adv Pharm Technol Res*. 2018;9(1):15-9.
https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_233_17
32. Bacalbasa N, Balescu I, Stoica C, et al. Do products containing *Calendula officinalis* have a positive role in treating uterine cervix disorders? *Romanian J Med Pract*. 2022;17(Suppl 3):12-4.
<https://doi.org/10.37897/RJMP.2022.S3.3>
33. Abe M, Sadamoto S, Nagamori A, et al. *Candida auris* persists in the vaginal microaerobic niche in the absence of interleukin-17A. *mSphere*. 2025;10(10):e0044625.
<https://doi.org/10.1128/msphere.00446-25>