

KREMLERİN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

Yüksek Lisans Tezi

Gülnara GASIMOVA

Eskişehir 2023

KREMLERİN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

Gülnara GASIMOVA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yağmur TUNALI

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Aralık 2023

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından kabul edilen 2304S037 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Gülnara GASIMOVA'nın "Kremlerin Mikrobiyolojik Analizi" başlıklı tezi .../12/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Yağmur TUNALI
Üye	: Prof. Dr. Meral YILMAZ CANKILIÇ
Üye	: Doç. Dr. Hülya KARACA ATSAROS
Üye	:
Üye	:

.....
Prof. Dr. Saime ÖNCE
Enstitü Müdür

ÖZET

KREMLERİN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

Gülnara GASIMOVA

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aralık 2023

Danışman: Prof. Dr. Yağmur Tunalı

Kozmetik ürünler insan vücudunun deri ve mukoza gibi dış bölgelerini korumak, temizlemek, hoş koku vermek vb. amaçlarla kullanılırlar. Kozmetik ürünlerin steril olma zorunluluğu olmaması sebebiyle kontaminasyon riski her zaman önemini korumaktadır. Türkiye Kozmetik Yönetmeliğinin 6. maddesine göre piyasaya sunulan herhangi bir kozmetik ürünün üretiminin belirli şartlar altında olması ve ürünün sunumu, etiketlenmesi, kullanımı ile ilgili açıklamalara dikkat edilerek uygulama yapılması gerekmektedir. Kozmetik kanununa göre kozmetik ürünlerin, kullanıcıların sağlığı bakımından mikrobiyolojik analizlerinin iyi şekilde yapılması gerekir. Kremler steril olma zorunluluğu olmayan kozmetik ürünler oldukları için çeşitli mikroorganizmalara rastlamak mümkündür. Kozmetik ürünlerdeki mikroorganizmaların patojen olmaması ve birim miktarının belirlenen sınırı geçmemesi gerekir. Krem gibi ürünler içeriklerinde bulunan ve mikroorganizmaların üremesini sağlayan besleyici maddelerden dolayı kontaminasyona uygun ortam sağlarlar. Bu tez çalışması kapsamında piyasadaki temin edilen bazı krem örnekleri mikrobiyolojik olarak incelenmiş ve ürünlerin kontaminasyon düzeyleri belirlenmiştir. Çalışılan 10 adet ürünün bir adedinde bakteriyel, bir adedinde ise küf kontaminasyonuna rastlanmıştır. Üründe sayılan birim bakteri kontaminasyonu yasal sınırın üzerindedir. Kremler her yaş grubundan geniş tüketici kitlesine hitap ettiği için çalışma sonuçlarının piyasadaki ürünlerin sağlık açısından güvenilirliğinin ölçülmesi bakımından faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Kozmetik ürün, Krem, Mikrobiyal kontaminasyon, Bakteri, Küf, Mikrobiyolojik test.

ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF CREAMS

Gülnara GASIMOVA

Department of Pharmaceutical Microbiology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, December 2023

Supervisor: Prof. Dr. Yağmur Tunalı

Cosmetic products are intended to protect, clean, provide a pleasant scent, etc. to external parts of the human body such as skin and mucosa are used for different purposes. Since cosmetic products do not have to be sterile, the risk of contamination always remains important. According to Article 6 of the Turkish Cosmetics Regulation, the production of any cosmetic product offered to the market must be under certain conditions and the application must be carried out by paying attention to the presentation, labeling and explanations regarding the use of the product. According to the cosmetics law, cosmetic products must be thoroughly microbiologically analyzed for the health of the users. Since creams are cosmetic products that do not have to be sterile, it is possible to encounter various microorganisms. Microorganisms in cosmetic products must not be pathogenic and their unit amount must not exceed the specified limit. Products such as creams provide an environment suitable for contamination due to the nutrients they contain that enable the growth of microorganisms. Within the scope of this thesis study, some cream samples obtained from the market were examined microbiologically and the contamination levels of the products were determined. Bacterial contamination was found in one of the 10 products studied, and mold contamination was found in one. The unit bacterial contamination counted in the product is above the legal limit. Since creams appeal to a wide range of consumers from all age groups, it is thought that the results of the study will be useful in measuring the health reliability of the products on the market.

Keywords: Cosmetic product, Creams, Microbial contamination, Bacteria, Fungi, Microbiological test.

TEŞEKKÜR

Tezim süresince her an yanımda olan desteğini, fikir ve görüşlerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Sayın Yağmur TUNALI'ya, laboratuvar çalışmalarım da bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam Öğretim Görevlisi Pervin SOYER'e, uzakta olmalarına rağmen maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, her zaman bana güvendikleri için müteşekkir olduğum canım annem Jale GASIMOVA ve babam Anar GASIMOV'a sonsuz teşekkür ederim.

.../... /2023

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....
Gülnara GASIMOVA

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kozmetik Ürünlerin Tanımı ve Tarihçesi.....	3
2.1.1. Kozmetik ürünlerin tanımı	3
2.1.2. Kozmetik ürünlerin tarihçesi.....	4
2.2. Kozmetik Ürünlerin Sınıflandırılması.....	4
2.3. Kozmetik Ürünlerde İzin Verilen Mikroorganizma Sayısı	7
2.4. Kozmetik Ürünlerde Kontaminasyon Kaynakları.....	8
2.5. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Koruyucu Maddeler.....	10
2.6. Kozmetik Ürünlerde Görülen Mikroorganizmalar	11
2.7. Kozmetik Ürünlerde Yapılan Mikrobiyolojik Çalışmalar	13
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Çalışmada kullanılan kozmetik ürünler.....	15
3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, boyalar ve çözeltiler.....	15
3.1.3. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler	15
3.1.5. Çalışmada kullanılan besiyerleri.....	16
3.2. Yöntemler	18
3.2.1. Krem örneklerinin hazırlanması.....	18
3.2.2. Örneklerden dilüsyonların hazırlanması	19

3.2.3. Toplam bakteri ve mantar sayısının hesaplanması	19
3.2.4. Örneklerdeki mikroorganizmaların izolasyonu	20
3.2.5. Örneklerdeki mikroorganizmaların kısmi identifikasyonu	20
4. BULGULAR VE YORUM	23
4.1. İncelenen Kremlerden Mikroorganizma İzolasyonuna Ait Bulgular	23
4.2. İncelenen Kremlerden Mikroorganizma İdentifikasyonuna Ait Bulgular	24
4.2.1. Gram boyama sonuçları	24
4.2.2. Laktofenol pamuk mavisi ve lügol çözeltisi ile boyama sonuçları.....	25
4.2.3. Katalaz testi sonuçları	25
4.2.4. Oksidaz testi sonuçları.....	26
5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER	27
KAYNAKÇA	30

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Kozmetik ürün kategorisi (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK)	5
Tablo 2.2. Kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik limit (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK)	8
Tablo 2.3. Kozmetik ürünlere ilave edilen bazı koruyucu ajanlar (Tan ve Tüysüz, 2013)	11
Tablo 2.4. Kozmetik ürünlerde bulunan mikroorganizmalar ve onların neden olabileceği hastalıklar (Kıvanç, 2012).	12
Tablo 3.1 Kullanılan cihazlar, modelleri ve kullanım amaçları	16
Tablo 4.1. Örneklerdeki İzolasyon Sonuçları.....	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kandidiyaz enfeksiyonu (http-3).....	13
Şekil 3.1. Krem örneklerinin hazırlanması.....	19
Şekil 3.2. 5 adet krem örneğinin dilüsyonların hazırlanması	19
Şekil 4.1. Bakteri izolatının Petri plağı görüntüsü	23
Şekil 4.2. Küf izolatının Petri plağı görüntüsü	24
Şekil 4.3. Bakteri izolatının mikroskop görüntüsü.....	24
Şekil 4.4. Laktofenol pamuk mavisiyle boyanma	25
Şekil 4.5. Lügol çözeltisi ile boyanma	25
Şekil 4.6. Katalaz testi sonucu.....	26
Şekil 4.7. Oksidaz testi sonucu.....	26

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cfu/g : koloni oluřturucu birim(kob)/ gram

cfu/g : koloni oluřturucu birim(kob)/ mililitre

TİTCK : Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

GMP : Good Manufacturing Practices (İyi İmalat Uygulamaları)

ISO : International Organization for Standardization (Uluslararası Standart Organizasyonu)

DMDM : 1,3 dimetilolül-5,5-dimetilhidandatin

Spp: tür

µL: mikrolitre

FTS: fizyolojik tuzlu su

NaCl: sodyum klorür

g/L: gram/ litre

L: litre

G: gram

ml: mililitre

mm: milimetre

cm: santimetre

°C: derece santigrat

NB: Nutrient Broth

NA: Nutrient Agar

SDB: Sabouraud Dextrose Broth

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

EMB: Eosin Methylene Blue Agar

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihi boyunca kozmetik amaçlarla sıklıkla kullanılan ürünler, insan vücudu ile birebir temasta olduğundan, tüketicilerin sağlığı açısından uygun ve yüksek kalitede olması gereken ürünler arasındadırlar (Steinberg, 2006).

Kozmetik ürünlerin içeriğinde mikroorganizmaların üremesini etkileyebilecek maddeler bulunmaktadır. Bu maddeler; yağlar, yağ asitleri, alkoller ayrıca boyalar ve pigmentler, koku verici maddeler, çözücüler, antioksidanlar, nemlendiriciler gibi yardımcı maddelerdir (Gündoğan, 2014).

Üretilen herhangi bir kozmetik ürün piyasaya girmeden önce ürünlerin üretimi ve geliştirilmesi sırasında çeşitli kalite kontrol testleri yapılmaktadır. Bu testler sonucunda ürünlerin güvenilirlik derecesi saptanır (Poucher ve Butler, 1992).

Kozmetik sektöründe geniş kullanım alanına sahip olan kozmetik ürünlerden biri de kremlerdir. Kremler çeşitli kimyasalların birleşmesi sonucunda oluşan emülsiyon şeklindeki karışımlardır. Bu ürünler insan vücudunu korumak, temizlemek, nemlendirmek, iyileştirmek, görünüşünü değiştirmek gibi farklı amaçlarla kullanılabilirler (Rosen ve Kunjappu, 2012). İçeriğindeki çeşitli maddelerden dolayı kremler kontaminasyon riski en yüksek olan ürünler olarak bilinmektedir. Krem, losyon, şampuan gibi su oranı yüksek olan ürünler mikroorganizma üremesine karşı daha duyarlıdırlar (Kıvanç, 2012).

Krem ürünleri ile cildin nemlendirilmesi sonucunda ciltte nem durumunun değişmesinden dolayı mikroorganizmalarla enfeksiyon riski de artmaktadır. O sebepten, ciltle temas eden kremlerin kontaminasyona uğraması durumunda enfeksiyon riskinin artacağına dikkat edilmelidir (Abdelaziz vd., 1989).

Kremler hayvansal proteinler ve vitaminler gibi doğal kaynaklı maddeler içermektedirler. Doğal kaynaklı bu maddeler mikroorganizmalar için ideal besin kaynağı olur ve aynı zamanda ürünün içeriğindeki koruyucu maddeleri inaktive etmektedirler (Özalp, 1998). Kremlerin ve losyonların içeriğinde bulunan gliserin, *Bacillus*, *Staphylococcus* ve *Micrococcus spp.* tarafından metabolize edilebilen bir maddedir (Flores vd., 1997). Kullanılmış krem ürünlerinde en çok kontaminasyona neden olan grup küflerdir. Ürünün kapağı açıldığı zaman havadaki küf sporları kapağa yapışır ve kontaminasyon oluşur. Bu şekilde kontamine olmuş ürün kullanılmayacak duruma gelir (Baird ve Bloomfield, 1996). El kremlerinden ve losyonlardan izole edilebilen *Candida albicans* ve *Aspergillus brasiliensis spp.* deride ve mukoz

membranlarında, saç ve tırnaklarda enfeksiyonlara sebep oldukları belirlenmiştir (Skowron vd., 2017).

Kullanıcıların güvenliği açısından, diğer bütün kozmetik ürünler gibi el ve yüz kremlerinin de içeriğinin mikrobiyolojik olarak incelenmesi ve bu ürünlerin mikrobiyolojik içeriğinin belirlenen limitler içerisinde tutulması gerekmektedir. TİTCK'e göre kozmetiklerde bulunan patojenler; *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* (Detmer vd., 2010) türleridir.

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumunda verilen bilgilere göre kozmetik ürünler, mikrobiyolojik kalite bakımından; göz çevresine ve mukoz membranına uygulanan ürünler ve 3 yaşından küçük çocuklar için tasarlanmış ürünlerle diğer ürünler olarak iki gruba ayrılır.

İlk gruptaki ürünler için toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı 10^2 veya 10^2 kob/ml'yi geçmemelidir. İkinci gruptaki diğer ürünler için ise toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı 10^3 kob/g ya da 10^3 kob/ml'yi aşmamalıdır.

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Escherichia coli* kozmetik ürünlerde bulunmaması gereken patojenik mikroorganizmalardır (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kozmetik Ürünlerin Tanımı ve Tarihçesi

2.1.1. Kozmetik ürünlerin tanımı

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumunun Resmi Gazetede yayınlanan 8 Mayıs 2023 tarihli, 32184 sayılı Kozmetik Ürünler Yönetmeliğinde “Kozmetik ürün: İnsan vücudunun dış kısımlarına; epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlarına veya dişler ile ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek, bunları korumak, iyi bir durumda tutmak veya vücut kokularını düzeltmek olan bütün madde veya karışımlardır.” (Resmî Gazete, 2005).

Amerikan Federal Gıda, İlaç ve Kozmetik Yasasına (FD&C Act) göre ise kozmetik ürün insan vücudunu temizlemek, güzelleştirmek, çekiciliğini arttırmak veya görüntüsünü değiştirmek için kullanılan ve vücuda sürülme, dökülme, serpilme veya püskürtülme ve başka şekillerde uygulanan ürünlerdir (http-1).

Kozmetik ürünler steril olma zorunluluğu olmayan farmasötik ürünler olmakla birlikte sağlık açısından hijyenik şartlarda ve GMP kurallarına uygun olarak üretilmesi şarttır (Geis, 2006). Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik açıdan taşımaları gereken özellikler TİTCK tarafından yayımlanan “Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz”da belirtilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu).

Kozmetikler içeriğindeki doğal hammaddelerden dolayı mikroorganizmaların üremesi için uygun ortam oluştururlar. Bunlar mikroorganizmalar için besin oluşturan vitaminler, karbonhidratlar, peptidler, şeker ve yağ alkolleri, proteinler, aminoasitler, yağ asitleri ve bitkisel hammaddelerdir (Madden, 1981). Ürün içeriği açısından mikrobiyal kontaminasyona en çok açık olan ürünlerden bir tanesi de kremlerdir. Krem ve losyonların içeriğinde kullanılan hayvansal proteinler ve vitaminler mikroorganizmalar için besin kaynağı olmakla birlikte, koruyucu maddeleri inaktive ederek kontaminasyona neden olabilirler (Özalp, 1998).

2.1.2. Kozmetik ürünlerin tarihçesi

Eski zamanlardan beri insanlar kendilerini güzelleştirmek, gençleştirmek, vücutlarındaki kusurları gizlemek, ciltlerini korumak ve diğer amaçlarla boyalar, merhemler, parfümler kullanmışlardır. Kozmetik kelimesinin kökeni, Yunanca “süslemek, güzelleştirmek” anlamına gelen “kosmetikos” kelimesinden gelmektedir (Çomoğlu, 2012). Yapılan arkeolojik çalışmalar sonucunda kozmetiklerin ilk kullanımının Mısır’da ortaya çıktığı belirlenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda MÖ 4000 yıllarında Mısırlıların fiziksel görünümüne çok önem verdikleri, gözleri için farklı çeşitlerde göz boyaları, ciltlerini korumak için süt kullandıkları ortaya çıkmıştır (Blanco-Dávila, 2000; Secchi, 2008). İlerleyen dönemlerde kozmetik kullanımı Roma, eski Yunan, Çin ve Hindistan’da yaygınlaşmıştır. Çin’de kadınlar yüzlerini güzelleştirmek amacıyla pirinç tozu ve çay yağı maskesinden faydalanmış aynı zamanda yasemin ve lotus gibi bitkileri parfüm olarak kullanmışlardır. Arapların da eski dönemlerden beri yağlardan ve baharatlardan parfüm elde ettikleri bilinmektedir (Çomoğlu, 2012; Draelos, 2000; Parish, 1988; Chaudhri, 2009).

20. yüzyıldan itibaren kozmetik sektörü hızla gelişmeye başlamıştır. Bu ürünlere artan talep bazı üretici firmaların piyasaya mikrobiyolojik içerik açısından temiz olmayan ürünler sunmasına ve ikinci kalite materyaller kullanmasına yol açmıştır (Çomoğlu, 2012). TİTCK tarafından, kozmetik ürünlerle ilgili yapılan araştırmalar sonucunda, bazı kozmetik ürünlerin mevzuata uygun olmayan şekilde satışının ve tanıtımının yapıldığı belirlenmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK). Bu nedenlerden dolayı ambalajı açılmamış ve kullanılmamış kozmetik ürünlerde de kontaminasyon görülmektedir.

2.2. Kozmetik Ürünlerin Sınıflandırılması

Günlük hayatta bütün yaş gruplarından bireyler tarafından kullanılan kozmetik ürünler çok geniş ürün çeşitliliğine sahiptirler. TİTCK tarafından yayınlanan metne göre kozmetikler için yapılan mikrobiyolojik risk analizlerinde ürünün uygulama alanı, kullanıcı tipi, kozmetik ürünlerdeki değişim olasılıkları, mikroorganizmaların hastalık yaratma yetenekleri gibi faktörler yer almaktadır. TİTCK’e göre kozmetiklerin sınıflandırılması Tablo 2.1’de gösterildiği gibidir (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK).

Tablo 2.1. Kozmetik ürün kategorisi (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK)

A. CİLT ÜRÜNLERİ	
A.1. Cilt Bakım Ürünleri	A.1.1. Yüz maskeleri dışındaki cilt bakım ürünleri A.1.2. Yüz maskesi A.1.3. Göz çevresi ürünleri A.1.4. Dudak bakım ürünleri A.1.5. El bakım ürünleri A.1.6. Ayak bakım ürünleri A.1.7. Vücut bakım ürünleri A.1.8. Dış genital bölge bakım ürünleri A.1.9. Kimyasal soyucu ürünler, mekanik olarak soyucu ürünler A.1.10. Cilt rengini açıcı, aydınlatıcı ürünler A.1.11. Diğer cilt bakım ürünleri
A.2. Cilt Temizleyici Ürünler	A.2.1. Sabunlar A.2.2. Banyo/duş ürünleri A.2.3. Makyaj çıkarıcı ürünler A.2.4. Dış genital bölge temizlik ürünleri A.2.5. Diğer cilt temizleyici ürünler
A.3. Vücut Tüylerini Uzaklaştırıcı Ürünler	A.3.1. Kimyasal depilatuarlar A.3.2. Fiziksel epilasyon ürünleri A.3.3. Vücut tüylerini uzaklaştıran diğer ürünler
A.4. Vücut Tüylerini Sarartıcı Ürünler	A.4.1. Vücut tüy sarartıcı ürünler
A.5. Vücut Kokusunun ve/veya Terlemenin Düzenlenmesi	A.5.1. Ter önleyici etkili ürünler A.5.2. Ter önleyici etkili olmayan ürünler
A.6. Tıraş ve Tıraş Öncesi/Sonrası Ürünler	A.6.1. Tıraş ürünleri A.6.2. Tıraş öncesi/sonrası ürünler A.6.3. Diğer tıraş ve tıraş öncesi/sonrası ürünler
A.7. Makyaj Ürünleri	A.7.1. Fondöten A.7.2. Kapatıcı A.7.3. Diğer yüz makyaj ürünleri A.7.4. Maskara A.7.5. Göz farı A.7.6. Göz kalemi A.7.7. Göz konturunu sağlayan ürünler (eyeliner) A.7.8. Diğer göz makyaj ürünleri A.7.9. Ruj/dudak parlaticısı A.7.10. Ruj sabitleyici A.7.11. Diğer dudak makyaj ürünleri

Tablo 2.1. (devam) Kozmetik ürün kategorisi (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK)

	A.7.12. Vücut veya yüz boyları A.7.13. Diğer makyaj ürünleri
A.8. Parfümler	A.8.1. Hidroalkolik parfümler A.8.2. Hidroalkolik olmayan parfümler
A.9. Güneş Ürünleri ve Güneşsiz Bronzlaştırıcı Ürünler	A.9.1. Güneş öncesi ve güneş sonrası ürünler A.9.2. Güneşten koruma ürünleri A.9.3. Güneşsiz bronzlaştırıcı ürünler A.9.4. Diğer güneş ürünleri ve güneşsiz bronzlaştırıcı ürünler
B. SAÇ VE SAÇ DERİSİ ÜRÜNLERİ	
B.1. Saç ve Saç Derisi Bakım ve Temizleme Ürünleri	B.1.1. Şampuan B.1.2. Saç kremi B.1.3. Saç derisi ve saç kökleri bakım ürünleri B.1.4. Kepek önleyici ürünler B.1.5. Saç kaybını önleyici ürünler B.1.6. Diğer saç ve saç derisi bakım ve temizleme ürünleri
B.2. Saç Renklendirmede Kullanılan Ürünler	B.2.1. Oksidatif saç boyları B.2.2. Oksidatif olmayan saç boyları B.2.3. Saç rengini açıcı ve boya çıkarıcı ürünler B.2.4. Diğer saç boya ürünleri
B.3. Saç Şekillendirici Ürünler	B.3.1. Geçici saç şekillendirici ürünler B.3.2. Kalıcı saç şekillendirici ürünler B.3.3. Saç yatıştırıcı ve düzleştirici ürünler B.3.4. Diğer saç şekillendirici ürünler
B.4. Diğer Saç ve Saç Derisi Ürünleri	B.4.1. Saçı güneşten koruyucu ürünler B.4.2. Diğer saç ve saç derisi ürünleri
C. TIRNAK VE KÜTİKÜL ÜRÜNLERİ	
C.1. Tırnak Cılası ve Cila Çıkarıcı Ürünler	C.1.1. Tırnak cılası ve tırnak makyajı C.1.2. Tırnak cılası çıkarıcı C.1.3. Tırnak cılası inceltici C.1.4. Tırnak rengini açıcı ürünler C.1.5. Diğer tırnak cılası ve cila çıkarıcı ürünler
C.2. Tırnak Bakım/Tırnak Güçlendirici Ürünler	C.2.1. Tırnak bakım ürünleri C.2.2. Tırnak güçlendiriciler C.2.3. Diğer tırnak bakım/tırnak güçlendirici ürünler
C.3. Tırnak Yapıştırıcısı Çıkarıcı Ürünler	C.3.1. Tırnak yapıştırıcısı çıkarıcılar

Tablo 2.1. (devam) Kozmetik ürün kategorisi (T.C. Sağlık Bakanlığı TITCK)

C.4. Diğer Tırnak ve Kütikül Ürünleri	C.4.1. Kütikül çıkarıcılar/yumuşatıcılar C.4.2. Tırnak yapılandırıcı ürünler C.4.3. Diğer tırnak ve kütikül ürünleri
D. AĞIZ BAKIM VE TEMİZLİK ÜRÜNLERİ	
D.1. Diş Bakım Ürünleri	D.1.1. Diş macunu D.1.2. Diş temizleme tozu/tuzu D.1.3. Diğer diş bakım ürünleri
D.2. Ağız Suları/Spreyleri	D.2.1. Ağız çalkalama suları D.2.2. Nefes tazeleyici spreylere/ağız spreylere D.2.3. Diğer ağız çalkalama suları/nefes tazeleyici spreylere/ağız spreylere
D.3. Diş Beyazlatıcılar	D.3.1. Diş Beyazlatıcılar
D.4. Diğer Ağız Bakım ve Temizlik Ürünleri	D.4.1. Diğer Ağız Bakım ve Temizlik Ürünleri

2.3. Kozmetik Ürünlerde İzin Verilen Mikroorganizma Sayısı

Kozmetik ürünlerde izin verilen mikroorganizma sayısı farklı standartlara göre belirlenmiştir. Cosmetics Toiletries and Fragrance Association ABD Kozmetik Üreticileri Birliği (CTFA) kurumuna göre üreticilerin, kozmetikler için belirlenen mikrobiyolojik kalite sınırlarına uyması zorunludur. Bu standarda göre, ürünlerin bir gram veya bir mililitresindeki mikroorganizma sayısının 1000 kob/gr veya kob/ml'yi geçmemesi gerekmektedir. Bebekler için kullanılan ürünlerde ve göz için kullanılan kozmetiklerde ise mikroorganizma miktarı 500 kob/gr veya kob/ml'den çok olmamalıdır (Baird, 2017). Amerikan farmakopesine göre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* gibi bakteriler, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* küfleri kozmetiklerde kesinlikle bulunmaması gereken mikroorganizmalardır (Tirumalai ve Long, 2019). Avrupa farmakopesi bunlara ilave olarak *Enterobacter* cinsinin bazı üyelerini kapsar (Anon, 1998). Cosmetics, Toiletries ve Perfumery Association, CTPA (İngiltere'de kozmetik, tuvalet malzemeleri ve Parfümeri Birliği) (CTPA,1990)'ne göre ürünün bir gramında veya bir mililitresindeki mikroorganizmaların miktarı 1000 kob/gr veya kob/ml'yi, bebekler için kullanılan ürünlerde ve göz kozmetik ürünlerinde 100 kob/gr veya kob/ml'yi geçmemesi şarttır (Butler, 1993). Ülkemizde ise 8 Mayıs 2023 tarihli Resmi gazetede yayımlanan yönetmelikte bebek ürünleri ve göz çevresi veya gözle temas

edecek kozmetiklerin bir mililitresinde veya bir gramında en çok 100 kob ve ağız çevresi kozmetiklerinde en fazla 500 kob/gr ve ya kob/ml ve diğer kozmetiklerde 500 kob/ml veya kob/ml mikroorganizma bulunabilir (Resmi Gazete, 2005).

Kozmetik ürünlerde izin verilen mikroorganizma sayısı T.C. Sağlık Bakanlığı standartlarına göre belirlenmiştir (Tablo 2.2) (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK).

Tablo 2.2. Kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik limit (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK)

Mikroorganizma	1. Grup	2. Grup
Toplam aerobik mezofilik mikroorganizma (Bakteri+küf+maya)	$\leq 1 \times 10^2$ cfu/ g veya ml	$\leq 1 \times 10^3$ cfu/ g veya ml
<i>Escherichia coli</i>	üründe bulunmamalı	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	üründe bulunmamalı	
<i>Staphylococcus aureus</i>	üründe bulunmamalı	
<i>Candida albicans</i>	üründe bulunmamalı	

Ambalajı açılmamış veya kullanılmamış kozmetik ürünlerin içeriği GMP Good Manufacturing Practices (İyi İmalat Uygulamaları) kurallarına uygun olmalıdır. Kozmetik ürünler üzerinde kullanılan mikrobiyolojik analiz yöntemleri, uluslararası ISO standartlarına göre yapılmaktadır.

2.4. Kozmetik Ürünlerde Kontaminasyon Kaynakları

Kozmetikler, steril olmayan farmasötik ürünlerden olduğu için mikroorganizma kontaminasyonuna her zaman açık olan ürünlerdendir. Söz konusu ürünler, steril koşullarda üretilmediklerinden ürünlerde nonpatojen mikroorganizmaların varlığına rastlanılabilir. Burada önemli olan durum mikroorganizmaların patojenik özelliklere sahip olmaması ve belirlenen sınır değerlerinden daha yüksek oranda ürünlerde bulunmamasıdır. Aksi durumda, patojenleri içeren kozmetikler tüketiciyi güzelleştirmek yerine sağlık için tehlike yaratabilir ya da ürünün bozulmasına neden olur.

Steril olmayan farmasötik ürünler arasında olan kozmetik ürünler hem üretim ve depolama zamanı hem de kullanımları esnasında mikrobiyolojik kontaminasyona uğrayabilirler. Ürün etiketinde belirtilen son kullanma tarihi aşıldıktan sonra da kullanıma devam edilmesi, farklı kişilerce kullanılması, tükürük salgısıyla teması, ürünün içerisine parmakların ya da kontamine edilmiş cisimlerin teması, kapaklarının açık ve sürekli havayla temas durumunda olması kullanım aşamasında meydana gelen

kontaminasyonun en önemli sebeplerindendir. Kozmetiklerde daha sıklıkla kontaminasyona sebep olan mikroorganizmalar *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Aspergillus spp.* olarak belirlenmiştir (Çarıkçı vd., 2008). Bu mikroorganizmalar ürünlerin kontamine olduğunu gösteren indikatör mikroorganizmalar olup ürünlerde bulunmaması gereken gruptur.

Üretim aşamasında kullanılan hammaddeler, su, steril olmayan üretim koşulları, kullanılan ekipman ve cihazlar, üretimi gerçekleştiren personel ve diğer sebeplerden ürünlerde kontaminasyon gerçekleşebilir. Bu nedenlerden dolayı kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılan hammaddelerin mikrobiyolojik kontrollerden geçirilmesi zorunludur. Kullanılmamış ürünlerde doğru olmayan ambalaj ve depolama işlemleri de kontaminasyona neden olabilir. Kullanılmış ürünlerde ise ürünün kapağının açılması, hava ve kontamine olmuş yüzeylerle temas etmesi ürünün raf ömrü boyunca kontamine olmasına en büyük sebeptir. Kremlerin içeriğinin bozulmasına neden olan mikroorganizmalar ekseriyetle fungal mikroorganizmalardır. Küflerle kontaminasyonun temel sebebi olarak kremin bulunduğu ambalaj ve özellikle de kapak kısmı gösterilebilir. Ürünün kapağı açıldığında havadaki küf sporları kolayca kapağa bulaşır. Kapak sürekli şekilde elle temas durumundadır. Tüp şeklindeki ambalajlarda da kontaminasyon kapaktan kaynaklanır. Ürünlerin bir defa mikroorganizmalar ile kontamine olması onların bozularak bir daha kullanılamayacak hale gelmesine sebep olur.

Uygun olan üreme sıcaklığı ve üreme ortamı olduğu zaman kontamine olmuş üründe mikroorganizmalar hızla üreyip çoğalırlar. Kontaminasyona maruz kalmış üründe üremeye başlayan mikroorganizmalar ürünün içeriğindeki maddeleri metabolize ederek ürünün bozulmasına neden olarak ürünün kokusunda, renginde, performansında gözle görülebilir değişiklikler oluştururlar ve bu durum tüketici sağlığı açısından ciddi risklere sebep olabilir. İçeriği bozulmuş ürünün kullanımı sonucunda ciltte alerji, aşınma, irritasyon meydana gelebilir ve bütünlüğü bozulmuş derinin enfekte olma riski oldukça fazladır. Patojenler tarafından üretilen endotoksinler ve metabolitler de ciltte irritasyon, aşınma ve alerji oluşturabilir. Kozmetik ürünlerdeki patojen mikroorganizmalar sayısı düşük bile olsa salgınlara neden olabilir. Bu sebepten tüketicilerin de ürünün kullanım talimatlarına uyması gerekmektedir (Aras ve Eryılmaz, 2022; Özyaral vd., 1993; Kıvanç, 2012; Sivri, 2005; Smart ve Spooner, 1972).

Kozmetik ürünlerin üretimi zamanı İyi İmalat Uygulamaları (GMP) ve Mikrobiyolojik Kalite Yönetimi şartlarına uygun şekilde kullanılan malzemelerin, maddelerin ve ekipmanların hijyenik ve steril olması gerekmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK).

2.5. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Koruyucu Maddeler

Kullanılan kozmetik üründe oluşabilecek kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak için üretim sırasında ürünlere koruyucu maddeler eklenir (Tablo 2.3). Kontaminasyonu engellemek için ürünlere, raf ömrüne ilave olarak kullanım süresini de hesaba katarak koruyabilecek, etki spektrumu geniş, tüketiciye alerjik, toksik ve tahriş edici etkileri bulunmayan, kurallara uygun olarak seçilen koruyucu maddelerin ilave edilmesi şarttır. Üretim sonrasında ürünün stabilite testleriyle raf ömrü süresi ve ürün açıldıktan sonraki kullanım zamanı belirlenmelidir. Kozmetiğin mikrobiyolojik duyarlılık özelliğine göre kalite testleri ve koruyucu etkinlik testleri yapılmalıdır. Tüm ürünlerin mevzuatta belirtilen kriterlere uygunluğu ispat edilmelidir.

Koruyucular, kozmetik ürünlerin mikroorganizmalar ile kontamine olmasını önlemek ve ürünlerin içeriğinin sabit kalmasını sağlamak amacı ile kullanılan doğal kaynaklı ve kimyasal bileşiklerdir (Sasseville, 2004).

Kozmetik ürünlerde kullanılan koruyucu maddelerin özellikleri; ürünün içeriğindeki diğer maddelerle uyumlu olmalı, farklı pH ve sıcaklıklarda sabit olmalı, renksiz ve kokusuz olmalı, suda kolay çözünmeli, bakteri ve mantar gruplarına karşı etkili olmalı, tüketicilerde alerjik, toksik veya tahriş edici etki göstermemeli ve kullanılan koruyucu maddelerin düşük maliyetli olması olarak sıralanabilir (Fransway, 1991; Burnett vd., 2010).

Kullanılan koruyucu maddeler kozmetik ürünün türü ve kullanım şekline bakılarak belirlenen kriterlere uygun olarak yapılmalıdır. Ayrıca uygun olmayan şartlarda üretilen kozmetik ürünlerde bulunan koruyucu maddeler de alerji, kanser vb. riskler oluşturabilir.

Koruyucu kimyasal maddeler mikroorganizma grupları üzerinde farklı etkilere sahiptirler. Genellikle kombinasyon halinde bulunan parabenler mikroorganizmalarda hücre membran geçirgenliğini bozarak etki gösterirler. Özellikle fungusalara karşı daha etkili olan parabenler bakterilere ve özellikle *Pseudomonas*'lara karşı daha az etki göstermektedirler. Parabenlerin östrojenik aktivitelere sahip olduğu ve kontakt alerjiye

neden olabildikleri bilinmektedir. Bu nedenle, koltuk altına uygulanan ürünlerde bu koruyucuların meme kanserine sebep olma riski vardır. Organik alkollerden olan benzil alkol, mikroorganizmalarda lipidleri ve proteinleri etkileyerek membran yapısını bozar. Bu koruyucu maddeler Gram pozitif bakterilere karşı daha fazla etki gösterir. Gram negatif bakterilere ve mantarlara karşı ise daha zayıf etki gösterirler. Benzoik asit ve salisilik asit gibi asidik koruyucu maddeler hücre membranının kemiozmotik özelliğini olumsuz yönde etkileyerek genellikle antifungal etki gösterirler (Tan ve Tüysüz, 2013).

Tablo 2.3. Kozmetik ürünlere ilave edilen bazı koruyucu ajanlar (Tan ve Tüysüz, 2013)

parabenler	paraben ve paraben tuzları
asetilaseton ile reaksiyona giren koruyucu maddeler	formaldehit, DMDM hidantoin, katerniyum 15, diazolidinil üre, sodyum hidroksimetilglisinat ve metamin
izotiyazolinonlar	metilkloroizotiyazolinon, metil izotiyazolinon ve benzizotiyazolinon
organik alkoller	fenoksietanol, benzil alkol ve fenetil alkol
asidik koruyucu maddeler	dehidroasetik asit, benzoik asit, sorbik asit, salisilik asit, formik asit ve propionik asit
halojenlenmiş bileşikler	kloroasetamid, klorobutanol, kloroksilenol, klorfenesin
kuaterner amonyum bileşikleri	benzalkonyum klorid, benzetonyum klorit, klorhekzidin, hegzamidin dusetionat, poliaminopropil biguanid
alkoller	etil alkol (etanol) ve isopropil alkol

2.6. Kozmetik Ürünlerde Görülen Mikroorganizmalar

Yapılan araştırmalarda kozmetik ürünlerin içeriğinde en çok rastlanılan ve kontaminasyon yaratan bazı mikroorganizmalar; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Fusarium spp.*, *Salmonella spp.*, *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans* ve *Aspergillus spp.* olarak belirlenmiştir (Tablo 2.4) (Detmer vd., 2010; Kıvanç, 2012).

Tablo 2.4. Kozmetik ürünlerde bulunan mikroorganizmalar ve onların neden olabileceği hastalıklar (Kıvanç, 2012)

Mikroorganizmalar	Hastalıklar
<i>Staphylococcus aureus</i>	soyulmuş deri sendromu, deri enfeksiyonları, sepsis, toksik şok sendromu
<i>Clostridium tetani</i>	tetanoz
<i>Clostridium perfringens</i>	gazlı gangren
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	sepsis, konjunktivit
<i>Klebsiella spp.</i>	konjunktivit
<i>Enterobacter spp.</i>	enterit
<i>Candida albicans</i>	dermatit
<i>Candida parapsilosis</i>	konjunktivit
<i>Aspergillus spp.</i>	allerji
<i>Fusarium spp.</i>	konjunktivit, allerji

Enterobacteriaceae familyasından *Escherichia coli*; Gram negatif, sporsuz, hareketli, fakültatif anaerob, basil formunda bir bakteridir (Ewers vd., 2004). Sıklıkla kozmetik ürünlerin üretim aşamasında kullanılan sudan ürünlere kontamine olabilir (Geis, 2006). Patojenik özellikleri nedeniyle kozmetik ürünlerde bulunması tüketici sağlığı açısından büyük risk oluşturmaktadır (Carlton, 2010). *Escherichia coli*, genellikle idrar yolu enfeksiyonu, ishal, peritonit, mastit, pnömoni, septisemi gibi enfeksiyon hastalıklarına sebep olabilir (http-2).

Pseudomonaslar; spor oluşturmayan, Gram negatif bakterilerdir. Toprak ve bitkilerde yaygın olarak bulunurlar ve özellikle nemli ortamlarda kolay üreyebilme özelliğine sahiptirler. *Pseudomonaslar*; solunum ve idrar yolu enfeksiyonları, yara ve yanık enfeksiyonları, menenjit ve septisemi gibi enfeksiyonlara sebep olan patojenlerdir (Neza ve Centini, 2016). Diğer *Pseudomonas* türlerinin aksine *Pseudomonas aeruginosa* fakültatif anaerobik şartlarda varlığını sürdürebilmektedir (Ustaçelebi vd., 1999; Bilgehan, 1995). Kontamine olmuş kozmetik ürünlerde de en çok rastlanan tür *Pseudomonas aeruginosa*'dır (Ustaçelebi vd., 1999).

Micrococcaceae ailesinden olan *Staphylococcus* türleri Gram pozitif, spor oluşturmayan, hareketsiz, aerob bakterilerdir (Nakazawa ve Hosono, 1992). Kremlerde en çok rastlanılan deri patojenlerinden biri *Staphylococcus aureus*'dur (Kıvanç, 2012). *Staphylococcus aureus*, insanlarda deri ve solunum yolu enfeksiyonlarına, toksik şok

sendromuna, endokardite, osteomyelitte ve piyoartrite, besin zehirlenmelerine sebep olabilen patojen bir mikroorganizmadır. Kontaminasyon riskinin karşısını almak için deri temizliğine ve hijyen kurallarına dikkat edilmelidir (Ustaçelebi vd., 1999).

Maya mantarlarından olan *Candida* türleri arasında yer alan *Candida albicans* kontamine kozmetik ürünlerde görülen patojen mikroorganizmalardandır. Deri yüzeyi, dudak çevresi, genital bölge, ağız içi mukozası ve parmak aralarını enfekte ederek bu bölgelerde kandidiyaz enfeksiyonuna neden olur (Görsel 2.1) (Geis, 2006).



Şekil 2.1. Kandidiyaz enfeksiyonu (<http-3>)

Aspergillus spp., özellikle krem ve losyon şeklinde olan su bazlı ürünlerde görülebilen küf şeklindeki mantarlardır. Bağışıklık sistemi sorunlu olan hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilirler (Kontoyiannis ve Bodey, 2002). Yapılan araştırmalarda kozmetik ürünlerde *Aspergillus niger*, *Aspergillus brasiliensis*, *Aspergillus flavus* türlerine rastlanmıştır (Baird, 1977; Skowron vd., 2017; Anelich ve Korsten, 1996).

Aspergillus türlerinin insanlarda solunum yolu enfeksiyonları ve alerjen etkilere neden oldukları bilinmektedir (Ayberkin ve Çiftçi, 2009; Kıvanç, 2012).

2.7. Kozmetik Ürünlerde Yapılan Mikrobiyolojik Çalışmalar

2000 yılında İran'da, 24 adet kullanılmış ve 24 adet kullanılmamış olmak üzere, toplam 48 adet el ve yüz kreminin içeriği mikrobiyolojik olarak araştırılmıştır. Toplanan ürünlerin her birinden 1 gram olmakla örnekler alınmış ve alınan örnekler Tween-pepton çözeltisi ile 10 kat seyreltilmiştir. Aerobik bakteri kolonilerinin sayımı için dökme plak tekniği kullanılmış ve üreyen mikroorganizmalar tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda hem kullanılmış hem de kullanılmamış kremlerin içeriğinde mikroorganizmaların varlığı tespit edilmiştir. Kullanılmış ürünlerde Gram pozitif

basiller, *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif mikroorganizmalar sırasıyla %54, %38 ve %8 oranında; kullanılmamış ürünlerde ise %38, %25 ve %0 oranında bulunmuştur. Kullanılmamış ürünlerin yalnızca %17'sinde, kullanılmış ürünlerin ise %10'unda mikroorganizmaların varlığına rastlanmamıştır (Behravan vd., 2000).

Avrupa'da, 2005-2018 yılları arasında kozmetik ürünler üzerinde yapılan bir araştırma sonucunda toplam 104 üründe mikrobiyolojik kontaminasyon saptanmıştır. Bu ürünlerden 20 tanesinin çocuklar için üretilmiş olan ürünler olduğu belirlenmiştir. Bulunan bakterilerin çoğunlukla Gram negatif bakteriler yaklaşık %60, *Pseudomonas spp.* %36 ve *Enterobacter spp.* %12 olduğu bildirilmektedir (Michalek vd., 2019).

Yapılan başka bir çalışmada çeşitli markalardan olan farklı kozmetik ürünlerden toplanan 140 ürün üzerinde mikrobiyolojik inceleme yapılmıştır. İnceleme sonucunda 32 üründe bakteriyel ve fungal kontaminasyon olduğu ortaya çıkarılmıştır. Kontaminasyon düzeyi ürünlerin türüne göre değişiklik göstermekle birlikte şampuan, krem, jel gibi örneklerde daha çok kontaminasyona rastlanmıştır (Elmorsy ve Hafez, 2016).

Maskara, göz kalemi ve dudak kalemi gibi ürünlerle yapılan bir çalışmada toplam 80 ürün analiz edilmiş ve analizler sonucunda ürünlerin %32,5'inde mikroorganizmaların varlığına rastlanmıştır. Bulunan mikroorganizmalar arasında *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumonia* gibi bakteriler ve *Penicillium spp.*, *Aspergillus fumigatus* ve *Candida albicans* gibi mantarların olduğu tespit edilmiştir (Muhammed, 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan kozmetik ürünler

Bu çalışmada halk pazarlarından toplanılan 10 adet kullanılmamış el kremi örneğinin mikrobiyolojik içeriği araştırılmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, boyalar ve çözeltiler

Gram boyama seti, (gram iyodin, kristal viyole, etanol (%95) ve safranin), (Norateks Gram boyama seti)

Laktofenol pamuk mavisi, (Tekkim)

Agar, (Condalab)

Glikoz, (Sigma)

Hidrojen peroksit, (Sigma)

İndol ayıracı Kovacs, (Norateks)

Tween 80, (Merck)

Fosfat tamponu, (Merck)

fizyolojik tuzlu su (FTS) (sodyum klorür (NaCl) 9 g/L ve distile su 1 L)

pH ayarı için 1 N NaCl çözeltisi ve 1 M HCl

3.1.3. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler

steril cam tüp (16 ml)

steril öze

pipetler (1 ml ve 100 µl)

steril T Drigalski spatülü

mavi pipet ucu (1000 µl)

sarı pipet ucu (200 µl)

90 ml steril Petri plağı

alüminyum folyo

otoklav bandı

filtre kâğıdı

mezür

Erlen Mayer

beher
lam
lamel

3.1.4. Çalışmada kullanılan cihazlar

Tablo 3.1. Kullanılan cihazlar, modelleri ve kullanım amaçları

Cihaz	Marka/Model	Kullanım amacı
Binoküler ışık mikroskobu	3144002045, CARL ZEISS (Almanya)	Görüntüleme
Otoklav	HV 50L-Hirayama (Hindistan)	Sterilizasyon işlemi
Steril kabin	Heraeus Hera Safe (Almanya)	Biyogüvenlikli işlem
Mikrobiyolojik etüv	FD53, WTC Binder (Hollanda)	Mikrobiyolojik işlem
Su banyosu	11370, TERMAL (Türkiye)	Isıtma işlemi
Sterilizatör	FN500, Nüve-Türkiye	Sterilizasyon işlemi
Buzdolabı	27050EB, Arçelik (Türkiye)	2-4 °C'de numune saklama
pH metre	PH211, Hanna (İngiltere)	Ortam pH'nı ölçme
Hassas terazi	CP2250, Sartorius (Türkiye)	Analitik ölçekteki tartımların yapılması
Vorteks	TTS 2- Yellowline Jeitech (Kore)	Mekanik karıştırma
Koloni sayacı	Funke Gerber (Almanya)	Koloni sayım işlemi

3.1.5. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Plate Count Agar (Merck)

peptone 5 g/L
yeast extract (maya özütü) 2,5 g/L
glikoz 1 g/L
agar 15 g/L

13 g besiyeri tartılıp, üzerine distile su ilave edilerek 1 L'ye tamamlanmıştır. Besleyici özelliğın arttırılması için besiyerinin içerisine 20 g/L glikoz eklenmiştir. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besiyeri 121°C'de, 1 Atm. basınç altında, 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir.

Besiyeri otoklav sterilizasyonu sonrasında steril Petri plaklarına yaklaşık 20 ml olarak taksim edilmiş ve agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Sabouraud Liquid Medium) (HiMedia)

pepton	10 g/L
dekstroz	20 g/L

30 g/L besiyeri tartılıp, üzerine distile su ilave edilerek 1 L'ye tamamlanmıştır. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 5,5 olarak ayarlanmıştır. Katı besiyeri hazırlamak için besiyerinin içeriğine 20 g/L agar eklenmiştir. Hazırlanan besiyeri 121°C'de, 1 Atm. basınç altında, 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. . Besiyeri otoklav sterilizasyonu sonrasında steril Petri plaklarına yaklaşık 20 ml olarak taksim edilmiş ve agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

Eosin Methylene Blue Agar (Eozin Metilen Mavisi, EMB) (Difco)

bakteriyolojik pepton	10 g/L
bakteriyolojik laktoz	5 g/L
bakteriyolojik sukroz	5 g/L
dipotasyum fosfat	2 g/L
bakteriyolojik agar	13,5 g/L
eosin Y	0,4 g/L
metilen mavisi	0,06 g/L

36 g besiyeri (EMB) tartılıp, üzerine distile su ilave edilerek 1 L'ye tamamlanmıştır. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besiyeri 121°C'de, 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. Besiyeri otoklav sterilizasyonu sonrasında steril Petri plaklarına yaklaşık 20 ml olarak taksim edilmiş ve agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

Cetrimid-Agar (Merck)

jelatinden elde edilen pepton	20 g/L
magnezyum klorid	1,4 g/L
potasyum sülfat	10 g/L
setrimid	0,3 g/L
agar	13 g/L

44.5 g/L besiyeri tartılıp, üzerine distile su ilave edilerek 1 L'ye tamamlanmıştır. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besiyeri 121°C'de, 1 Atm. basınç altında 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. Besiyeri otoklav sterilizasyonu sonrasında steril Petri plaklarına yaklaşık 20 ml olarak taksim edilmiş ve agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

Chapman Agar (Merck)

kazierinden elde edilen pepton	10 g/L
yeast extract (maya özütü)	2,5 g/L
dipotasyum hidrojen fosfat	5 g/L
jelatin	30 g/L
laktoz	2 g/L
D(-)mannitol	10 g/L
sodyum klorid	75 g/L
agar	12 g/L

146.5 g/L besiyeri tartılıp, üzerine distile su ilave edilerek 1 L'ye tamamlanmıştır. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7,0'a ayarlanmıştır. Hazırlanan besiyeri 121°C'de, 1 Atm. basınç altında, 15 dakika boyunca otoklavda steril edilmiştir. Besiyeri otoklav sterilizasyonu sonrasında steril Petri plaklarına yaklaşık 20 ml olarak taksim edilmiş ve agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Krem örneklerinin hazırlanması

1 gramlık krem örnekleri aseptik şartlar altında tartılmış ve numaralandırılarak steril tüplere konulmuştur (**Şekil 3.1**).

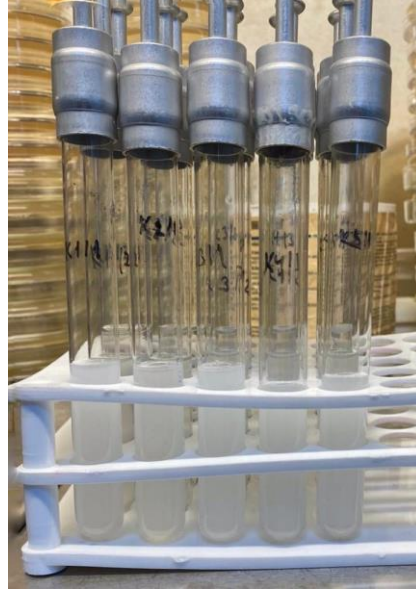
Çözünürlüğü kolaylaştırmak için örneklerin her birinin üzerine 0,5 g Tween 80 ve 8,5 ml fosfat tamponu ilave edilerek homojenizasyon amacıyla birkaç dakika boyunca vorteks ile karıştırılmıştır.



Şekil 3.1. *Krem örneklerinin hazırlanması*

3.2.2. Örneklerden dilüsyonların hazırlanması

1 g krem örneği steril tüpe alınarak üzerine 9 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) eklenerek 1/10'luk dilüsyon hazırlanmıştır. Ardından 9 ml fizyolojik su bulunan dilüsyon tüplerine bir önceki tüpten 1'er ml aktarılarak ve her seferinde tüpler vorteks ile karıştırılarak 1/100'lük ve 1/1000'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır (**Şekil 3.2**).



Şekil 2.2. *5 adet krem örneğinin dilüsyonların hazırlanması*

3.2.3. Toplam bakteri ve mantar sayısının hesaplanması

3.2.3.1. Toplam bakteri sayısının hesaplanması

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının belirlenmesi için Plate Count Agar besiyerine yayma ekim yöntemi ile ekim yapılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 100 mikrolitre alınarak besiyeri üzerine eklenmiş ve steril T drigalski spatülü yardımı ile

yayma ekimi uygulanmıştır. Ekim sonrasında Petri plakları 37°C’de 48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Tüm örnekler 3 paralel şekilde çalışılmıştır. Petri plaklarının üzerine örnek adı, sulandırım oranı ve tarih bilgisi işlenmiştir.

Üreme görülen Petri plaklarındaki koloniler koloni sayacı büyüteci altında tek tek sayılmıştır. Sayım sırasında 30-300 koloni arasında üreme görülen kültürler dikkate alınmıştır. Paralel çalışma örneklerinde elde edilen sayım sonuçlarının aritmetik ortalaması hesaplanmıştır. 1 ml örnekteki bakteri sayısı $n=K/d*s$ formülüne göre hesaplanmıştır (Tunalı, 2021).

n: 1 ml’deki bakteri sayısı

K: Petri plağı yüzeyinde sayılan koloni sayısı

d: sulandırım oranı

s: Petri plağına yayılan örnek miktarı

3.2.3.2. Toplam mantar sayısının hesaplanması

Toplam mantar sayısının belirlenmesi için Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerine 3.2.3.1’deki gibi yayma ekim yapılmıştır. Petri plakları 25°C’de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Tüm örnekler 3 paralel şekilde çalışılmıştır. Petri plaklarının üzerine örnek adı, sulandırım oranı ve tarih bilgisi işlenmiştir. Petri her gün üreme açısından kontrol edilmiştir.

Üreme görülen Petri plaklarındaki koloniler koloni sayacı büyüteci altında incelenerek sayım yapılmıştır.

3.2.4. Örneklerdeki mikroorganizmaların izolasyonu

İnkübasyon sonrasında üreyen belirgin kolonilerden steril öze ile alınarak farklı bakterilerin varlığının araştırılması amacıyla bazı seçici besiyerlerine paralel ekimler yapılmıştır. *Escherichia coli* araştırması amacıyla EMB agar, *Pseudomonas aeruginosa* için Cetrimide agar, *Staphylococcus aureus* için Chapman agar spesifik besiyerlerine ekim gerçekleştirilmiştir.

Üreme gözlemlenen küf mantarları için Sabouraud Dextrose Agar besiyerine üç nokta ekim yöntemi ile ekim yapılmıştır.

3.2.5. Örneklerdeki mikroorganizmaların kısmi identifikasyonu

Üreyen koloniler kısmi identifikasyon öncesinde tek koloni ekim yöntemi ile pasajlanmıştır. Koloni morfolojileri tekraren incelenmiştir.

3.2.5.1. Gram boyama

Hedef kolonilerden steril öze ile alınarak lamın üzerindeki bir damla çeşme suyu ile homojenize edilerek preparatın kurutulmasının ardından alevden geçirilerek fiksasyon yapılmıştır. Preparatın üzerine kristal viyole damlatılıp 1 dakika bekletildikten sonra su ile yıkanmıştır. Yıkama sonrası preparatın üzerine lügol damlatılıp 1 dakika bekletilip distile su ile yıkanmıştır. Sonrasında preparatın üzerine etil alkol (%95) eklenip 15 saniye bekletilmiş ve su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında preparata bazik fuksin eklenip 30 saniye bekletildikten sonra yeniden distile su ile yıkanmıştır. İşlemin sonunda kurutma kağıdı ile suyun fazlası alınarak preparat kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra preparata immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta x100'lük objektifte inceleme yapılmıştır.

Hücrelerin boyanma özelliğine ve hücre morfolojisine bakılarak mevcut özellikleri belirlenmiştir. Mikroskopta mor-mavi renkte görünen bakteriler Gram pozitif, pembe-kırmızı renkte görünen bakteriler Gram negatif olarak kaydedilmiştir (Tunalı, 2021).

3.2.5.2. Laktofenol pamuk mavisi ile boyama

Üreyen küf mantarları laktofenol pamuk mavisi ile boyanarak incelenmiştir. Preparat hazırlarken örnekten öze ile besiyeri yüzeyinden kazıma şeklinde örnek alınarak lamın üzerine konulmuştur. Örneğin üzerine laktofenol pamuk mavisi damlatılmıştır. Örneğin üzerine lamel kapatıldıktan sonra boyanın fazla kısmı kurutma kağıdı ile çekilerek ardından mikroskopta x40'luk objektif ile inceleme yapılmıştır.

3.2.5.3. Lugol çözeltisi ile boyama

Üreyen küf mantarları lügol ile boyanarak incelenmiştir. İnceleme için örnekten öze ile besiyeri yüzeyinden kazıma şeklinde örnek alınarak lamın üzerine konulmuş ve örneğin üzerine lugol damlatılmıştır. Örneğin üzerine lamel kapatıldıktan sonra boyanın fazla kısmı kurutma kağıdı ile çekilerek ardından mikroskopta x40'luk objektif ile inceleme yapılmıştır.

3.2.6. Biyokimyasal identifikasyon

3.2.6.1. Katalaz testi

Katalaz enzimine sahip olan mikroorganizmalarda oksidasyon ve redüksiyon prosedürleri zamanı hidrojen peroksidin parçalanması sonucunda su ve oksijen ayrılır. Reaksiyon sonucunda ayrılan oksijen hava kabarcığı veya köpürme şeklinde görünür (Tunalı, 2021).

Bakteri kolonilerinden öze yardımı ile alınarak lam üzerine konulmuş ve örneğin üzerine %3'lük hidrojen peroksit damlatılmıştır. İşlem sonucunda hava kabarcıkları gözlemlenen örnekler katalaz pozitif, hava kabarcığı oluşturmayanlar ise katalaz negatif olarak tanımlanmıştır (Akçelik vd., 2000).

3.2.6.2. Oksidaz testi

Oksidaz testi, bakteriler tarafından sentezlenen oksidaz enziminin (sitokrom C oksidaz) varlığını saptamak amacıyla kullanılır. Oksidaz reaksiyonu oluşması aerobik bakterilerde sitokrom oksidaz sisteminin bulunduğunu gösterir (Tunalı, 2021).

Bakteri kültüründen öze ile alınarak oksidaz test stribinin üzerine sürülmüş ve birkaç dakika içerisinde oluşan renk değişimleri gözlemlenmiştir. Test sonucunda pembe veya mor rengin oluşması oksidaz pozitif, renk değişiminin olmaması ise oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Akçelik vd., 2000).

Mikroorganizmaların izolasyonu ve identifikasyonu aşamaları üç paralel olarak çalışılmıştır. Oluşabilecek kontaminasyon riskinin önüne geçmek için bütün çalışmalar steril koşullarda ve standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE YORUM

4.1. İncelenen Kremlerden Mikroorganizma İzolasyonuna Ait Bulgular

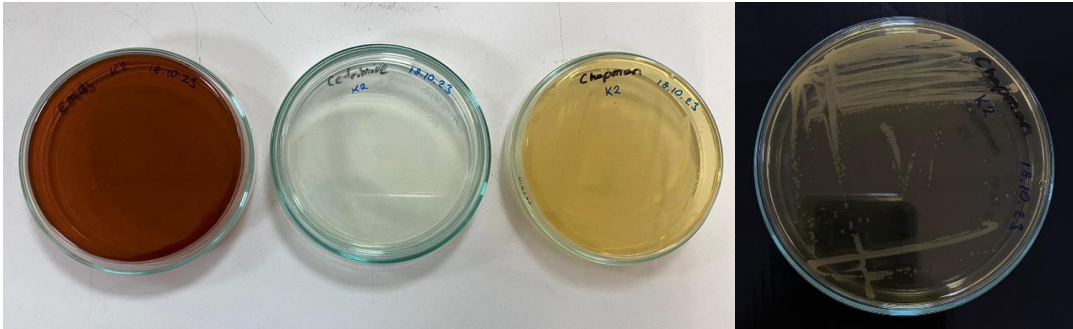
İncelenen örneklerin izolasyonu sonrasında iki numaralı örnekte bakteri üremesi, beş numaralı örnekte ise küf mantarı üremesi gözlemlenmiştir. Diğer örneklerde mikrobiyolojik kontaminasyona rastlanmamıştır.

Tablo 4.1. Örneklerdeki İzolasyon Sonuçları

Örnek Numarası	Bakteri Üreme Sonucu	Mantar Üreme Sonucu	Kob/ml
1	-	-	-
2	+	-	2700
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	+	100
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-

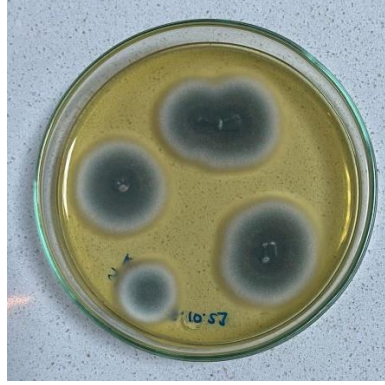
*Örnekler 3 paralel olarak çalışılmış, bulunan sayıların aritmetik ortalaması alınmıştır.

İki numaralı örnekten, Plate Count Agar plağı yüzeyinde ortalama 5 mm çapında, parlak yapıda bakteri kolonisi üremesi gözlemlenmiştir. İzole edilen koloniler saflaştırıldıktan sonra seçici besiyerlerine yapılan ekimlerin sonucunda Chapman agar'da üreme gözlemlenmiştir, EMB agar'da ve Cetrimide agar'da ise üreme gözlemlenmemiştir (Şekil 4.1).



Şekil 3.1. Bakteri izolatının Petri plağı görüntüsü

Beş numaralı örnekten, Sabouraud Dextrose Agar plağına yapılan ekim sonucunda koloni çapı ortalama 5 cm, ortası yeşil, kenarları beyazımsı renkte olan ve kadifemsi dokuya sahip olan küf kolonisi üremesi gözlemlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Küf izolatının Petri plağı görüntüsü

4.2. İncelenen Kremlerden Mikroorganizma İdentifikasyonuna Ait Bulgular

4.2.1. Gram boyama sonuçları

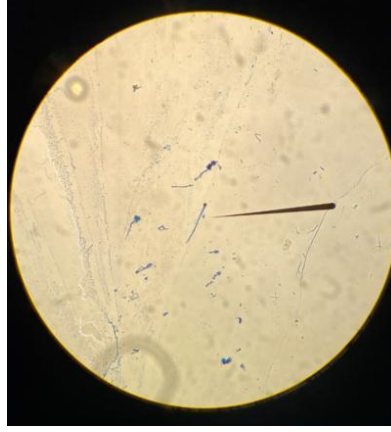
Gram boyama metodu ile izole edilen mikroorganizmaların morfolojik tanımlanması yapılmıştır. Mikroskopik özellikleri incelenen bakterilerin Gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, basil morfolojisinde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).



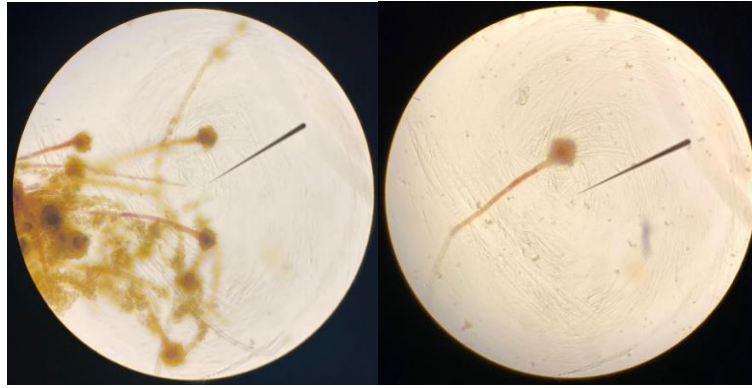
Şekil 4.3. Bakteri izolatının mikroskop görüntüsü
(x100 büyütme ile incelenmiştir)

4.2.2. Laktofenol pamuk mavisi ve lügol çözeltisi ile boyama sonuçları

Küf izolatının mikroskobik incelenmesi hem laktofenol pamuk mavisi ile hem de lügol çözeltisi ile boyanarak yapılmıştır (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Laktofenol pamuk mavisiyle boyanma
(x40 büyütme ile incelenmiştir)



Şekil 4.5. Lügol çözeltisi ile boyanma
(x40 büyütme ile incelenmiştir)

4.2.3. Katalaz testi sonuçları

Yapılan katalaz testi sonucunda bakteri izolatının katalaz negatif olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *Katalaz testi sonucu*

4.2.4. Oksidaz testi sonuçları

Bakteri izolatı için yapılan oksidaz testinde filtre kağıdında renk değişimi gözlemlenmemiştir. Oksidaz testinin sonucu negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *Oksidaz testi sonucu*

5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Kozmetik ürünler steril olma zorunluluğu olmayan, ancak içeriğinde patojen mikroorganizmalar bulundurmaması gereken farmasötik ürünler grubuna dahildirler (Özyaral vd., 1993). Kremeler oldukça geniş ve yaygın olarak kullanılan ürünlerdendir. Günümüzde kozmetik piyasasında orijinal olmayan ve üretimi, ambalajlanması, taşınması standartlara uygun olmayan çok fazla kozmetik ürün bulunabilmektedir. Bu ürünler ekonomik açıdan çok daha uygun fiyata temin edilebilmelerinden dolayı tüketiciler tarafından sıklıkla tercih edilebilmektedir. Steril şartlarda üretilmeyen bu ürünlerde mikroorganizmaların varlığına rastlanması olasılığı da yükselmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında Eskişehir semt pazarlarından toplanan on adet ambalajı açılmamış ve kullanılmamış kozmetik kremin mikrobiyolojik analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucu elde edilen mikrobiyal identifikasyon kriterleri en temel ve başlangıç seviyede muhtemel bakteri ve mantar mevcudiyetinin tespiti, sayımı şeklindedir. Üreme gözlemlenen ürünlerden izole edilen mikroorganizmaların incelenmesi bazı spesifik seçici besiyerlerinde üreme durumu ve koloni morfolojisi, hücresel boyanma ve morfolojik inceleme ile bazı basit biyokimyasal testler (katalaz ve oksidaz testleri) ile gerçekleştirilmiştir. İzolatların identifikasyonu için tanımlama testlerinin (biyokimyasal testler, PCR, serolojik testler vb.) gerçekleştirilmesi gerekir.

Tez çalışmasında 4.1'de belirtildiği gibi bu incelenen hiç kullanılmamış on adet krem örneğinden iki adedinde kontaminasyon gözlemlenmiştir. İki numaralı örnekte gözlemlenen bakteri kolonisi ortalama 0,5-1 mm çaplı, gri-beyaz renkli, kısmen dalgalı, kenarları ince, granüllü, S tipi koloniye sahip, mikroskobik görüntüsü Gram pozitif, sporsuz basil şeklindedir. Katalaz ve oksidaz biyokimyasal test sonuçlarının negatif olduğu gözlemlenmiştir. İzolat Chapman besiyerlerinde üreyebilme özelliğine sahiptir. Diğer besiyerlerinde üreme gözlemlenmemiştir. Ayrıca 2 numaralı örnekte bulunan bakteri sayısı standart değerin (10^3 /ml veya gram) üzerinde ve yaklaşık 3 katı oranında (2700/ml) bulunmuştur.

Kontamine kozmetik ürünlerde varlığına sık rastanan Gram pozitif, basil şeklinde olan mikroorganizmalardan bazıları *Bacillus sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Clostridium sp.*, *Listeria sp.*'dir. Kremelerin ve losyonların içeriğinde bulunan gliserin özellikle *Bacillus* türleri tarafından metabolize edilir (Flores vd., 1997). 2012 yılında kozmetik ürünler üzerinde yapılan bir çalışmada en fazla izole edilen mikroorganizma türlerinden bir

tanesi *Bacillus spp.* olmuştur (Shaqra ve Al-Groom, 2012). Vücut nemlendiricileri üzerinde yapılan başka bir çalışmada bulunan mikroorganizmalar arasında *Bacillusların* da yer aldığı bildirilmiştir (Okeke ve Lamikanra, 2001).

Corynebacterium cinsine ait olan bakteriler genellikle göz çevresinde bulunan, korneal epiteldeki çizik veya sıyrık sonucunda korneaya girerek ciddi oküler enfeksiyonlara sebep olabilen veya solunum yolu enfeksiyonlarına sebep olabilen Gram pozitif sporsuz basil morfolojisindeki bakterilerdir (Pack vd., 2008). 1981 yılında yapılan bir araştırmada tester olarak kullanılan farların mikrobiyolojik içeriği araştırılmış ve Gram pozitif sporsuz, hareketsiz basil özelliğine sahip *Corynebacterium* cinsine ait türlerin varlığına rastlanmıştır (Dawson ve Reinhardt, 1981). 1998 yılında yapılan başka bir araştırmada diş fırçalarının kontaminasyonu ile ilgili bir çalışma yapılmış ve araştırma sonucunda *Corynebacterium* cinsindeki bakterilerin varlığı saptanmıştır (Taji ve Rogers, 1998).

Clostridium türleri kullanılmış kozmetik ürünlerde varlığına sık rastlanılan mikroorganizmalardandır. Kozmetik ürünlerdeki mikrobiyolojik kontaminasyona ilk defa Yeni Zelanda'da bebekler için kullanılan talk pudrasındaki *Clostridium tetani* ile kontaminasyon sonucunda kullanıcılarda tetanoz enfeksiyonunun görülmesi ile rastlanılmıştır (Tremewan, 1946). Bu tarz kontamine olmuş ürünler bütünlüğü bozulmuş deri ile temas ettiği zaman ciddi enfeksiyon riskine sebep olabilir.

Çalışmada kullanılan beş numaralı örnekten izole edilen küf mantarı ortalama 1-3 cm koloni çapında, ortası koyu yeşil, kenarları bordürlü beyaz renkte, keçemsi-kadifemsi dokuda koloniler şeklinde üremiştir. Küfün mikroskopik özelliği incelendiğinde düz hif yapısından ayrılan konidiofor ve ucunda spor kesesi ve sporlar gözlemlenmiştir. Çalışmada kullanılan 5 nolu örnekte 100 kob/ml küf bulunmuştur.

Fungal kontaminasyon varlığı durumunda en çok rastlanılan mikroorganizmalar *Penicillium* ve *Aspergillus* türleridir. Kozmetik ürünlerin üretimi ve donanımı aşamasında hijyenik kurallara dikkat edilmemesi sonucunda ürünlerin *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri ile kontamine olması görülmektedir (Mulhall vd., 2006). 2003 yılında kremler ve losyonlar üzerinde bir araştırma yapılmıştır. İncelenen ürünlerin neredeyse tamamında mikrobiyal kontaminasyon görülmüştür. Araştırma sonucunda *Penicillium* ve *Aspergillus* türleri ile fungal kontaminasyonlara rastlanmıştır (Hugbo vd., 2003). Kullanılmış kozmetik ürünler üzerinde yapılan bir başka araştırmada kozmetik ürünlerin

mikrobiyolojik içeriği incelenmiş ve bulunan mikroorganizma cinslerinin *Penicillium sp.* ve *Aspergillus sp.* olduğu rapor edilmiştir (Skowron vd., 2017). 1996 yılında Güney Afrika'da yapılan araştırmada losyonların ve kremlerin mikrobiyolojik içeriği araştırılmıştır. Araştırılan ürünlerin %69'unda kontaminasyon olduğu ortaya çıkmıştır. *Aspergillus* cinsine ait olan *Aspergillus flavus* da kontaminasyona neden olan mikroorganizmalar arasındadır (Anelich ve Korsten, 1996).

Losyon veya krem tarzı kozmetik ürün kontaminasyonlarına yönelik olarak yapılan farklı araştırmalarda en az kontaminasyon oranının sprey tarzı ambalajlı ürünlerde olduğu, ardından pompalı ambalajlarda, vidalı kapaklı ürünlerde ve en sıklıkla kontaminasyonların kavanoz tarzı geniş ağızlı, havayla ve nemle temas eden, sürekli parmakların temas ettiği ürünlerde gözlemlendiği saptanmıştır. Çalışmada, bakteri kontaminasyonuna rastlanan krem ürününün ambalajı vidalı kapaklı, küf kontaminasyonuna rastlanan beş numaralı ürünün ambalajı ise kavanoz tarzındadır. Kontamine örneklerde bulunan muhtemel bakteri ve küf mantarı kozmetik ürünlerde bulunmaması gereken mikroorganizmalardandır.

Halk pazarlarında, tezgahlarda satılan orijinal olmayan ve genellikle yapılması gerekli mikrobiyolojik testlerden yeterince geçmeyen veya yeterince kontrolü yapılmamış ürünlerde mikrobiyal kontaminasyon riskinin daha fazla olduğu göz önünde bulundurularak tez çalışmamızda bu ürünler incelenmiştir. Yapılan tez çalışmasında, üretim standartlarına uyulmadığı zaman kullanılmamış kozmetik ürünlerde bile mikrobiyal kontaminasyon görülmesinin mümkün olduğu anlaşılmıştır. Ekonomik olarak uygun fiyata temin edilebilen bu ürünlerdeki patojen mikroorganizmaların farklı enfeksiyon ve tahriş, toksisite, alerji vb. riskleri bulunmaktadır. Tüketici sağlığı açısından uygun standart koşullara sahip olmayan, ciddi risk oluşturabilecek ürünlerin tercih edilmemesi önem taşımaktadır. Özellikle immün direnci düşük kişilerin, yaşlı, hamile ve çocuk tüketici gruplarının bu konuda dikkatli davranması ve mümkün olduğunca standartlara uygun şekilde üretilmiş ürünlerin seçilerek kullanılması uygun olacaktır. Zira vücut direncinin normal bireylere göre daha düşük olduğu bu grup popülasyonlarda patojen olmayan mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturabileceği bilinmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdelaziz, A. A., Ashour, M. S. E., Hefni, H., & El-Tayeb, O. M. (1989). Microbial contamination of cosmetics and personal care items in Egypt-eye shadows, mascaras and face creams. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 14(1), 21-28.
- Akçelik, M., Ayhan, K. ve Çakır, İ. (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. (İkinci Baskı). Ankara: Sim Matbaacılık.
- Anelich, L. E. ve Korsten, L. (1996). Survey of micro-organisms associated with spoilage of cosmetic creams manufactured in South Africa. *International journal of cosmetic science*, 18(1), 25-40.
- Anelich, L. E. ve Korsten, L. (1996). Survey of micro-organisms associated with spoilage of cosmetic creams manufactured in South Africa. *International journal of cosmetic science*, 18(1), 25-40.
- Anon, (1998). *European Pharmacopeia*. Strasbourg, France: European pharmacopeia secretariat.
- Aras, A. ve Eryılmaz, M. (2022). Kozmetik Ürünlerde Görülen Mikrobiyolojik Kontaminasyonlar. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 46(1), 262-276.
- Ayberkin, E. ve Çiftçi, E. (2009). Aspergillus infections in children. *Journal of Pediatric Infection/Cocuk Enfeksiyon Dergisi*, 3(3).
- Baird R.M. ve Bloomfield S.F. (1996). *Microbial Quality Assurance in Pharmaceuticals, Cosmetics, and Toiletries*. (İkinci Baskı). London: CRC Press.
- Baird, R. M. (1977). Microbial contamination of cosmetic products. *J. Soc. Cosmet. Chem*, 28(1), 17.
- Baird, R. M. (2017). Microbiological contamination of manufactured products: official and unofficial limits. In *Microbial Quality Assurance in Pharmaceuticals, Cosmetics, and Toiletries* (235-251). CRC Press.
- Behravan, J., Bazzaz, F. ve Malaekheh, P. (2005). Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000). *International journal of dermatology*, 44(6), 482-485.
- Bilgehan, H. (1995). Non-fermentatif Gram olumsuz basiller. *Klinik Mikrobiyoloji. İzmir: Barış Kitabevi*, 161-178.

- Blanco-Dávila, F. (2000). Beauty and the body: the origins of cosmetics. *Plastic and reconstructive surgery*, 105(3), 1196-1204.
- Burnett, C. L., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Klaassen, C. D., Marks, J. G., Shank, R. C., ... ve Andersen, F. A. (2010). Final report of the safety assessment of methylisothiazolinone. *International journal of toxicology*, 29(4_suppl), 187S-213S.
- Butler, H. (1993). Microbiological control of cosmetics. In *Poucher's Perfumes, Cosmetics and Soaps: Volume 3 Cosmetics* (572-606). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Carlton, L. G., John F. P., Glenn, S. ve Charles, O. T. (2010). *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. (Dördüncü Baskı). Wiley-Blackwell.
- Chaudhri, S. K. ve Jain, N. K. (2009). History of cosmetics. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, 3(3).
- Çarıkçı, A., Uçar, F. ve Yalçın, H. T. (2008). Kozmetik ürünlerde bakteriyal ve fungal kompozisyonun klasik yöntemler ve PCR yöntemi kullanılarak saptanması. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 6(01), 1-16.
- Çomoğlu, T. (2012). Kozmetikler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16(1), 1-8.
- Dadashi, L. ve Dehghanzadeh, R. (2016). Investigating incidence of bacterial and fungal contamination in shared cosmetic kits available in the women beauty salons. *Health promotion perspectives*, 6(3), 159.
- Dawson, N. L. ve Reinhardt, D. J. (1981). Microbial flora of in-use, display eye shadow testers and bacterial challenges of unused eye shadows. *Applied and environmental microbiology*, 42(2), 297-302.
- Detmer, A., Jørgensen, C., Nylén, D. ve DHI. (2010). *A guidance document on microbiological control of cosmetic products*. Danish Environmental Protection Agency.
- Detmer, A., Jørgensen, C., Nylén, D. ve DHI. (2010). *A guidance document on microbiological control of cosmetic products*. Danish Environmental Protection Agency.
- Draelos, Z. D. (2000). Cosmetics and skin care products: A historical perspective. *Dermatologic clinics*, 18(4), 557-559.

- Elmorsy, T. H. ve Hafez, E. A. (2016). Microbial contamination of some cosmetic preparations in Egypt. *International Journal of Agricultural Technology*, 12(3), 567-577.
- Ewers, C., Janßen, T., Kießling, S., Philipp, H. C. ve Wieler, L. H. (2004). Molecular epidemiology of avian pathogenic Escherichia coli (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Veterinary microbiology*, 104(1-2), 91-101.
- Flores, M., Morillo, M. ve Crespo, M. L. (1997). Deterioration of raw materials and cosmetic products by preservative resistant microorganisms. *International biodeterioration & biodegradation*, 40(2-4), 157-160.
- Fransway, A. F. (1991). The problem of preservation in the 1990s: I. Statement of the problem, solution (s) of the industry, and the current use of formaldehyde and formaldehyde-releasing biocides. *American Journal of Contact Dermatitis*, 2(1), 6-23.
- Geis, P. A. (2006). *Cosmetic Microbiology* (İkinci Baskı). New York: Taylor and Franchis Group.
- Geis, P.A. (2006). *Cosmetic Microbiology: A Practical Approach*. (İkinci Baskı). New York: Taylor & Francis Group.
- Gündoğan, N. (2014). *Kozmetiklere ve kozmetik mikrobiyolojisine giriş*. (Birinci Baskı). Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.
- Hugbo, P. G., Onyekweli, A. O. ve Igwe, I. (2003). Microbial contamination and preservative capacity of some brands of cosmetic creams. *Tropical journal of Pharmaceutical research*, 2(2), 229-234.
- Kıvanç, M. (2012). Kozmetik Ürünlerde Mikrobiyal Kontaminasyon, 2. Kozmetik Kongresi, Antalya, 2-5.
- Kontoyiannis, D. ve Bodey, G. (2002). Invasive aspergillosis in 2002: an update. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21, 161-172.
- Kozmetik Kanunu (2005). Resmî Gazete Tarihi: 30.03.2005, Sayı: 25771, Kanun Numarası: 5324.
- Madden, J.M. and Jackson, G.J. (1981). Cosmetic preservation and microbes: viewpoint of the Food and Drug Administration. *Cosmet. Toiletries*, 96(10), 75-77.
- Michalek, I. M., John, S. M. ve Caetano dos Santos, F. L. (2019). Microbiological contamination of cosmetic products—observations from Europe, 2005–

2018. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33(11), 2151-2157.
- Muhammed, H. J. (2011). Bacterial and fungal contamination in three brands of cosmetic marketed in Iraq. *Iraqi J Pharm Sci*, 20(1), 38-42.
- Mulhall, R., Schmidt, E. ve Brannan, D. K. (2006). *Microbial environment of the manufacturing plant*. *Cosmetic Microbiology*, 73.
- Nakazawa, Y. ve Hosono, A. (1992). *Functions of Fermented Milk*. New York: Elsevier Science Published Ltd.
- Neza, E., & Centini, M. (2016). *Microbiologically contaminated and over-preserved cosmetic products according Rapex 2008–2014*. *Cosmetics*, 3(1), 3.
- Okeke, I. N. ve Lamikanra, A. (2001). Bacteriological quality of skin-moisturizing creams and lotions distributed in a tropical developing country. *Journal of Applied Microbiology*, 91(5), 922-928.
- Özalp, M. (1998). Kozmetik ürünlerde görülen mikrobiyolojik kontaminasyonlar. *Türkiye*
- Özyaral O., Çevikbaş A., Ergin E. (1993). Microbial investigation in non-sterile pharmaceutical and cosmetic products I. The detection of mycotic contamination in eye cosmetics. *Journal of Pharmacy of University of Marmara*. 9 (1), 141-155.
- Özyaral, O., Çevikbaş, A. ve Ergin, E. (1993). Microbial investigation in non-sterile pharmaceutical and cosmetic products I. The detection of mycotic contamination in eye cosmetic. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 9(2), 141-155.
- Pack, L. D., Wickham, M. G., Enloe, R. A., ve Hill, D. N. (2008). Microbial contamination associated with mascara use. *Optometry-Journal of the American Optometric Association*, 79(10), 587-593.
- Parish, L. C., & Crissey, J. T. (1988). Cosmetics: A historical review. *Clinics in dermatology*, 6(3), 1-4.
- Poucher, W.A. ve Butler, H. (1992). *Poucher's Perfumes, Cosmetics and Soaps: Modern Cosmetics*. (Dokuzuncu Baskı). London: Chapman & Hall.
- Rosen, M. J. ve Kunjappu, J. T. (2012). *Surfactants and Interfacial Phenomena*. (Dördüncü Baskı). New York: John Wiley & Sons.
- Sasseville, D. (2004). Hypersensitivity to preservatives. *Dermatologic therapy*, 17(3), 251-263.
- Secchi, G. (2008). Role of protein in cosmetics. *Clinics in dermatology*, 26(4), 321-325.

- Shaqra, Q. M. A. ve Al-Groom, R. M. (2012). Microbiological quality of hair and skin care cosmetics manufactured in Jordan. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 5(69), 69-72.
- Sivri, N. N. (2005). Türkiye piyasasında mevcut bazı kozmetiklerin gama radyasyonla dekontaminasyonu. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi*, 4, 230-249.
- Skowron, K., Jakubicz, A., Budzynska, A., Kaczmarek, A., Grudlewska, K., Reslinski, A. ve Gospodarek-Komkowska, E. (2017). Microbiological purity assessment of cosmetics used by one and several persons and cosmetics after their expiry date. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(2), 191-197.
- Skowron, K., Jakubicz, A., Budzynska, A., Kaczmarek, A., Grudlewska, K., Reslinski, A., & Gospodarek-Komkowska, E. (2017). Microbiological purity assessment of cosmetics used by one and several persons and cosmetics after their expiry date. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(2).
- Skowron, K., Jakubicz, A., Budzynska, A., Kaczmarek, A., Grudlewska, K., Reslinski, A. ve Gospodarek-Komkowska, E. (2017). Microbiological purity assessment of cosmetics used by one and several persons and cosmetics after their expiry date. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(2).
- Smart, R. ve Spooner, D. F. (1972). Microbiological spoilage in pharmaceuticals and cosmetics. *J Soc Cosmet Chem*, 23, 721-737.
- Steinberg, D. (2006). *Preservatives for Cosmetics*. (İkinci Baskı) USA: Allured Publishing Co., Illinois.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Kılavuz Sürüm 1.0. From <https://www.titck.gov.tr/mevzuat/kozmetik-urunlerin-mikrobiyolojik-kontrolune-iliskin-kilavuz-surum-1-0-27122018172953>. Erişim tarihi: 01.11.2023.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0. From https://titck.gov.tr/storage/Archive/2020/contentFile/asd_977f480b-4a07-4e0e-bb0e-14db1fcf47d6.pdf. Erişim tarihi: 01.11.2023.
- T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kozmetik Ürünler Yönetmelik Değişikliği Taslak Metni, 19.04.2021. From: <https://www.titck.gov.tr/mevzuat/kozmetik-urunler-yonetmelik-degisikligi-taslak-metni-22032021170036>. Erişim tarihi: 01.11.2023.

- Taji, S. S. ve Rogers, A. H. (1998). The microbial contamination of toothbrushes. A pilot study. *Australian Dental Journal*, 43(2), 128-130.
- Tan, A. S. B. ve Tüysüz, M. (2013). Kozmetik Ürünlerde Koruyucu Madde Kullanımı ve Koruyucu Etkinlik Testleri. *ANKEM Derg*, 27(2), 83-91.
- Tirumalai, G. ve Long, A. (2019). United States Pharmacopeial Convention: respecting the past, moving confidently into the future.
- Tremewan, H.C. (1946). Tetanus neonatorum in New Zealand. *New Zealand Medical Journal*, 45, 312-313.
- Tunalı, Y. (2021). *Farmasötik Mikrobiyoloji ve İmmünoloji Uygulamaları*. (Birinci Baskı). Bursa: Dora Basım Yayın.
- Ustaçelebi, Ş. vd. (1999). *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi.

http-1: <https://www.fda.gov/industry/fda-basics-industry/how-can-i-tell-if-my-product-cosmetic-drug-or-both>. (Erişim tarihi: 01.11.2023)

http-2: <https://www.cdc.gov/ecoli/index.html> (Erişim tarihi: 01.11.2023)

http-3: <https://www.okandis.com/oral-pamukcuk-nedir-belirtileri-nelerdir> (Erişim tarihi: 01.11.2023)