

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**PIYASADA BULUNAN BAZI KOZMETİK ÜRÜNLERİN
MİKROBİYOLOJİK İÇERİĞİNİN VE KORUYUCU
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

MAYRAM TÜYSÜZ

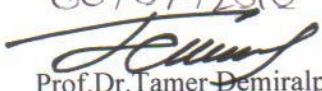
**DANIŞMAN
YARD.DOÇ.DR.A.SEHER BİRTEKSÖZ TAN**

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2010

TEZ ONAYI

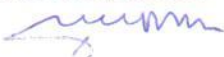
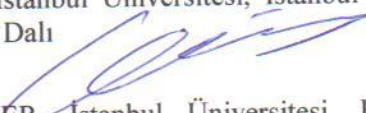
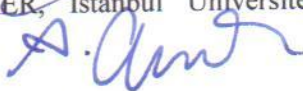
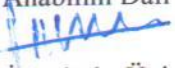

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

06/07/2010

Prof. Dr. Tamer Demiralp
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Farmasötik Mikrobiyoloji
Programın seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Farmasötik Mikrobiyoloji
Tez Sahibi : Mayram Tüysüz
Tez Başlığı : Piyasada bulunan bazı kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içeriğinin ve koruyucu etkinliğinin araştırılması
Sınav Yeri : Eczacılık Fakültesi Seminer Salonu
Sınav Tarihi : 22.06.2010

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi Anabilim Dalı

1. Prof. Dr. Gülten ÖTÜK, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 
2. Prof. Dr. Bülent GÜRLER, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 
3. Prof. Dr. A. Alev GERÇEKER, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 
4. Yard. Doç. Dr. A. Seher BİRTEKSÖZ TAN (Danışman), İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 
5. Yard. Doç. Dr. Sibel DÖŞLER, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Mayram TÜYSÜZ



EC

AF

E

0

0

0-20

150000

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimi hazırlamamda, bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşan ve çalışmamın her aşamasında büyük bir titizlikle yardımcı ve destek olan danışman hocam Yrd.Doç.Dr.A.Seher BİRTEKSÖZ TAN'a ,

Hem yüksek lisans eğitimim hem de tezimin hazırlanması boyunca katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr.Gülten ÖTÜK'e,

Tez çalışmamın her safhasında, her konudaki yardım ve desteklerini içtenlikle benimle paylaşan ve tezimi hazırlayabilmemde önemli katkıları bulunan Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki hocalarıma,

Tüm yaşamım boyunca beni her konuda her zaman destekleyen canım aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2830

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kozmetik Ürünlerin Tanımı.....	2
2.2. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyal Kontaminasyonu	3
2.3. Mikrobiyal Kontaminasyon Kaynakları	7
2.3.1. Su	7
2.3.2. Hammadde	7
2.3.3. Personel	7
2.3.4. Ambalaj.....	7
2.3.5. Üretim Tesisi ve Donanım	8
2.3.6. Kullanım.....	8
2.4. Mikrobiyal Kontaminasyonun Önlenmesi ve Kontrolü.....	8
2.5. Kozmetik Ürünlerde Koruyucu Kullanımı	9
2.6. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Koruyucular	11
2.6.1. p-Hidroksibenzoik Asit	11
2.6.2. Formaldehit Salanlar	12
2.6.3. İzotiyazolinonlar	13
2.6.4. Organik Alkoller	13
2.6.5. Diğer Koruyucular	13
2.7. Koruyucular Dışında Kozmetik Ürünlere İlave Edilen Antimikrobiyal Etkili Maddeler	14

2.8. Koruyucu Etkinlik Testleri	15
2.9. İzole Edilen Mikroorganizmalar Hakkında Genel Bilgiler.....	17
2.9.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.9.2. <i>Pseudomonas putida</i>	17
2.9.3. <i>Burkholderia cepacia</i> ve <i>Burkholderia gladioli</i>	18
2.9.4. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	18
2.9.5. <i>Citrobacter freundii</i>	19
2.9.6. <i>Alcaligenes xylosoxyidans</i>	19
2.9.7. <i>Candida krusei</i>	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Çalışmada Kullanılan Kozmetik Ürünler.....	21
3.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri, Çözeltiler ve Tanı Kitleri	21
3.2.1. Besiyerleri	21
3.2.1.1. Tryptic Soy Agar (Difco)	21
3.2.1.2. Tryptic Soy Broth (Difco)	21
3.2.1.3. Sabouraud Dextrose Agar (Difco)	22
3.2.1.4. Baird-Parker Agar (Difco)	22
3.2.1.5. Mannitol Salt Agar (Oxoid)	23
3.2.1.6. Cetrimide Agar (Difco)	23
3.2.1.7. Fluid Lactose Medium (Difco).....	24
3.2.1.8. Eozine Methylene Blue Agar (Difco)	24
3.2.1.9. Fluid Tetrathionate Medium (Difco).....	24
3.2.1.10. Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar (Difco).....	25
3.2.1.11. Bismuth Sulfite Agar (Difco).....	25
3.2.1.12. Dey Engley (D/E) Neutralizing Agar (Difco).....	26
3.2.1.13. Modified Letheen Broth (Difco)	26
3.2.1.14. Modified Letheen Agar (Difco)	27
3.2.1.15. MacConkey Agar (Difco)	27
3.2.2. Çözeltiler.....	28
3.2.2.1. pH 7 Fosfat Tamponu.....	28
3.2.2.2. İyot Çözeltisi	28
3.2.2.3. Brilliant Green.....	28
3.2.2.4. Tripton Sodyum Klorür.....	28

3.2.2.5. Nötralizan	29
3.2.2.6. 0.5 McFarland Bulanıklığı	29
3.2.2.7. 2 McFarland Bulanıklığı	29
3.2.3. Tanı Kitleri	30
3.3. Diğer Malzemeler	30
3.4. Kozmetik Ürünlerin Toplanması	30
3.5. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanması.....	30
3.5.1. USP'ye Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanması ..30	
3.5.1.1. Toplam Aerob Bakteri Sayısının Saptanması	30
3.5.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Varlığının Araştırılması	31
3.5.1.3. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Salmonella</i> Türleri Varlığının Araştırılması	31
3.5.1.4. Toplam Mantar Sayısının Saptanması	32
3.5.2. FDA'ya Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanması..32	
3.5.2.1. Kozmetik Ürünlerin Hazırlanması	32
3.5.2.2. Toplam Aerob Bakteri Sayısının Saptanması	33
3.5.2.3. Toplam Mantar Sayısının Saptanması	33
3.6. İzole Edilen Mikroorganizmaların Tanımı	34
3.6.1. Gram Pozitif Kok Şeklindeki Bakterilerin Tanımı	34
3.6.1.1. Katalaz Testi.....	34
3.6.1.2. Oksidaz Testi.....	34
3.6.1.3. Koagülaz Testi	34
3.6.1.4. Stafilaz Testi.....	34
3.6.2. Gram Negatif Çomak Şeklindeki Bakterilerin Tanımı	35
3.6.2.1. Oksidaz Testi.....	35
3.6.2.2. API 20 E.....	35
3.6.2.3. API 20 NE.....	35
3.6.3. Maya Şeklinde Mantarların Tanımı	36
3.6.3.1. API 20 C AUX.....	36
3.7. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin Etkinliklerinin Saptanması.....	36
3.7.1. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	36
3.7.1.1. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması	36

3.7.1.2. <i>Candida albicans</i> Süspansiyonunun Hazırlanması.....	36
3.7.1.3. <i>Aspergillus niger</i> Süspansiyonunun Hazırlanması.....	37
3.7.2. Çalışmada Kullanılan Nötralizanın Belirlenmesi	37
3.7.2.1. Nötralizan Validasyon Çalışmaları	37
3.7.3. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobik Etkili Koruyucu Maddelerin Etkinlik Testi.....	38
4. BULGULAR.....	40
4.1. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanmasına Ait Bulgular.....	40
4.1.1. USP'ye Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanmasına Ait Bulgular.....	40
4.1.1.1. Toplam Aerop Bakteri Sayısının Saptanmasına Ait Bulgular	40
4.1.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Varlığının Araştırılmasına Ait Bulgular	40
4.1.1.3. <i>Escherichia coli</i> ve <i>Salmonella</i> Türlerinin Varlığının Araştırılmasına Ait Bulgular.....	40
4.1.1.4. Toplam Mantar Sayısının Saptanmasına Ait Bulgular.....	42
4.1.2. FDA'ya Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanmasına Ait Bulgular.....	42
4.1.2.1. Toplam Aerop Bakteri Sayısının Saptanmasına Ait Bulgular	42
4.1.2.2. Toplam Mantar Sayısının Belirlenmesine Ait Bulgular.....	42
4.1.3. İzole Edilen Mikroorganizmaların Tanımına Ait Bulgular.....	42
4.1.3.1. Gram Pozitif Kok Şeklindeki Bakterilerin Tanımına Ait Bulgular	42
4.1.3.2. Gram Negatif Çomak Şeklindeki Bakterilerin Tanımına Ait Bulgular	44
4.1.3.3. Maya Şeklindeki Mantarların Tanımına Ait Bulgular	44
4.2. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular	44
4.2.1. Çalışmada Kullanılan Nötralizanın Belirlenmesine Ait Bulgular.....	45
4.2.1.1. Nötralizan Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular	45
4.2.2. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin Mikroorganizmalara Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular	45
4.2.2.1. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular	45
4.2.2.2. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin <i>Escherichia coli</i> 'ye Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular	46

4.2.2.3. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin <i>Staphylococcus aureus</i> 'a Karşı Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular.....	50
4.2.2.4. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin <i>Candida albicans</i> 'a Karşı Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular	52
4.2.2.5. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin <i>Aspergillus niger</i> 'e Karşı Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular.....	54
5. TARTIŞMA	57
KAYNAKLAR	66

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kozmetik ürünler	2
Tablo 2-2: Kozmetik ürünlerde izin verilen mikroorganizma sayısı	4
Tablo 2-3: Kontamine kozmetik ürünlerde görülebilen mikroorganizmalar	6
Tablo 2-4: Kozmetik ürünlerde en sık kullanılan kozmetik koruyucular	12
Tablo 2-5: Bazı koruyucuların antimikrobiyal aktiviteleri	14
Tablo 4-1: Kozmetik ürünlerin içerdiği toplam aerop bakteri sayılarına ait sonuçlar	41
Tablo 4-2: Kozmetik ürünlerin içerdiği toplam mantar sayılarına ait sonuçlar	43
Tablo 4-3: Kozmetik ürünlerden izole edilen mikroorganizmalar ve izole edildikleri ürün grupları	44
Tablo 4-4: Nötralizan toksisite ve etkinlik test sonuçları	45
Tablo 4-5: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı etkinlik değerleri	47
Tablo 4-6: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin <i>E. coli</i> 'ye karşı etkinlik değerleri	49
Tablo 4-7: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin <i>S. aureus</i> 'a karşı etkinlik değerleri	51
Tablo 4-8: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin <i>C. albicans</i> 'a karşı etkinlik değerleri.....	53
Tablo 4-9: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin <i>A. niger</i> 'e karşı etkinlik değerleri.....	55

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

FDA: Food and Drug Administration

CTFA: Cosmetic Toiletry and Fragrance Association

GMP: Good Manufacturing Practices

DMDM hidantoin: Dimetil dimetilol hidantoin

EDTA: Etilendiamintetrasetik asit

USP: United States Pharmacopeia

TSB: Tryptic Soy Broth

BP: Baird-Parker Agar

CET: Cetrimide Agar

EMB: Eozine Methylene Blue Agar

TTB: Tetrathionate Medium

XLD: Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar

BIS: Bismuth Sulfite Agar

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

MLB: Modified Letheen Broth

ML: Modified Letheen Agar

D/E: Dey-Engley Neutralizing Agar

ÖZET

Tüysüz M. Piyasada Bulunan Bazı Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriğinin ve Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2010.

Çalışmada, ülkemizde üretilen ve piyasada satılmakta olan çeşitli kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içerikleri ve formülasyonlarına katılan koruyucu maddelerin etkinlikleri araştırılmıştır. Piyasadan temin edilen kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içerikleri, Amerikan Farmakopesi (United States Pharmacopeia-USP) ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration) tarafından önerilen yöntemlere göre belirlenmiştir. Çalışılan 50 kozmetik üründen dört tanesinin, izin verileden daha fazla sayıda mikroorganizma içerdiği tespit edilmiştir. Ürünlerden iki adet tıraş öncesi, bir adet el ve vücut bakımı, bir adet yüz bakımı ve bir adet tüy dökücü ürünün *Staphylococcus aureus* içerdiği, el ve vücut bakım ürünlerinden üç tanesinin *Alcaligenes xylosoxyidans*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas putida* ve *Candida krusei*, yüz bakım ürünlerinden bir tanesinin *Citrobacter freundii*, *B. cepacia* ve *B. gladioli* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Çalışmada, ürünlere mikrobiyal kontaminasyonu engellemek amacıyla katılan koruyucuların etkinlikleri USP tarafından önerilen yöntemlere göre araştırılmış ve 50 üründen yedi tanesinin koruyucusunun en az bir deney mikroorganizmasına karşı etkisiz olduğu ve bu ürünlerden bir tanesinin *Aspergillus niger* tarafından degradasyona uğrayarak renk değiştirdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kullanılmamış kozmetik ürünlerin patojen ve potansiyel patojen mikroorganizmalar içerebildiği ve bunların engellenmesi için katılan koruyucuların da etkisiz olabileceği görülmüştür. Bu nedenle üretim sırasında meydana gelebilecek kontaminasyonu engellemek amacıyla üreticilerin iyi imalat uygulamaları kurallarına uygun üretim yapması ve tüketici sağlığı düşünülerek, yönetmeliklerce belirlenen konsantrasyonlarda ve toksik doz limitlerine uygun, etkili bir koruyucunun seçilerek ürünlere ilave edilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kozmetik, mikrobiyal kontaminasyon, koruyucu, identifikasyon, iyi imalat uygulamaları

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 2830

ABSTRACT

Tüysüz M. Investigation of Preservative Efficacy and Microbiological Content of Some Cosmetics Found on the Market. İstanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Microbiology Department, Master Thesis. İstanbul. 2010

In the study microbial content and preservative efficacy of various cosmetic products which produced and sold in markets of our country were investigated. Microbial content of products were investigated according to United States Pharmacopeia (USP) and Food and Drug Administration methods, four of 50 cosmetic products microorganism counts were found above permissible limits. It was identified that two shaving creams, one hand and body care cream, one face care cream and one depilatory cream contained *Staphylococcus aureus*, three of hand and body care creams were contaminated with *Alcaligenes xylosoxyidans*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas putida* and *Candida krusei*, and one face care cream was contaminated with *Citrobacter freundii*, *B. cepacia* and *B. gladioli*. Preservative efficacies were tested by a USP proposed method and seven of 50 products preservatives were found ineffective for at least one of the test microorganism and in one of these products degradation and color change was observed by *Aspergillus niger*. According to the results, it was observed that pathogen and potential pathogen microorganisms can be found in unused cosmetic products and also preservatives may be ineffective in preventing them. For this reason, in order to prevent the contamination that can occur during production, manufacturers are required to perform according to the good manufacturing practices, and considering consumer health it is necessary to add an effective preservative under determined by regulations.

Key Words: Cosmetic, microbial contamination, preservative, identification, good manufacturing practices

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 2830

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya kuruluşundan bu yana insan yaşamında önemli yer tutan kozmetikler, mikrobiyolojik açıdan steril olma zorunluluğu olmayan ancak tüketici sağlığı açısından uygun kalitede olmaları gerekli olan ürünlerdir (1).

Bu ürünlerin, üretim sırasında ortamda veya başta su olmak üzere hammaddelerde bulunan mikroorganizmalarla kontamine olabildikleri belirlenmiş, kontaminasyonun üretim sonrasında saklama koşullarının iyi olmaması ve tüketici kullanımı sırasında da oluşabildiği ortaya konulmuştur (2). Kozmetik ürünlerin mikroorganizma kontaminasyonu sonucu, ürün kokusu, rengi, viskozitesi ve performansında istenmeyen değişiklikler meydana gelebilmekte, bütünlüğü bozulmuş deriyi infekte edebilmekte, mikroorganizmalar tarafından üretilen endotoksinler ve metabolitler ciltte aşınma, irritasyon ve alerjiye sebep olabilmektedir (3).

Kozmetiklerin geniş kullanım alanına sahip ürünler olduğu düşünüldüğünde ürünlerdeki mikroorganizma kontaminasyonunun tüketici sağlığı açısından önemli bir risk oluşturabileceği görülmektedir. Bu nedenle kozmetik ürünlerin kontamine olma olasılığına karşı mikrobiyal üremeyi önlemek amacıyla koruyucu olarak bilinen farklı kimyasal yapıda bazı maddelerin eklenmesi öngörülmüştür (4). Ürünlerin yetersiz korunması durumunda özellikle krem ya da losyon gibi kozmetiklerde bulunan protein, bitki özleri, karbonhidrat ve yağ gibi birçok maddenin mikrobiyal üremeyi desteklediği belirlenmiştir (5). Bu nedenle tüm kozmetik ürünlere formülasyondaki diğer maddelerle uyumlu, geniş spektrumlu ve kullanıcı üzerine alerjik, toksik ya da tahriş edici etkisi olmayan uygun koruyucuların ilave edilmesi gerekmektedir.

Kozmetik Kanunu'na göre, üretici firmaların denetimleri dahilinde piyasaya sunulan bu ürünlerin, kullanımına sunulduğu hedef kitlenin sağlığı açısından güvenlik değerlendirmelerinin yapılması gerekmektedir (6).

Çalışmamızda bu amaçla, ülkemizde üretilen ve piyasada satılmakta olan kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içerikleri ve koruyucu etkinliği araştırılmış ve değerlendirilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarının ülkemizde yaygın kullanım alanına sahip kozmetik preparatların kalitesini ve güvenilirliğini göstermesi açısından önemli bir rehber olacağı düşüncesindeyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kozmetik Ürünlerin Tanımı

Kozmetik; Latince “süs, güzellik” anlamındaki cosmos kelimesinden türetilmiştir. Sağlık Bakanlığı’nın 24/3/2005 tarihli ve 5324 sayılı Kozmetik Kanunu’na göre kozmetik ürün “İnsan vücudunun epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlar gibi değişik dış kısımlarına, dişlere ve ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek ve/veya vücut kokularını düzeltmek ve/veya korumak veya iyi bir durumda tutmak olan bütün preparatlar veya maddeler” şeklinde tanımlanmaktadır (6).

Kozmetik Yönetmeliği’ne göre kozmetik olarak değerlendirilen ürünler Tablo 2.1’de gösterilmiştir (7).

Tablo 2-1: Kozmetik ürünler

Cilt için kremler, emülsiyonlar, losyonlar, jeller ve yağlar (el, yüz, ayak vb. için)
Yüz maskeleri (cilt yüzeyini aşındıranlar/ soyanlar hariç)
Fondötenler (sıvı, pat, toz)
Makyaj pudraları, banyo sonrası kullanılacak pudralar, hijyenik pudralar vb.
Kozmetik ürün tanımı kapsamındaki tuvalet sabunları, deodorant sabunlar vb.
Parfümler, tuvalet suları (eau de toilette), ve kolonyalar (eau de Cologne)
Banyo ve duş ürünleri (tuzlar, köpükler, yağlar, jeller vb.)
Depilatuarlar (kıl dökücü ve kıl sökücüler)
Deodorantlar ve ter önleyiciler
Saç bakım ürünleri
<ul style="list-style-type: none"> • saç boyaları ve açıcılar • dalgalandırma, düzleştirme ve sabitleştirme amacıyla kullanılanlar • şekillendirme ürünleri • temizleyiciler (losyonlar, pudralar, şampuanlar) • bakım ve şartlandırma ürünleri (losyonlar, kremler, yağlar) • taranıp şekillendirilmesi için ürünler (losyonlar, saç spreyleri, briyantiner)
Tıraş için kullanılan ürünler (kremler, köpükler, losyonlar vb.)
Yüz ve göz makyajında ve makyajın temizlenmesinde kullanılan ürünler
Dudaklara uygulanmak üzere hazırlanmış ürünler
Ağız ve diş bakım ürünleri
Tırnak bakımı ve süsü için kullanılan ürünler
Dış genital organlara haricen uygulanmak amacıyla üretilmiş kişisel hijyen ürünleri
Güneş banyosu için ürünler
Güneş olmaksızın cilde yanık ten görünümü vermek üzere kullanılan ürünler
Cilt rengini açmak için kullanılan ürünler
Cilt kırıksıklıklarına karşı kullanılan ürünler

2.2. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyal Kontaminasyonu

Kozmetik ürünlerin mikroorganizmalarla kontamine olabildikleri ilk kez 1946 yılında Yeni Zelanda'da, *Clostridium tetani* ile kontamine talk pudrasının kullanılması sonucu meydana gelen bebek ölümleri ile fark edilmiştir (8). 1969 yılında İsveç'te Prof.Kallings tarafından yapılan bir çalışmada ilk kez kozmetiklerin kontamine olabildikleri belirlenmiştir. Food and Drug Administration (FDA)'nın New York'daki kozmetikler üzerine yaptığı çalışmada kozmetiklerdeki kontaminasyon oranı % 25 olarak belirlenirken ürünlerin yüksek oranda Gram negatif bakteriler ile kontamine oldukları tespit edilmiştir (9). 1970'li yıllardan itibaren *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella* türleri ile kontamine kozmetik ürünlerin kullanımına bağlı olarak gelişen nazokomiyal infeksiyonlar ve epidemilerin bildirilmesi ve konu üzerinde yapılan çalışmalar, kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik analizlerinin yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur (8).

Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik standardizasyonu ile ilgili kurallar Dünya'da Cosmetic Toiletry and Fragrance Association (CTFA), FDA ve Avrupa Komisyonu gibi kuruluşlar, ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan raporlarla düzenlenmiştir. Bu raporlara göre kozmetikler mikrobiyolojik olarak göz çevresine uygulanan ürünler, bebek ürünleri ve diğer ürünler olmak üzere farklı kategorilere ayrılarak gruplandırılmıştır. Ülkemizde ise 1998 yılında Resmi Gazete'de yayınlanan Kozmetik Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmeliğe göre kozmetik ürünler bebek ürünleri, göz çevresi veya gözle temas edecek ürünler ağız çevresine uygulanan ürünler ve diğer ürünler olarak gruplandırılarak kategorize edilmiştir. Bu raporlara göre steril olma zorunluluğu bulunmayan kozmetik ürünlerde, bulunmaması gereken mikroorganizmalar ile ürünlerin içerebilecekleri maksimum aerop mikroorganizma miktarları belirtilerek bu konudaki kurallar ortaya konmuştur (Tablo 2.2) (10-13).

Tablo 2-2: Kozmetik ürünlerde izin verilen mikroorganizma sayısı

	Kategori	İzin verilen mikroorganizma miktarı (gram veya mililitrede)
Sağlık Bakanlığı Kozmetik Yönetmeliği	Bebek ürünleri Göz çevresine uygulanan ürünler Ağız çevresine uygulanan ürünler Diğer ürünler	1×10^2 1×10^2 5×10^2 1×10^3 <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella</i> türleri, <i>Clostridium</i> türleri ve <i>Candida albicans</i> gibi patojen mikroorganizmalar bulunmayacak.
Avrupa Komisyonu Kuralları	Bebek ürünleri (veya 3 yaş altı çocuk ürünleri) Göz çevresine uygulanan ürünler Müköz membranlara uygulanan ürünler Diğer ürünler	2×10^2 (Kategori 1) 2×10^2 (Kategori 1) 2×10^2 (Kategori 1) 1×10^4 (Kategori 2) Toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı Kategori 1'deki ürünlerin 0,5, Kategori 2'deki ürünlerin 0,1 gramında <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> ve <i>C. albicans</i> bulunmayacak.
CTFA	Bebek ürünleri Göz çevresine uygulanan ürünler Diğer ürünler	5×10^2 5×10^2 1×10^3 Patojen veya fırsatçı patojen mikroorganizmalar bulunmayacak.
FDA	Göz çevresine uygulanan ürünler Diğer ürünler	5×10^2 1×10^3 <i>P. aeruginosa</i> ve diğer <i>Pseudomonas</i> türleri, <i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> gibi patojen veya fırsatçı patojen mikroorganizmalar bulunmayacak.

Kozmetik ürün formülasyonları, içerdikleri mineraller, üreme faktörleri, uygun ortam asitliği ve nemi ile mikroorganizma üremesi için uygun ortamlardır. Ayrıca ürün formülasyonlarında bulunan karbonhidratlar, şeker alkolleri, yağ asitleri, proteinler, aminoasitler, glikozidler, yağ alkolleri, steroidler, peptidler, vitaminler ve bitkisel hammaddeler mikroorganizma üremesini destekleyici besin teşkil eden maddelerdir. Ürüne giren mikroorganizmalar çeşitli hidrolitik enzimleri ile üründe bulunan bu maddeleri metabolize ederek, ürünün kokusu, rengi, viskozitesi ve performansında istenmeyen değişiklikler meydana getirirken bu değişiklikler ürünün bozulmasına ve sonuçta kullanıcının zarar görmesine sebep olmaktadır (11).

Kozmetik ürünlerde oluşan bozulmanın mikroorganizma kaynaklı olup olmadığı ürünün mikrobiyolojik analizleri sonucu tespit edilir. Kozmetik ürünlerde mikroorganizma yükünün ölçümü standart mikrobiyolojik limit testi ile yapılmakta, izole edilen mikroorganizmalar çeşitli yöntemler yardımıyla tanımlanmaktadır (14). Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan araştırmalarda bu ürünlerin birçok patojen ve potansiyel patojen mikroorganizmalar içerebildiği belirlenmiştir (Tablo 2.3) (15). Bu ürünlerde en sık rastlanan mikroorganizma, toprak ve suda bulunabilen ve ürünlerin içerisindeki koruyuculara karşı direnç de oluşturabilen *P. aeruginosa*'dır. 2005-2008 yılları arasında Avrupa'da 173 kozmetik ürünü ile yapılan bir araştırmada 24 kontamine üründen en çok izole edilen mikroorganizma *P. aeruginosa* olmuştur. Aynı çalışmada ürünlerin *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia* ve *Candida albicans* gibi patojen mikroorganizmaları da içerdiği tespit edilmiştir (16).

Behravan ve ark. (17) tarafından, 48 adet kozmetik kremin mikrobiyolojik içeriklerinin araştırıldığı çalışmada ürünlerin % 70'inden fazlasının 10^3 kob/g'dan fazla mikroorganizma ile kontamine olduğu ve *S. aureus*, *Escherichia coli* gibi patojen bakterileri içerdiği belirlenmiştir.

Kontamine ürün kullanımının sonuçları, kontaminasyonun tipine, derecesine ve ürünün nasıl kullanıldığına bağlı olarak değişebilmektedir. Kullanıcı, ürüne giren mikroorganizmalara maruz kaldığında farklı ve beklenmedik yanıtlar verebilmekte ve bu yanıtlar zaman zaman ciddi sonuçlar doğurabilmektedir.

Tablo 2-3: Kontamine kozmetik ürünlerde görülebilen mikroorganizmalar

Gram negatif nonfermentatif bakteriler	Gram negatif fermentatif bakteriler	Gram pozitif bakteriler	Mayalar	Küfler
<i>Acinetobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Candida</i>	<i>Absidia</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Alternaria</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>S. epidermis</i>	<i>Torula</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>P. putida</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Citromyces</i>
<i>P. fluorescens</i>	<i>E. gergoviae</i>	<i>Micrococcus</i>		<i>Cladosporium</i>
<i>P. paucimobilis</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Sarcina</i>		<i>Dematium</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus</i>		<i>Fusarium</i>
<i>S. maltophilia</i>	<i>Proteus Serratia liquefaciens</i>	<i>Propionibacterium</i>		<i>Helminthosporium</i>
	<i>S. marescens</i>			<i>Hormodendrum</i>
	<i>S. odorifera</i>			<i>Mucor</i>
	<i>S. rubidaea</i>			<i>Geotrichum</i>
				<i>Paecilomyces</i>
				<i>Penicillium</i>
				<i>Phoma</i>
				<i>Auerobasidium</i>
				<i>Rhizopus</i>
				<i>Thamnidium</i>
				<i>Trichothecium</i>
				<i>Verticillium</i>

Hopfer ve ark. (18, kaynak: 5) tarafından yapılan bir çalışmada, kontamine şampuan kullanımının kemoterapi gören nötropenik hastalar arasında enfeksiyona sebep olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan şampundan izole edilen *P.aeruginosa*'nın tıraş sonrasında oluşan kesiklerden girerek hastaları enfekte ettiği ve bir hastanın ölümüne neden olduğu tespit edilmiştir.

Haemophilus, *Staphylococcus*, *Pneumococcus*, *Corynebacterium* ve *Streptococcus* cinslerine ait türler göz çevresinde sıklıkla bulunabilen bakterilerdir. Bu bakteriler genellikle zararsızdırlar; ancak korneal epiteldeki bir çizik veya sıyrık sonucu korneaya girerek ciddi oküler enfeksiyonlara neden oldukları bildirilmiştir (19). Göz çevresinde kullanılan, mikroorganizmalar ile kontamine göz farları ve özellikle rimellerin ciddi göz enfeksiyonlarına neden olduğu bilinmektedir (20). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmada, kontakt lens kullanmayanlardaki en büyük bakteriyel korneal enfeksiyon nedeni *Staphylococcus* cinslerine ait türler olarak belirlenirken kontakt lens kullanıcılarındaki etkenin *P. aeruginosa* olduğu tespit edilmiştir (19, kaynak: 5,6).

2.3. Mikrobiyal Kontaminasyon Kaynakları

Kozmetik ürünlerde görülen ve ürünün bozulmasına neden olan mikrobiyal kontaminasyon, üretim aşamasında ya da ürünün tüketici tarafından kullanımı sırasında oluşabilmektedir. Kontaminasyon, ürününün üretiminde kullanılan su, hammadde, yardımcı maddeler, paketlenme materyali, personel, üretim tesis ve donanımı, çevre ve depolama kaynaklı olabilmektedir (2,21).

2.3.1. Su

Su, farmasötik formülasyonlarda kullanılan en genel hammaddedir ve suyun ekolojisi oldukça önemlidir. Birçok ürünün bileşimde, ürünlerin yıkanma ve soğutulma sürecinde yaygın olarak kullanılan suda *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Chromobacter* ve *Serratia* cinslerine ait türlere, kanalizasyon ile kontamine sularda ise *Proteus* türlerine, *E. coli* ve diğer enterobakterilere rastlanabildiği görülmüştür (2).

2.3.2. Hammadde

Kozmetik ürünlerin yapısına giren hammaddelerin çoğu doğaldır ve mikroorganizmalarla kolaylıkla kontamine olabilmektedir. Sentetik toz maddelerde genellikle kontaminasyon görülmezken hayvan kaynaklı ürünlerin *Salmonella* türleri gibi hayvansal mikroorganizmaları, bitki kaynaklı ürünlerin ise *Erwinia* türleri gibi bitkisel mikroorganizmaları içerdikleri tespit edilmiştir. Kozmetik ürünlerin yapısına giren hammaddelerin özellikle *Bacillus* türleri, *S. aureus*, *Streptococcus* türleri, *E. coli* ve küf gibi birçok mikroorganizmayı içerebileceği belirlenmiştir (2,22).

2.3.3. Personel

Üretimde çalışan personelin deri ve solunum yolu florası da önemli bir kontaminasyon kaynağıdır. Özellikle normal deri florasında da bulunabilen *S. aureus* istenmeyen, önemli ve patojen bir mikroorganizmadır. Ürünler personelin deri florası yoluyla kontamine olabileceği gibi kötü kişisel hijyen koşullarında anal kaynaklı veya yaralardaki mikroorganizmalar ile de kontamine olabilmektedir (2,23). Bu nedenle kontaminasyonun önemli bir kaynağı olan personelin yeterli derecede eğitilmiş olması, temizlik ve hijyen kurallarına tam olarak uyması gerekmektedir.

2.3.4. Ambalaj

Ambalaj materyalinin ürünü koruyarak kontaminasyona neden olan mikroorganizmaların ve nemin ürüne girişini engellemesi nedeniyle kontaminasyonun

asıl kaynağı olmaması önemlidir. Selüloz asetat, polietilen, polipropilen, polivinilklorid, metal veya laminat ambalajlar; pürüzsüz, su geçirmez ve çatlak olmadıkları zaman mikrobiyal üreme için düşük risk gösterirler. Mukavva veya karton ambalajların bir işlemde geçirilmeden kullanıldıklarında, *Cladosporium* ve *Aspergillus* cinslerine ait türleri ve *Penicillium* sporları ile *Bacillus* ve *Micrococcus* cinslerine ait türleri içerebildiği belirlenmiştir. Ayrıca ürünlerin dağıtımını için kullanılan ambalaj kapakları kontaminasyonun engellenmesi için oldukça önemli olduğundan yeterli korumayı sağlayabilen ve kontaminasyon kaynağı olmayan uygun materyalden yapılması gereklidir. Tıpa ve mantarların da uygun koruyucu kullanılmazsa kontaminasyon kaynağı olabilecekleri görülmüştür (2,24).

2.3.5. Üretim Tesisi ve Donanım

Üretim tesisi ve donanımın da zaman zaman kontaminasyon kaynağı olabildiği ve özellikle kötü havalandırılmış, boyanmamış binaların yer ve duvarların *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Aurebasidium (Pullularia)* cinslerine ait türler ile sıklıkla kontamine olabildiği tespit edilmiştir. Bu nedenle yerler, duvarlar ve camlar tozların birikmesini engellemeli, temizlik ve sanitasyonu destekleyici şekilde dizayn edilmelidir. Ayrıca üretim veya depolama sırasında kullanılan aletlerin de mikrobiyal üremeyi destekleyebildiği belirlenmiştir (2,23).

2.3.6. Kullanım

Mikrobiyal kontaminasyon üretim sırasında olabileceği gibi kullanım sırasında tüketici tarafından da oluşturulabilir. Bazı kozmetiklerin tüketici tarafından uzun süre kullanılması, kullanım sırasında kullanıcı tarafından ürüne su eklenmesi, tükürükle ıslatılması, içine parmak sokulması ya da başka tüketicilerle paylaşılması gibi ürünün korunması için gerekli hijyen koşullarına uyulmaması sonucu veya havadan düşen tozlarla kontamine olabildikleri belirlenmiştir (18).

2.4. Mikrobiyal Kontaminasyonun Önlenmesi ve Kontrolü

Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kalitesi tüketicilerin sağlığı ve ürünlerin tüketiciler tarafından güvenli kullanımı açısından son derece önemlidir. Bu nedenle bu ürünlerin kalite, güvenilirlik ve etkinliğini sağlayan kurallara uygun olarak üretilmeleri gerekmektedir. İstenen kaliteye ulaşmak için üretimde kullanılan hammaddeden başlamak üzere üretim sahaları, araç gereç, su ve havalandırma sistemleri, çalışan

personel ve kullanılan yöntemlerin amaca uygun belirli standartlar içinde olması istenir. Tüm bu koşulların sağlanabilmesi için gerekli kurallar Dünya Sağlık Örgütü tarafından Good Manufacturing Practices (GMP) adı altında yayınlanmıştır. Ülkemizde ise bu kurallar Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından yayınlanan Kozmetik İyi İmalat Uygulamaları Kılavuzu ile belirtilmiştir.

Bu kılavuza göre mikrobiyolojik kirlenme riskinin ürüne göre değişmesi nedeniyle (örneğin: krem veya şampuanlar gibi kozmetik ürünlerin daha fazla kirlenmesi), her türlü kirlenme riskini önlemek amacıyla değişik üretim aşamaları, ürünün niteliğine uygun endüstriyel hijyen şartları uyarınca denetlenmelidir. Fabrikanın her kısmında bina, tesisat ve teçhizat da tıpkı hammadde, ürün bileşenleri, dökme ürün, ambalajsız ve bitmiş ürünlerde olduğu gibi uygun hijyenik şartlarda muhafaza edilmelidir. Üretim tesisindeki hava ve su sistemleri de sanitasyonaya uygun olmalı ve ekipman üretim sırasında kontaminasyonun en büyük kaynaklarından biri olabildiği için dolun ve ambalajlama teçhizatı, tasarım ve kullanım şartlarına uygun olarak temizlenmeli ve düzenli olarak dezenfekte edilmelidir. Ayrıca personelin, kişisel hijyen ile ilgili belirlenen kurallara ve çalışma talimatlarına uyması temin ve kontrol edilmelidir. Ortaya çıkabilecek her türlü kirlenmenin niteliğini ve kaynağını tespit etmek ve ürün kirlenmesini önlemek amacıyla bu kirlilik kaynaklarının ortadan kaldırılmalarına yönelik tedbirlerin alınmasına önemle dikkat edilmelidir (25,23).

Günümüzde ilaçlar ve gıdaların kontrolü için yeterli sayıda kaynak mevcut iken özel olarak kozmetik endüstrisinin üretim ve denetlenmesi için yeterli bilgileri içeren kaynaklar mevcut değildir. Kozmetik üretimi için var olan rehberler ise özel olarak endüstri için gerekli olan detaylı bilgiyi içermemektedir (26). Bu konudaki eksikliklerin giderilmesi için uygun ve ayrıntılı kılavuzların hazırlanması gerekmektedir.

2.5. Kozmetik Ürünlerde Koruyucu Kullanımı

Koruyucular, kozmetik ürünlerin mikroorganizmalar ile kontamine olma olasılığına karşı genellikle bitmiş ürüne, üremelerinin engellenmesi ya da ürünün kimyasal bozulmasını önlemek amacıyla ilave edilen kimyasal maddelerdir (4). Koruyucu olarak kullanılan maddeler mikroorganizmaları öldürücü ya da üremelerini durdurucu özelliktedir. Koruyucuların ürünler içerisinde, ürünün raf ömrü ve kullanım süresi boyunca korumayı sağlamak için yeterli konsantrasyonda olması gerekmektedir. Burada önemli olan koruyucunun miktarının hem kullanıcıyı mikroorganizmalardan

korumaya yeterli olması hem de kullanıcının epitel hücrelerine toksik ve iritan etkisinin olmaması ve aşırı duyarlılık gibi önemli problemlere yol açmamasıdır (27,28). Bu nedenle, koruyucu olarak kullanılacak maddelerin ürüne girebilecek her türlü mikroorganizmaya karşı düşük konsantrasyonlarda bile etkili olması, kullanıcı üzerine alerjik, toksik ya da tahriş edici etkisinin olmaması, üretim sırasında ve ürünün raf ömrü boyunca (değişen ısı ve pH değerlerinde) stabil olması, formülasyondaki diğer maddelerle uyumlu olması, renksiz ve kokusuz olması, suda çözülebilir olması, ürünün fiziksel özelliklerini değiştirmemesi, mikroorganizmaları ortama adapte olmamaları için hemen öldürmesi, yasa ve yönetmeliklere uygun olması ve çok pahalı olmaması gibi bazı özelliklere sahip olmaları gerekmektedir (1,29-32).

Koruyucuların kimyasal ve biyolojik aktiviteleri genel olarak ürünün formülasyonundaki birçok maddeden ve fiziksel şartlardan etkilenebilmektedir. Koruyucu etkinliğini değiştirebilen bu faktörler ürünün pH'sı, içerdiği yüzey aktif maddeler, proteinler, inorganik ve organik maddeler, su, ambalaj şekli ve üretim yapılan fabrikanın hijyeni, hammaddelerin mikrobiyal kontaminasyonu, tespit edilen raf ömrü ve bitmiş ürünün kullanıcı tarafından kötü kullanımı olarak belirlenmiştir (14,27,29).

Koruyucular genel olarak mikroorganizmaların hücre duvarı, sitoplazma membranı (membran potansiyeli, enzimler, membran permeabilitesi) ve sitoplazması (konjugasyon mekanizması, ribozomlar, nükleik asitler, tiyol grupları, amino grupları) üzerine etki eden kimyasal maddelerdir. Fenol, formaldehit ve glutaraldehit çok düşük konsantrasyonlarda hücre duvarında lizise neden olurken; 2-fenoksietanol, klorhekzidin, sistein ve setrimin gibi koruyucular sitoplazma membranını, klorhekzidin ve fenoller yüksek konsantrasyonlarda genel konjugasyonu, bronopol ve izotiyazolinonlar gibi koruyucular sitoplazmadaki enzimlerin tiyol gruplarını, formaldehit ve glutaraldehit ise amino grupları ile reaksiyona girerek mikroorganizmaları etkilemektedir (33).

Mikroorganizmaların antibiyotik, antiseptik ve dezenfektanlara olduğu gibi koruyuculara karşı da direnç geliştirebildikleri tespit edilmiştir. Bu hücresel direnç mekanizmaları hedef bölgenin değiştirilmesi, inhibitör konsantrasyonlarının azaltılması ve inhibitörün enzimatik veya kovalent inaktivasyonudur. Bu üç mekanizmanın kombinasyonuna ilave olarak biyofilm oluşumu da oldukça etkili bir direnç mekanizmasıdır (34).

Biyolojik olarak aktif kimyasallar olan koruyucuların mikroorganizmaları öldürürken kullanıcıya zarar verebildikleri bilindiğinden bu durum yönetmelik ve yasalarla düzenlenmiştir (10). Kullanılan kozmetik koruyucularının izin verilen maksimum konsantrasyonları, hangi ürünlerde kullanımlarının sınırlandırıldığı ve kullanılmasına izin verilmeyen kimyasal maddelerin listeleri bu yönetmeliklerde belirtilmiştir. Ülkemizde de bu amaçla Sağlık Bakanlığı tarafından Avrupa Birliği Kozmetik Mevzuatının 76/768/EEC sayılı Konsey Direktifi ile 96/335/EC sayılı Komisyon Kararına paralel olarak 24/3/2005 tarihli ve 5324 sayılı Kozmetik Kanunu'nun yedinci maddesine dayanılarak hazırlanan yönetmelikte konuya ilişkin usul ve esaslar düzenlenmiştir (7).

2.6. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Koruyucular

Günümüzde kozmetik ürünlerde en çok kullanılan antimikrobiyal etkili koruyucu maddeler Tablo 2.4'de gösterilmiştir (18).

2.6.1. p-Hidroksibenzoik Asit

p-Hidroksibenzoik asit esterleri olan metil, etil, propil, bütül ve benzil parabenler kozmetiklerde en sık kullanılan koruyuculardır. Mantarlara karşı oldukça etkili olan parabenler bakterilere, özellikle parabenleri karbon kaynağı olarak kullanabilen *Pseudomonas*'lara karşı daha az etkilidirler. İlk olarak 1930'larda kozmetik ve yiyeceklerde koruyucu olarak kullanılmaya başlanmışlardır. Genellikle kombinasyon halinde kullanılırlar. Kozmetik Yönetmeliği'ne göre tek bir ester için % 0.4, ester karışımları için ise izin verilen maksimum konsantrasyon % 0.8'dir (7,35,36). Genel olarak toksik veya mutajenik etkilerinin olmadığı bilinen parabenlerin, son zamanlarda yapılan çalışmalar ile kontakt alerjiye neden olabildikleri ve östrojenik özelliklerinin de olduğu belirlenmiştir (37). Östrojenik aktivitelerinin bulunması, özellikle koltuk altına uygulanan ürünlerde, göğüs kanseri ile ilişkileri olabileceğini düşündürmüştür (38). Ayrıca yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile parabenlerin, spermatogenezi ve hormon salgılanmasını olumsuz yönde etkileyerek üreme sisteminin fonksiyonlarını bozduğu da gösterilmiştir (39,40).

Tablo 2-4: Kozmetik ürünlerde en sık kullanılan kozmetik koruyucular

p- Hidroksibenzoik asit esterleri (parabenler)

Metil paraben
Etil paraben
Propil paraben
Butil paraben

Formaldehit salanlar

İmidazolidinil üre
Diazolidinil üre
Dimetil dimetilol hidantoin (DMDM hidantoin)
Katerniyum 15

İzotiyazolinonlar

Klorometil izotiyazolinon / metil izotiyazolinon

Organik asitler (metalik tuzlarını da içerir)

Benzoik asit
Sorbik asit
Dehidroasetik asit

Organik alkoller

Etil alkol
Benzil alkol
Fenoksietil alkol

Diğerleri

Benzalkonyum klorür
Benzetonyum klorür
Klorhekzidin diglukonat
İyodopropenil butilkarbamat

2.6.2. Formaldehit Salanlar

Kozmetik ürünlerde zararlı etkilerinden dolayı serbest formaldehit kullanımı azaltılırken, yerine formaldehit salanlar kullanılmaya başlanmıştır. Kozmetik Yönetmeliği'ne göre aerosollerde kullanılmaması gereken serbest formaldehitin izin verilen maksimum konsantrasyonu ağız hijyeni ürünleri dışında % 0.2, ağız hijyeni ürünlerinde ise % 0.1'dir. Hücredeki proteinleri denatüre ederek etki gösteren imidazolidinil üre, diazolidinil üre, dimetil dimetilol hidantoin (DMDM hidantoin) ve

katerniyum 15 bakterilere karşı oldukça etkilidir. Ancak mantarlara karşı çok az etkili olmaları nedeniyle antifungal özelliği olan koruyucular ile kombinasyon halinde kullanılması gerekmektedir (1,7,41).

2.6.3. İzotiyazolinonlar

Proteinlerin tiyol gruplarını denatüre ederek aktif transport ve glikoz oksidasyonunu etkileyen izotiyazolinonlar (metilkloroizotiyazolinon ve metil izotiyazolinon) geniş spektrumlu biyositlerdir. Çok düşük konsantrasyonlarda bile birçok Gram negatif, Gram pozitif bakterilere ve mantara etkilidirler. Metilizotiyazolinon için Kozmetik Yönetmeliği'ne göre izin verilen maksimum konsantrasyon % 0.01'dir (4,7,41).

2.6.4. Organik Alkoller

Organik alkollerden, lipid ve proteinleri etkileyerek membran yapısını bozan benzil alkol, Gram pozitif bakterilere oldukça etkili, Gram negatif bakteriler ve mantarlara karşı zayıf etkili bir koruyucudur. Kozmetik Yönetmeliği'ne göre izin verilen maksimum konsantrasyon % 1'dir. Diğer koruyucularla kombinasyon halinde kullanılan ve *P. aeruginosa*'ya karşı oldukça etkili bir koruyucu olan fenoksietanol de membran yapısını bozarak etki gösterir (1,7,41).

2.6.5. Diğer Koruyucular

Bakterilere karşı oldukça etkili ancak küflere karşı zayıf etkili olan, benzalkonyum klorür ve benzetonyum klorürün Kozmetik Yönetmeliği'ne göre izin verilen maksimum konsantrasyonları % 0.1'dir. Ancak benzetonyum klorürün yalnızca durulanan ürünlerde kullanılmasına izin verilmiştir. Klorhekzidin için ise izin verilen maksimum konsantrasyon % 0.3'dür (1,7).

Kozmetik ürünlerin içerisindeki koruyucuların geniş spektrumlu olmaları beklenir. Ancak yalnız birkaç koruyucu bu özelliğe sahiptir (Tablo 2.5). Bu nedenle hem daha geniş spektrumlu olmaları ve hem de sinerjistik etki sağlamaları istendiğinde koruyucular genellikle kombinasyon halinde kullanılmaktadır. Örneğin imidazolidinil ürenin antibakteriyel özelliği bulunur ancak antifungal aktivitesi çok düşüktür. Bu nedenle, parabenlerle kombine edilerek iki koruyucunun geniş spektrumlu olmaları sağlanabilmektedir (18,42-44).

Tablo 2-5: Bazı koruyucuların antimikrobiyal aktiviteleri

Koruyucu	Bakteri		Maya	Küf
	Gram pozitif	Gram negatif		
Benzalkonyum klorür	++	(++)*	(++)	+
Benzoik asit ve tuzları	++	(++)	+	+
Benzil alkol	++	+	+	+
Klorheksidin	++	++*	(++)	+
Krezol	(++)	+	+	+
Etanol	++	++	(++)	(++)
Parabenler	(++)	+*	(++)	(++)
Fenol	(++)	+	+	+
Fenoksietanol	(++)	++	+	+
Sorbik asit	(++)	(++)	++	(++)
Tiomersal	++	(++)	(++)	+

++ aktif, (++) orta derece aktivite, + zayıf aktivite, **Pseudomonas* türlerine karşı zayıf aktivite

2.7. Koruyucular Dışında Kozmetik Ürünlere İlave Edilen Antimikrobiyal Etkili Maddeler

Kozmetik ürünlerde koruyuculara ek olarak mikroorganizmaların üremesini engelleyen antimikrobiyal etkili birçok madde bulunmaktadır. Bunlar alkoller, esansiyel bitki yağları ve ekstraları, kelat ajanları, fenolik antioksidanlar ve koku verici gibi maddelerdir (45). Ayrıca ürünlerin düşük miktarlarda su içermesi de ürünü koruduğundan doğal koruyucu olarak kabul edilebilir.

Bitki yağları ve ekstraları binlerce yıldır değişik amaçlar için kullanılmıştır. Alternatif tıp ve doğal terapi amaçlı olarak kullanılan bitkisel yağ ve ekstraları aynı zamanda gıda ve ilaç sanayiinde de koruyucu olarak kullanılmaktadır. *Thymus vulgaris* (kekik), *Calamintha officinalis* (yabani oğul otu), *Lonicera caprifolium* (hanımeli) ve *Melaleuca alternifolia* (hint defnesi) gibi bitkiler alternatif tıp, doğal terapi, gıda ve kozmetik sanayiinde koruyucu olarak kullanılan antimikrobiyal etkinliği bilinen bitkilerdendir (45,46).

Kelat ajanlarından etilendiamintetrasetik asit (EDTA), laktik asit, sitrik asit ve fitik asit mikroorganizmaların hücre membranlarının permeabilitesini arttırarak onları antimikrobiyal ajanlara karşı daha duyarlı hale getiren maddelerdir (45). EDTA tek başına antimikrobiyal ajan olarak kabul edilmezken koruyucularla (örneğin benzalkonyum klorür, parabenler vb.), antibiyotiklerle ve katyonik yüzey aktif

maddelerle birlikte (örneğin katerner amonyum bileşikleri ile) mikroorganizmalara karşı sinerjistik etki gösterebilmektedir. EDTA, Gram negatif bakterilerin dış membranındaki lipopolisakkarit yapısını bozarak hücre membranını daha duyarlı hale getirir (43,47).

Nostro ve ark. (48) *Calamintha officinalis*'in antimikrobiyal özelliklerini EDTA varlığında ve yokluğunda inceledikleri çalışmalarında *C. officinalis*'in EDTA ile kombinasyonu sonucunda iyi bir koruyucu olabileceğini saptamışlardır.

Ayrıca kaprilil glikol, yağ asitleri ve monoesterleri, fenetil alkol, etilheksilgliserin, propilen glikol, farnesol ve pentilen glikol gibi birçok kimyasal maddenin antimikrobiyal özelliği olduğu gösterilmiştir (45,10).

Bu tez çalışmasında incelenen kozmetik ürünlerde, en sık bulunan koruyucu ve koruyucu kapsamında olmayan ancak antimikrobiyal etkili olan maddeler Tablo 2.6'da gösterilmiştir.

Tablo 2-6: Çalışmamızda incelenen ürünlerde en sık bulunan koruyucu ve diğer antimikrobiyal maddeler

Koruyucu maddeler	Koruyucu kapsamında olmayan antimikrobiyal etkili maddeler
Parabenler	Bitki yağları ve ekstraktları
Klorometil izotiyazolinon/metil izotiyazolinon	EDTA
Fenoksietil alkol	Sitrik asit
DMDM hidantoin	Laktik asit
Sodyum benzoat	Propilen glikol
Diazolidinil üre	Gliserin
Benzil alkol	

2.8. Koruyucu Etkinlik Testleri

Koruyucu etkinlik testleri, farmasötik ürünlerin içerdiği koruyucuların etkinliğinin denetim ve güvenlik değerlendirilmelerinin yapılması amacıyla uygulanan testlerdir. Günümüzde bu testler CTFA, United States Pharmacopeia (USP), British Pharmacopeia, European Pharmacopeia ve American Society for Testing and Materials gibi kurumlar tarafından belirlenen farklı yöntemlere göre yapılmaktadır. Yöntemler deney mikroorganizmaları, kullanılan besiyerleri, örneklerin saklanma koşulları ve testin uygulanışı açısından farklılık göstermektedir (14).

Çalışmada USP metoduna göre yapılan koruyucu etkinlik testinde kullanılan mikroorganizmalar *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans* ve *A. niger*'dir. Bu mikroorganizmalardan *S. aureus* sık kullanılan kozmetik ürünlerde bulunabilmesi ve tüketiciler için tehlikeli bir patojen bakteri olması, *P. aeruginosa* birçok koruyucuya karşı dirençli olabilmesi, *E. coli* fekal kirlilik indikatörü olması, *C. albicans* hem patojen hem de koruyuculara karşı dirençli olabilmesi, *A. niger* ise küf mantarlarının ürünlerin bozulmasında önemli etken olabilmesi nedeniyle seçilmişlerdir (14).

Test sırasında antimikrobiyal ajanın test mikroorganizmalarına karşı etkinliğinin belirlenebilmesi için antimikrobiyal ajanları inaktive edebilecek en uygun nötralizanın seçilmesi son derece önemlidir. Antimikrobiyal ajanların uygun nötralizan ile inaktive edilmediğinde üreme ortamında etkisini devam ettirecek olması testin sonucunu etkileyecektir (49). Bu nedenle seçilerek kullanılan nötralizanın ürün içerisindeki tüm antimikrobiyal ajanları inaktive edebilmesi ve kullanılan tüm mikroorganizmalara karşı toksik etkisinin olmaması gerekmektedir (49,50). Bazı antimikrobiyal maddelere karşı kullanılan nötralize edici ajanlar Tablo 2.7'de gösterilmiştir (42).

Tablo 2-7: Bazı antimikrobiyal maddelere karşı kullanılan nötralize edici ajanlar

Antimikrobiyal ajan	Nötralize edici ajan
Benzoik asit ve p-hidroksibenzoik asit esterleri	Dilüsyon veya Tween 80
Bronopol	Sistin hidroklorid
Klorheksidin	Lubrol W ve yumurta lesitin veya Tween 80 ve lesitin
Formaldehit	Amonyum iyonları
Glutaraldehit	Glisin
Halojenler	Sodyum tiyosülfat
Hekzaklorofen	Tween 80
Cıva bileşikleri	Tiyoglikolik asit
Fenolik dezenfektanlar	Dilüsyon veya Tween 80
Katerner amonyum bileşikleri	Lubrol W ve lesitin veya Tween 80 ve lesitin
Sülfonamidler	p-aminobenzoik asit

2.9. İzole Edilen Mikroorganizmalar Hakkında Genel Bilgiler

2.9.1. *Staphylococcus aureus*

Micrococcaceae ailesi içinde yer alan Stafilocoklar, üzüm salkımı şeklinde, düzensiz kümeler oluşturan, hareketsiz, aerop ve fakültatif anaerop, oksidaz negatif, katalaz pozitif, sporsuz, Gram pozitif kok şeklinde bakterilerdir (51).

Stafilokok türlerinin doğada en çok bulunduğu yerler insan ve diğer sıcakkanlı hayvanların derileri, salgı bezleri, mukozaları ve çıkartılarıdır. Çoğu, bu şekilde insan ve hayvanlarda doğal olarak bulunabildiği gibi bir kısmı da patojen ve fırsatçı patojendir. Stafilocok türleri insan vücudunun çeşitli yerlerinde kolonize olurlar. *S. aureus* normal insanların % 10-40'ının, hastanelerde çalışanların ve yatan hastaların % 70'inin burun mukozasında kolonize olmuştur. Ayrıca aksilla, inguinal, perineal, yüz ve ayak parmakları derisinde bulunurlar. Epidemi oluşturabilen stafilocoklar, halk sağlığı açısından da büyük önem taşımaktadır (52,53).

S. aureus insanlardaki stafilocok infeksiyonlarında öncelikli yer alan potansiyel bir patojendir. İnsanlarda deri infeksiyonlarına, toksik şok sendromuna, solunum sistemi infeksiyonlarına, endokardite, tromboflebite, parotite, osteomyelit ve piyoartrite, metastatik stafilocok infeksiyonlarına ve besin zehirlenmesine neden olabilmektedir. Metisiline dirençli *S. aureus* suşlarının ve koagülaz negatif stafilocokların hastane infeksiyonlarında önemli payı bulunmaktadır (51,53). Stafilocokların rezervuarı insandır ve bu nedenle toplumda, kronik veya tekrarlayan taşıyıcılara yönelik koruma uygulanmaktadır. Korunmada esas, hijyen koşullarına uyulması ve deri temizliğine dikkat edilmesidir (51).

Yapılan çalışmalarda diş macunu, el ve vücut kremleri gibi çeşitli kozmetik ürünlerin *S. aureus* ile kontamine olabildikleri gösterilmiştir (17,54,55).

2.9.2. *Pseudomonas putida*

Pseudomonadaceae ailesinde bulunan, düz veya hafif eğri, hareketli, sporsuz, aerop, katalaz ve genellikle oksidaz pozitif Gram negatif çomak şekilli bir bakteridir. Kontamine ürünlerde *Pseudomonas* cinsindeki bakterilerden en sık izole edilen insan patojeni *P. aeruginosa*'dır (53,56). *P. putida* ise doğada, toprak ve sularda yaygın olarak bulunan ve canlıların üzerinde yaşayabilen genellikle düşük virülans özelliği olan bir bakteridir. Klinik örneklerde pek fazla izole edilememiş ancak birkaç immün sistemi baskılanmış hastadan ve yeni doğandan izole edildiği rapor edilmiştir (57).

Mikrobiyolojik kontrolleri yapılan çeşitli kozmetik ürünlerden özellikle banyo köpüklerinden izole edildiği bildirilmiştir (58,59).

2.9.3. *Burkholderia cepacia* ve *Burkholderia gladioli*

Pseudomonadaceae ailesinde bulunan *Burkholderia* cinsi bakterilerden *B. cepacia*, doğada sıklıkla bulunabilen su, toprak ve bitkiler başta olmak üzere çevrede yaşayabilen, hareketli, sporsuz, oksidaz pozitif, aerob, antimikrobiklere dirençli de olabilen Gram negatif çomak şeklinde bir bakteridir (60,61). İlaçları, dezenfektanları, antiseptik maddeleri, alet ve ekipmanları kontamine edebilen nazokomiyal fırsatçı bir patojendir. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda bakteriyemi, üriner sistem infeksiyonları, septik artrit, peritonit ve pnömoniye yol açabilmekte özellikle kistik fibrozisli hastalarda akciğer infeksiyonlarına neden olabilmektedir. Antibiyotiklere dirençli de olabilen *B. cepacia*'nın sebep olduğu infeksiyonların önlenmesi oldukça zordur (61,62).

Benzalkonyum klorür ve klorhekzidin gibi birçok antimikrobiyal maddeye karşı doğal olarak dirençli olan, birçok organik maddeyi karbon ve hidrojen kaynağı olarak kullanabilen *B. cepacia*'nın en çok kullanılan koruyuculardan parabenleri parçalayarak salgınlara neden olabildiği de tespit edilmiştir (62,63).

B. cepacia kaynaklı, krem ve gargara gibi birçok kozmetik ürünün kontamine olabildiği ve kullanıcılara zarar verebildiği yapılan çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (59,60,64,65).

Sularda, toprakta, bitki ve meyvelerin üzerinde bulunabilen *Burkholderia gladioli*, esasen bir bitki patojenidir. Ancak özellikle immün sistemi baskılanmış hastalar ve kistik fibrozisli hastalarda ciddi infeksiyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca *B. gladioli*'nin neden olduğu keratit ve korneal ülser vakaları da tespit edilmiştir (66-69).

2.9.4. *Stenotrophomonas maltophilia*

Önceleri *Pseudomonas malthophilia* ve *Xanthomonas maltophilia* olarak isimlendirilen ve Xanthomonadaceae ailesinde yer alan bakteri, 1993'ten beri *Stenotrophomonas maltophilia* olarak adlandırılmaktadır (70).

S. maltophilia, suda, toprakta, kanalizasyonda, sütte, donmuş balıkta, tavşan ve insan dışkılarında, hastanelerde dezenfektan çözeltilerinde bulunabilen aerob, katalaz pozitif, oksidaz negatif, polar kirpikli, hareketli, Gram negatif çomak şeklinde bir

bakteridir. En sık idrar yolları ve yara infeksiyonlarından izole edilen bu bakteri, solunum yolları, deri ve kandan da izole edilebilmektedir. *P. aeruginosa*'dan sonra klinik materyallerden ve hastane ortamlarından özellikle immün sistemi baskılanmış ve kistik fibrozisli hastalarda en sık izole edilen bakteridir. Ayrıca son zamanlarda *S. maltophilia* suşlarının endokardit etkeni olarak da tespit edilebildiği görülmüştür (53,56,71-73).

Birçok antibiyotiğe karşı intrinsek direnç gösteren ve esasen nazokomiyal bir patojen olan *S. maltophilia*'nın tedavisi oldukça zor ve pahalıdır (61). Kullanılmış şampuan ve vücut losyonları gibi kozmetik ürünlerin *S. maltophilia* içerebildikleri bildirilmiştir (24).

2.9.5. *Citrobacter freundii*

Citrobacter'ler, Enterobacteriaceae ailesi içinde yer alan eskiden biyokimyasal özellikleri bakımından *Escherichia*'lara veya *Salmonella*'lara dahil edilmiş, oksidaz negatif, katalaz pozitif, hareketli, Gram negatif çomaklardır. *C. freundii* toprakta, sulara, nadiren de normal dışkıda bulunabilmekte, diyareye ve barsak dışı infeksiyonlara neden olabilmektedir. Çok sık olmamakla birlikte özellikle üriner ve solunum yolundaki hastane infeksiyonlarıyla ilişkili olarak izole edilmiş, antibiyotiklere karşı dirençli de olabilen fırsatçı patojen bir bakteridir (53,74-76).

Mikrobiyolojik analizleri yapılan kozmetik ürünlerden talk pudralarının ve kullanılmış şampuanların *C. freundii* ile kontamine olabildikleri gösterilmiştir (24,77).

2.9.6. *Alcaligenes xylosoxyidans*

Alcaligenaceae ailesinde yer alan doğada, toprak ve sulara özellikle deniz sularında yaygın olarak bulunabilen, bazı omurgalıların bağırsaklarında saprofit olarak yaşayabilen, kapsülsüz, sporsuz hareketli Gram negatif kokobasil veya çomak şeklindeki bakterilerdir. Klinik materyallerden; kan, idrar, dışkı, pürülan kulak akıntısı, beyin omurilik sıvısı ve yaralardan izole edilebilen ve sepsis, menenjit, otit, göz ve lenf bezi infeksiyonlarına neden olabilen fırsatçı patojenlerdir (53,78).

2.9.7. *Candida krusei*

Saccharomycetaceae ailesi içinde yer alan ve normalde insan deri ve mukoza florasında bulunabilen *Candida* türleri, oval veya yuvarlağımsı, tomurcuklanan maya hücreleridir. Tüm kandidozlar arasında en sık görülen etken *C. albicans*'tır. Ancak

Özellikle son yıllarda *C. albicans* dışındaki Candida türleri de kandidoz etkeni olarak izole edilmiştir (79). Yüz kremleri, el ve vücut losyonları gibi kozmetik rnlerin Candida'lar ile kontamine olabildikleri tespit edilmiştir.

C. krusei, genellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda infeksiyonlara, hastane tedavilerinin uzamasına veya hastaların ölümüne neden olabilmektedir (80).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada ülkemizde üretilen ve tüketicinin kullanımına sunulmak üzere Haziran 2008-Mayıs 2009 tarihleri arasında piyasadan alınan çeşitli kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içerikleri ve bu ürünlerin formülasyonlarına mikrobiyal koruma amaçlı olarak ilave edilen koruyucu maddelerin mikroorganizmalara karşı etkinlikleri araştırılmıştır.

3.1. Çalışmada Kullanılan Kozmetik Ürünler

Çalışmada ülkemizde üretilen ve piyasada satılmakta olan yüz bakım ürünleri, el ve vücut bakım ürünleri, şampuanlar, bebek ürünleri, duş jelleri, sıvı sabunlar, tıraş öncesi ve sonrası ürünler, tüy dökücü ürünler ve ter önleyici ürünler olarak gruplandırılan toplam 50 adet kozmetik ürün piyasadan temin edilmiştir.

3.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri, Çözeltiler ve Tanı Kitleri

3.2.1. Besiyerleri

3.2.1.1. Tryptic Soy Agar (Difco)

Pancreatic digest of casein	15 g
Enzymatic digest of soybean meal	5 g
Sodium chloride	5 g
Agar	15 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.3

Toz halinde bulunan besiyerinden 40 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.2. Tryptic Soy Broth (Difco)

Pancreatic digest of casein	17 g
Enzymatic digest of soybean meal	3 g
Dextrose	2,5 g
Sodium chloride	5 g

Dipotassium phosphate	2,5 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.3

Toz halinde bulunan besiyerinden 30 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra erlenlere 90'ar ml olarak dağıtılmış ve içersine 0,9 ml Tween 80 ilave edilerek otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.3. Sabouraud Dextrose Agar (Difco)

Peptic digest of animal tissue	5 g
Pancreatic digest of casein	5 g
Dextrose	40 g
Agar	15 g
Damıtık su	1000 ml
pH	5.6

Toz halinde bulunan besiyerinden 65 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.4. Baird-Parker Agar (Difco)

Bacto tryptone	10 g
Bacto beef extract	5 g
Bacto yeast extract	1 g
Glycine	12 g
Sodium pyruvate	10 g
Lithium chloride	5 g
Bacto Agar	20 g
Damıtık su	950 ml
pH	7.0

Toz halinde bulunan besiyerinden 63 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 950 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra deney tüplerine

9,5'ar ml dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan deney tüpleri 45-50°C'ye soğutulduktan sonra her birine 0,1 ml 1/100 potasyum tellürit çözeltisi ve 0,5 ml Egg Yolk emülsiyonu ilave edilerek Petri kutularına dökülmüştür.

3.2.1.5. Mannitol Salt Agar (Oxoid)

'Lab-Lemco' powder	1 g
Peptone	10 g
Mannitol	10 g
Sodium chloride	75 g
Phenol red	0,025 g
Agar	15 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.5

Toz halinde bulunan besiyerinden 111 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.6. Cetrimide Agar (Difco)

Bacto peptone	20 g
Magnesium chloride	1,4 g
Potassium sulfate	10 g
Cetrimide cetyltrimethylammonium bromide	0,3 g
Bacto agar	13,6 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.2

Toz halinde bulunan besiyerinden 45,3 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra üzerine 10 ml Bacto glycerol ilave edilmiş ve iyice çözdürüldükten sonra otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.7. Fluid Lactose Medium (Difco)

Bacto beef extract	3 g
Bacto peptone	5 g
Bacto lactose	5 g
Damıtık su	1000 ml
pH	6.9

Toz halinde bulunan besiyerinden 13 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra erlenlere 90'ar ml olarak dağıtılmış ve içersine 0,9 ml Tween 80 ilave edilerek otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.8. Eozine Methylene Blue Agar (Difco)

Bacto peptone	10 g
Bacto lactose	5 g
Bacto sucrose	5 g
Dipotassium phosphate	2 g
Bacto agar	13,5 g
Bacto eosin Y	0,4 g
Bacto methylene blue	0,065 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.2

Toz halinde bulunan besiyerinden 36 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.9. Fluid Tetrathionate Medium (Difco)

Proteose peptone	5 g
Bacto bile salts	1 g
Sodium thiosulfate	30 g
Calcium carbonate	10 g
Damıtık su	100 ml
pH	8.4

Toz halinde bulunan besiyerinden 4,6 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 100 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra kaynayana kadar ısıtılan besiyeri 60°C'ye soğutularak içerisine, 2 mililitre hazırlanışı 3.2.2.2'de belirtilen iyot çözeltisinden ve 1 mililitre % 0.1'lik Brilliant Green çözeltisinden ilave edilmiştir. Deney tüplerine dağıtılan besiyeri hazırlandığı gün kullanılmıştır.

3.2.1.10. Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar (Difco)

Yeast extract	3 g
L-Lysine	5 g
Xylose	3,75 g
Lactose	7,5 g
Saccharose	7,5 g
Sodium desoxycholate	2,5 g
Ferric ammonium citrate	0,8 g
Sodium thiosulfate	6,8 g
Sodium chloride	5 g
Agar	15 g
Phenol red	0,08 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.4

Toz halinde bulunan besiyerinden 57 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra kaynamasına izin vermeden ısıtılarak steril edilmiştir.

3.2.1.11. Bismuth Sulfite Agar (Difco)

Bacto beef extract	5 g
Bacto peptone	10 g
Bacto dextrose	5 g
Disodium phosphate	4 g
Ferrous sulfate	0,3 g
Bismuth sulfite indicator	8 g
Bacto agar	20 g
Brilliant Green	0,025 g

Damıtık su	1000 ml
pH	7.7

Toz halinde bulunan besiyerinden 52 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra 1-2 dakika kaynatılarak steril edilmiştir.

3.2.1.12. Dey Engley (D/E) Neutralizing Agar (Difco)

Pancreatic digest of casein	5 g
Yeast extract	2,5 g
Dextrose	10 g
Sodium thioglycollate	1 g
Sodium thiosulfate	6 g
Sodium bisulfite	2,5 g
Polysorbate 80	5 g
Lecithin	7 g
Bromcresol purple	0,02 g
Agar	15 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.6

Toz halinde bulunan besiyerinden 54 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.13. Modified Letheen Broth (Difco)

Letheen broth	26,7 g
Tryptone	5 g
Proteose peptone no.3	10 g
Yeast extract	2 g
Sodium bisulfite	0,1 g
pH	7.2

Toz halinde bulunan besiyerinden 43,8 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.14. Modified Lethen Agar (Difco)

Letheen agar	32 g
Tryptone	5 g
Proteose peptone no.3	10 g
Yeast extract	2 g
Sodium chloride	5 g
Sodium bisulfite	0,1 g
Agar	5 g
pH	7.2

Toz halinde bulunan besiyerinden 59,1 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.1.15. MacConkey Agar (Difco)

Bacto peptone	17 g
Proteose peptone	3 g
Bacto lactose	10 g
Bacto bile salts no.3	1,5 g
Sodium chloride	5 g
Bacto agar	13,5 g
Bacto neutral red	0,03 g
Bacto crystal violet	0,001 g
pH	7.1

Toz halinde bulunan besiyerinden 50 g tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra balonlara dağıtılarak otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.2. Çözeltiler

3.2.2.1. pH 7 Fosfat Tamponu

KH ₂ PO ₄	4 g
K ₂ HPO ₄	13,6 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7

KH₂PO₄ ve K₂HPO₄ damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra erlenlere 90'ar ml olarak dağıtılmış ve içersine 0,9 ml Tween 80 ilave edilerek otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.2.2. İyot Çözeltisi

KI	5 g
I ₂	6 g
Damıtık su	20 ml

Havanda iyice ezilen I₂'nin üzerine KI ilave edilerek damıtık su ile çözdürülüp hacmi 20 ml'ye tamamlanmış ve ışıktan korunarak buzdolabında saklanmıştır.

3.2.2.3. Brilliant Green

Brilliant Green	0,1 g
Damıtık su	100 ml

Toz halindeki Brilliant Green tartılıp damıtık su ilave edilerek çözdürüldükten sonra hacmi 100 ml'ye tamamlanmış ve ışıktan korunarak buzdolabında saklanmıştır.

3.2.2.4. Tripton Sodyum Klorür

Sodium chloride	8,5 g
Tryptone	1 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7

Tüm malzemeler tek tek tartılmış, üzerine damıtık su ilave edilip ısıtılarak çözünmeleri sağlanmıştır. Oda ısısına kadar soğuduktan sonra pH ayarı yapılarak otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.2.5. Nötralizan

Lecithin	15 g
Polysorbate 80	150 ml
Sodium thiosulfate pentahydrate	25 g
L-Histidine	5 g
Proteose peptone	1 g
Sodium chloride	2,92 g
Na ₂ HPO ₄ .12 H ₂ O	18,16 g
KH ₂ PO ₄	3.6 g
Damıtık su	1000 ml
pH	7.0

Tüm malzemeler tek tek tartılmış, üzerlerine damıtık su ilave edilip ısıtılarak çözündükten sonra 1000 ml’ye tamamlanmıştır. Oda ısısına kadar soğuduktan sonra pH ayarı yapılarak otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edilmiştir.

3.2.2.6. 0.5 McFarland Bulanıklığı

H ₂ SO ₄ (0,18 M)	99,5 ml
BaCl ₂ (0,048 M)	0,5 ml

H₂SO₄ ve BaCl₂ hazırlanarak iyice karıştırılmış ve bulanık çözelti elde edilmiştir.

3.2.2.7. 2 McFarland Bulanıklığı

H ₂ SO ₄ (0,18 M)	98 ml
BaCl ₂ (0,048 M)	2 ml

H₂SO₄ ve BaCl₂ hazırlanarak iyice karıştırılmış ve bulanık çözelti elde edilmiştir.

3.2.3. Tanı Kitleri

Çalışmada fermentatif Gram negatif çomakları tanımlamada API 20 E (bioMérieux), nonfermentatif Gram negatif çomakları tanımlamada API 20 NE (bioMérieux) ve mayaları tanımlamada API 20 C AUX (bioMérieux) tanı kitleri kullanılmıştır.

3.3. Diğer Malzemeler

Çalışmada falkon tüpleri (BD, Greiner), tek kullanımlık dereceli pipetler (LP ITALIANA SPA), tek kanallı otomatik pipetler (Gilson, Eppendorf) ve bunlara ait 121°C'de 15 dk steril edilmiş plastik uçlar, spektrofotometre (Hitachi), otoklav (Hirayama), Pasteur fırını (Memmert, Heraeus), terazi (Sartorius), ısıtıcılı-ısıtıcısız karıştırıcı (IKA Labortechnik), distile su cihazı (Millipore), etüv (Heraeus), derin dondurucu (Hettich) ve kit saklama dolabı (+4°C, Sanyo) kullanılmıştır.

3.4. Kozmetik Ürünlerin Toplanması

Çalışmada yüz bakım ürünleri, el ve vücut bakım ürünleri, şampuanlar, sıvı sabunlar, duş jelleri, bebek ürünleri, tıraş öncesi ve sonrası ürünler, tüy dökücü ürünler ve ter önleyici ürünler grubunu temsilen, her grup için farklı firmalara ait 5'er adet ürün satın alınmış ve 1'den 5'e kadar numaralandırılarak kullanılmıştır.

3.5. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanması

Çalışmada piyasadan temin edilen kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik içerikleri USP ve FDA tarafından önerilen yöntemlere göre araştırılmıştır (12,81).

3.5.1. USP'ye Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanması

3.5.1.1. Toplam Aerob Bakteri Sayısının Saptanması

Kozmetik ürünlerin her birinden 10 g tartılarak hazırlanışı 3.2.2.1 kısmında belirtilen pH 7 fosfat tamponu bulunan erlenler içine konulmuştur. Örneklerin pH 7 fosfat tamponunda hazırlanan uygun seri dilüsyonlarından 1 ve 0,1'er ml alınarak ikişer Petri kutusuna konulmuş ve üzerlerine hazırlanışı 3.2.1.1'de belirtilen Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinden 15 ml ilave edilip karıştırılarak, besiyerleri katılaşmaya bırakılmıştır. 37°C'de 48 saat inkübasyonu takiben besiyerleri üzerinde oluşan koloniler sayılmış ve seyreltme faktörü dikkate alınarak örneklerin g/ml'sinde bulunan toplam aerob bakteri sayısı saptanmıştır. Üreme görülmeyen ürünler "gram veya mililitrede 10'dan az bakteri içermektedir" şeklinde belirtilmiştir.

3.5.1.2. *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* Varlığının Araştırılması

Kozmetik ürünlerin her birinden 10 g tartılarak hazırlanışı 3.2.1.2 kısmında belirtilen Tryptic Soy Broth (TSB) bulunan erlenlere konulmuş ve besiyerleri 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

***Staphylococcus aureus* Varlığının Araştırılması**

24 saat inkübe edilmiş TSB besiyerinden Petri kutularında bulunan ve hazırlanışı 3.2.1.4 ve 3.2.1.5 bölümlerinde belirtilen Baird-Parker Agar (BP) besiyeri ve Mannitol Salt Agar (MS) besiyeri yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılarak, Petri kutuları 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası Petri kutuları incelenmiş, BP agar besiyeri yüzeyinde oluşan 2-5 mm şeffaf zonlu parlak siyah koloniler ile MS agar besiyeri yüzeyinde oluşan sarı zonlu sarı koloniler şüpheli kabul edilerek tanı için gerekli testler uygulanmıştır.

***Pseudomonas aeruginosa* Varlığının Araştırılması**

24 saat inkübe edilmiş TSB besiyerinden Petri kutusunda bulunan ve hazırlanışı 3.2.1.6'da belirtilen Cetrimide Agar (CET) besiyeri yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılarak, Petri kutuları 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası Petri kutuları incelenmiş, CET agar besiyeri yüzeyinde oluşan yeşilimsi koloniler şüpheli kabul edilerek tanı için gerekli testler uygulanmıştır.

3.5.1.3. *Escherichia coli* ve *Salmonella* Türleri Varlığının Araştırılması

Kozmetik ürünlerin her birinden 10 g tartılarak hazırlanışı 3.2.1.7 kısmında belirtilen Fluid Lactose Medium bulunan erlenlere konulmuş ve besiyerleri 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

***Escherichia coli* Varlığının Araştırılması**

24 saat inkübe edilmiş Fluid Lactose Medium besiyerinden Petri kutularında bulunan ve hazırlanışı 3.2.1.15 kısmında belirtilen MacConkey agar besiyeri yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılarak, Petri kutuları 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası MacConkey agar yüzeyinde oluşan zonla çevrili tuğla kırmızısı renkli kolonilerden Petri kutularında bulunan ve hazırlanışı 3.2.1.8 kısmında belirtilen Eozine Methylene Blue Agar (EMB) besiyeri yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyeri yüzeyinde

oluşan metalik parlaklığa sahip koloniler şüpheli kabul edilmiş ve tanı için gerekli testler uygulanmıştır.

***Salmonella* Türleri Varlığının Araştırılması**

24 saat inkübe edilmiş Fluid Lactose Medium besiyerinden 1 ml alınarak içinde hazırlanışı 3.2.1.9 kısmında belirtilen 9 ml Fluid Tetrathionate Medium (TTB) bulunan tüplere pasaj yapılarak, 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası Petri kutularında bulunan ve hazırlanışları 3.2.1.10 ve 3.2.1.11 kısımlarında belirtilen Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar (XLD) besiyeri ve Bismuth Sulfite Agar (BIS) besiyeri yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılarak, Petri kutuları 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası XLD agar yüzeyinde oluşan kırmızı, siyah merkezli ya da merkezsiz koloniler ile BIS agar yüzeyinde oluşan siyah ya da yeşil koloniler şüpheli kabul edilmiş ve tanı için gerekli testler uygulanmıştır.

3.5.1.4. Toplam Mantar Sayısının Saptanması

Kozmetik ürünlerin her birinden 10 g tartılarak hazırlanışı 3.2.2.1 kısmında belirtilen pH 7 fosfat tamponu bulunan erlenler içine konulmuştur. Örneklerin pH 7 fosfat tamponunda hazırlanan uygun seri dilüsyonlarından 1 ve 0,1’er ml alınarak ikişer Petri kutusuna konulmuş ve üzerlerine hazırlanışı 3.2.1.3’de belirtilen Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerinden 15 ml ilave edilip karıştırılarak, besiyerleri katılaşmaya bırakılmıştır. 25°C’de 5-7 gün inkübasyonu takiben besiyerleri üzerinde oluşan koloniler sayılmış ve seyreltme faktörü dikkate alınarak örneklerin g/ml’inde bulunan toplam mantar sayısı saptanmıştır. Üreme görülmeyen ürünler “gram veya mililitrede_10’ dan az mantar içermektedir” şeklinde belirtilmiştir.

3.5.2. FDA’ya Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanması

3.5.2.1. Kozmetik Ürünlerin Hazırlanması

Çalışmada likit özellikteki kozmetik ürünlerin herbirinden 5 g tartılarak hazırlanışı 3.2.1.13 kısmında belirtilen 45 ml Modified Lethen Broth (MLB) besiyeri bulunan erlenler içine konulmuştur. Krem özellikte olan ürünlerden ise 5 g tartılarak önce steril 5 ml Tween 80 içerisinde iyice dağıtılmış, daha sonra üzerine 40 ml MLB besiyeri ilave edilmiştir.

3.5.2.2. Toplam Aerob Bakteri Sayısının Saptanması

Kozmetik ürünlerin 3.5.2.1'de belirtilen şekilde hazırlanan 1/10'luk dilüsyonlarından 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} ve 1×10^{-6} 'lık seri dilüsyonları yine steril MLB besiyeri ile yapılmıştır. Örneklerin hazırlanan seri dilüsyonlarından 0,1'er ml alınarak Petri kutularında bulunan ve hazırlanışı 3.2.1.14'de belirtilen Modified Lethen Agar (ML) besiyeri ve BP agar besiyeri yüzeyine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. ML agar besiyeri içeren Petri kutuları 30°C'de 48 saat, BP agar besiyeri içeren Petri kutuları ise 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerleri üzerinde oluşan koloniler sayılmış seyreltme faktörleri dikkate alınarak toplam aerob bakteri sayısı belirlenmiştir. BP agar besiyeri yüzeyinde oluşan tümsek, parlak, zonsuz ya da siyah zonla çevrili koloniler şüpheli kabul edilmiş ve *S. aureus* açısından değerlendirilmiştir. MLB dilüsyon tüpleri zenginleştirme için 30°C'de 7 gün inkübe edilmiş ve her gün kontrol edilmiştir. İnkübasyon sonrası her dilüsyondan, Gram pozitif kok şeklindeki bakterilerin varlığı için Petri kutularındaki ML agar ve BP agar besiyerlerine, Gram negatif çomak şeklindeki bakterilerin varlığı için ise ML agar, MacConkey agar, CET agar, XLD agar ve BIS agar besiyerlerinin yüzeyine pasaj yapılarak, ML agar besiyeri içeren Petri kutuları 30°C'de 48 saat, MacConkey agar, CET agar, XLD agar ve BIS agar besiyeri içeren Petri kutuları 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

3.5.2.3. Toplam Mantar Sayısının Saptanması

Kozmetik ürünlerin 3.5.2.1'de belirtilen şekilde hazırlanan 1/10'luk dilüsyonlarından 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} ve 1×10^{-6} 'lık seri dilüsyonları yine steril MLB besiyeri ile yapılmıştır. Örneklerin hazırlanan seri dilüsyonlarından 0,1'er ml alınarak Petri kutularında bulunan SDA besiyeri yüzeyine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. SDA besiyeri içeren Petri kutuları 25°C'de 5-7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyeri üzerinde oluşan koloniler sayılmış seyreltme faktörleri dikkate alınarak toplam mantar sayısı belirlenmiştir. Zenginleştirme amacı ile 30°C'de 7 gün inkübe edilen MLB dilüsyon tüpleri üremeleri açısından her gün kontrol edilmiş ve inkübasyon sonrası her dilüsyondan, SDA besiyerine azaltma yöntemi ile ekim yapılarak 25°C'de 5-7 gün bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası besiyerleri üzerinde oluşan kolonilere tanı için gerekli testler yapılmıştır.

3.6. İzole Edilen Mikroorganizmaların Tanımı

Her iki yöntemde kozmetik ürünlerden ekim yapılan seçtirici besiyerlerinde üreyen şüpheli kolonilerden, preparat hazırlanarak Gram boyama yöntemi ile boyanmış ve mikroskopta incelenmiştir. Üreyen kolonilerden tanıda kullanılmak üzere TSA besiyerine saf kültürler alınmıştır.

3.6.1. Gram Pozitif Kok Şeklindeki Bakterilerin Tanımı

Gram pozitif kok olduğu belirlenen bakteriler katalaz, oksidaz, koagülaz ve stafilaz enzim varlığı bakımından incelenerek tanımlanmıştır.

3.6.1.1. Katalaz Testi

Bakterilerin TSA besiyerinde hazırlanan 24 saatlik kültürlerinden birer öze dolusu alınarak temiz bir lama yayılmış, üzerine taze hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksit çözeltisinden birkaç damla damlatılmış ve köpürme şeklinde görülen oksijen çıkışı pozitif olarak değerlendirilmiştir (82).

3.6.1.2. Oksidaz Testi

Bakterilerin TSA besiyerinde hazırlanan 24 saatlik kültürlerinden birer öze dolusu alınarak % 1'lik N,N-dimetil-p-fenilen diamin çözeltisi emdirilmiş temiz bir filtre kağıdına sürülmüş, birkaç dakika içerisinde oluşan pembe-mor renk pozitif olarak değerlendirilmiştir (82).

3.6.1.3. Koagülaz Testi

Bakterilerin sıvı besiyerinde hazırlanan 24 saatlik buyyon kültürleri ile sitratlı tavşan plazması kullanılarak yapılan testte bir tüpe 0,5 ml 1/10 oranında sulandırılan plazma konarak üzerine 0,5 ml bakterilerin buyyon kültüründen ilave edilmiştir. Daha sonra tüpler 37°C'de inkübe edilmiş, her 30 dakikada pıhtılaşma oluşup oluşmadığı kontrol edilerek işleme 4 saat boyunca devam edilmiştir. Belirgin bir pıhtılaşma koagülaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (82).

3.6.1.4. Stafilaz Testi

Bakterilerin TSA besiyerinde hazırlanan 24 saatlik taze kültürleri bir öze yardımına alınarak temiz bir lamın üzerine sürülmüştür. Lam üzerine sürülen bu bakteri süspansiyonlarından birinin üzerine fibrinojenle hassaslaştırılmış eritrosit süspansiyonu, kontrol için kullanılacak diğer bakteri süspansiyonu üzerine de

fibrinojenle hassalaştırılmamış eritrosit süspansiyonundan damlatılarak karıştırılmıştır. Birkaç dakika sonra fibrinojenle hassaslaştırılmış olan eritrosit süspansiyonunda meydana gelen çökme pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.6.2. Gram Negatif Çomak Şeklindeki Bakterilerin Tanımı

Gram negatif çomak olduğu belirlenen bakteriler oksidaz enzim varlığı açısından incelenmiş, oksidaz pozitif olan bakteriler API 20 NE, oksidaz negatif olan bakteriler ise API 20 E bakteri identifikasyon test kitleriyle tanımlanmışlardır.

3.6.2.1. Oksidaz Testi

Bakterilerin TSA besiyerinde hazırlanan 24 saatlik kültürlerinden birer öze dolusu alınarak % 1'lik N,N-dimetil-p-fenilen diamin çözeltisi emdirilmiş temiz bir filtre kağıdına sürülmüş, birkaç dakika içerisinde oluşan pembe-mor renk pozitif olarak değerlendirilmiştir (82).

3.6.2.2. API 20 E

Oksidaz testi sonucu negatif olan bakterilerin TSA besiyerinde 24 saatlik kültürleri hazırlanmış, hazırlanışı 3.2.2.6'da belirtilen 0.5 McFarland bulanıklığı kullanılarak, steril fizyolojik tuzlu su yardımı ile 1×10^8 kob/ml olacak şekilde süspansiyonları elde edilmiştir. Hazırlanan bakteri süspansiyonlarından API 20 E kitinin tüm kuyucuklarına uygun şekilde doldurularak ekim yapılmıştır. Ekim yapılan kitler 37°C 'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve deney sonuçları özel tablolar yardımı ile değerlendirilmiştir.

3.6.2.3. API 20 NE

Oksidaz testi sonucu pozitif olan bakterilerin TSA besiyerinde 24 saatlik kültürleri hazırlanmış, hazırlanışı 3.2.2.6'da belirtilen 0.5 McFarland bulanıklığı kullanılarak, steril fizyolojik tuzlu su yardımı ile 1×10^8 kob/ml olacak şekilde süspansiyonları elde edilmiştir. Hazırlanan bakteri süspansiyonlarından API 20 NE kitinin belirtilen kısmına kadar doldurularak ekim yapılmıştır. Daha sonra bu bakteri süspansiyonundan 200µl alınarak özel bir besiyeri olan API AUX medyuma eklenmiş ve test kitinin kalan kuyucukları da doldurularak ekim yapılmıştır. Ekim yapılan kitler 29°C 'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve deney sonuçları özel tablolar yardımı ile değerlendirilmiştir.

3.6.3. Maya Şeklinde Mantarların Tanımı

3.6.3.1. API 20 C AUX

SDA besiyerinde 24-48 saatlik maya kültürleri hazırlanmış, hazırlanışı 3.2.2.7’de belirtilen 2 McFarland bulanıklığı kullanılarak, steril fizyolojik tuzlu su yardımı ile maya süspansiyonları elde edilmiştir. Hazırlanan maya süspansiyonları özel besiyeri olan API C Medium ile karıştırıldıktan sonra API 20 C AUX kitinin tüm kuyucuklarına uygun şekilde doldurularak ekim yapılmıştır. Ekim yapılan kitler, 29°C’de 48-72 saat inkübe edilmiş ve deney sonuçları özel tablolar yardımı ile değerlendirilmiştir.

3.7. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin Etkinliklerinin Saptanması

Çalışmada piyasadan temin edilen kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkiye sahip koruyucu maddelerin mikroorganizmalara karşı etkinlikleri, USP tarafından önerilen antimikrobiyal etkinlik testi ile araştırılmıştır. Çalışmada bu amaçla *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* ATCC 10231 ve *Aspergillus niger* ATCC 16404 suşlarının süspansiyonları hazırlanarak kullanılmıştır (83).

3.7.1. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması

3.7.1.1. Bakteri Süspansiyonlarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak bakteri suşlarının -80°C’de saklanan stok kültürlerinden Petri kutularındaki TSA besiyerine azaltma yöntemi ile ekimleri yapılmıştır. 37°C’de bir gece inkübasyonu takiben oluşan benzer kolonilerden, içinde hazırlanışı 3.2.2.4’de bildirilen 4 ml tripton sodyum klorür bulunan tüplere ekim yapılarak spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.150-0.200 absorpsiyon veren 1×10^8 kob/ml’lik bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır.

3.7.1.2. *Candida albicans* Süspansiyonunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak *C. albicans*’ın -80°C’de saklanan stok kültüründen Petri kutusundaki SDA besiyerine azaltma yöntemi ile ekimi yapılmıştır. 37°C’de bir gece inkübasyon sonrası oluşan benzer kolonilerden, içinde hazırlanışı 3.2.2.4’de bildirilen 4 ml tripton sodyum klorür bulunan tüplere ekim yapılarak, *C. albicans*’ın

spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.370 absorpsiyon veren, 1×10^7 kob/ml'lik süspansiyonları elde edilmiştir.

3.7.1.3. *Aspergillus niger* Süspansiyonunun Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak *A. niger* suşu Petri kutusundaki SDA besiyeri yüzeyine azaltma yöntemi ile ekilmiş, 25°C'lik etüvde 5-7 gün inkübasyon sonrası steril eküvyon ve pipet yardımıyla toplanarak stok kültürü elde edilmiştir. Deneylede stok süspansiyondan 1×10^8 kob/ml'lik süspansiyonlar hazırlanarak kullanılmıştır.

3.7.2. Çalışmada Kullanılan Nötralizanın Belirlenmesi

Çalışmada, kullanılan nötralizanın uygunluğu nötralizan validasyon çalışmaları ile araştırılmıştır (84). Uygun nötralizan, validasyon çalışmaları kapsamında nötralizan toksisite ve nötralizan etkinlik testleri ile belirlenmiştir. Deney sırasında kozmetik ürünlerin içerdiği tüm antimikrobiyal etkili koruyucu maddeleri inaktive edebilen, deney mikroorganizmalarına karşı toksik etki göstermeyen nötralizan uygun nötralizan olarak kabul edilmiştir.

3.7.2.1. Nötralizan Validasyon Çalışmaları

Nötralizan validasyon deneylerinde, incelenen kozmetik ürünlerin koruyucu içeriğini kapsayacak şekilde birkaç farklı koruyucu madde grubunu ve koruyucu olmayan ancak antimikrobiyal etkili madde grubunu içeren bir kozmetik ürün örnek olarak seçilmiştir. Deneylede, mikroorganizmaların hazırlanışları 3.7.1.1, 3.7.1.2 ve 3.7.1.3'de bildirilen 1×10^8 ve 1×10^7 kob/ml'lik süspansiyonlarından uygun sıvı besiyerlerinde seyreltmeleri yapılarak 1×10^4 kob/ml'lik süspansiyonları hazırlanıp kullanılmıştır.

Nötralizan toksisite ve nötralizan etkinlik deneyleri, bu deneylerde test, pepton ve canlılık kontrol olarak 3 farklı deney grubu hazırlanmıştır.

Test deney grubu, 1 ml ürün üzerine 9 ml denenecek nötralizan ilave edilerek 10 dakika bekletilmiş, süre sonunda hazırlanan 1×10^4 kob/ml'lik mikroorganizma süspansiyonundan 1 ml ilave edilerek 10 dakika beklenmiştir. Buradan 1'er ml alınarak TSA ve hazırlanışı 3.2.1.12'de belirtilen Dey-Engley Neutralizing Agar (D/E), *A. niger* için ise SDA ve D/E agar besiyerleri yüzeyine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. TSA ve D/E agar Petri kutuları 37°C'lik etüvde üç gün, SDA Petri kutuları ise 25°C'lik

etüvde beş gün bekletilerek her gün oluşan koloniler sayılmış ve mikroorganizma sayıları kaydedilmiştir.

Pepton deney grubu, 1 ml % 0.1'lik steril pepton solüsyonuna 9 ml nötralizan ilave edilerek 10 dakika bekletilmiş ve süre sonunda hazırlanan 1×10^4 kob/ml'lik mikroorganizma süspansiyonundan 1 ml ilave edilerek 10 dakika bekletilmiştir. Buradan 1'er ml alınarak TSA ve hazırlanışı 3.2.1.12'de belirtilen Dey-Engley Neutralizing Agar (D/E), *A. niger* için ise SDA ve D/E agar besiyerleri yüzeyine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. TSA ve D/E agar Petri kutuları 37°C'lik etüvde üç gün, SDA Petri kutuları ise 25°C'lik etüvde beş gün bekletilerek her gün oluşan koloniler sayılmış ve mikroorganizma sayıları kaydedilmiştir.

Canlılık kontrol deney grubu, 10 ml steril tuzlu su üzerine hazırlanan 1×10^4 kob/ml'lik mikroorganizma süspansiyonundan 1 ml ilave edilerek 10 dakika bekletilmiş ve buradan 1'er ml alınarak TSA ve hazırlanışı 3.2.1.12'de belirtilen Dey-Engley Neutralizing Agar (D/E), *A. niger* için ise SDA ve D/E agar besiyerleri yüzeyine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. TSA ve D/E agar Petri kutuları 37°C'lik etüvde üç gün, SDA Petri kutuları ise 25°C'lik etüvde beş gün bekletilerek her gün oluşan koloniler sayılmış ve mikroorganizma sayıları kaydedilmiştir.

Nötralizan toksisite testinde, pepton deney grubuna ait mikroorganizma sayısı canlılık deney grubunda belirlenen mikroorganizma sayısına bölüldüğünde, değerin 0,70'den büyük olması nötralizanın toksik olmadığı şeklinde değerlendirilmiştir (84).

Nötralizan etkinlik testinde, test deney grubuna ait mikroorganizma sayısının pepton deney grubunda belirlenen mikroorganizma sayısına bölüldüğünde, değerin 0,70'den büyük olması nötralizanın etkili olduğu şeklinde değerlendirilmiştir (84).

3.7.3. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobik Etkili Koruyucu Maddelerin Etkinlik Testi

Çalışmada incelenen kozmetik ürünlerin içerdiği koruyucu maddelerin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla her bir kozmetik üründen denenecek her bir mikroorganizma için 50'şer gram örnek aseptik şartlarda tartılarak ayrı steril numune kaplarına konulmuştur. Ürün içeren kapların her birine ürünün % 0.5 -% 1.0 olacak şekilde hazırlanışı 3.7.1.1, 3.7.1.2 ve 3.7.1.3'de belirtilen mikroorganizma süspansiyonlarından ilave edilmiştir. Ürünlerin mikroorganizmalar ile iyice karışması sağlandıktan sonra, mikroorganizmaların ilave edildiği an ve bunu takip eden 14. ve 28. günlerde mikroorganizma sayıları saptanmıştır. Kozmetik ürünler bir sonraki numune

alma gününe kadar 25°C'lik etüvde bekletilmişlerdir. Mikroorganizma sayımları için öncelikle ürünün içindeki koruyucunun etkinliğini ortadan kaldırmak amacıyla 2 ml örnek alınarak hazırlanışı 3.2.2.5'de bildirilen 18 ml nötralizan içeren tüplere aktarılmıştır. Koruyucu etkisi nötralize edilen bu örneklerden uygun seyreltmeler yapılmış ve her seyreltmeden 25 µl- 50 µl- 100 µl ve 500 µl alınarak *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* için D/E agar besiyeri, *A. niger* için SDA besiyeri yüzeyine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petri kutuları bakteri ve *C. albicans* sayımları için 37°C'de 24-48 saat, *A. niger* için 25°C'de beş gün bekletilmiştir. İnkübasyonu takiben besiyerleri yüzeyinde oluşan koloniler sayılmış ve seyreltme faktörü dikkate alınarak örneklerdeki mikroorganizma sayıları saptanmıştır.

Değerlendirmede bakteriler için, 14. günde bakteri sayılarının başlangıç sayısına göre en az iki log azalmış olması, 28. günde belirlenen bakteri sayısının 14. günde belirlenmiş olan bakteri sayısına göre artış göstermemesi; mantarlar için ise 14. ve 28. günlerdeki sayılarda başlangıç sayısına göre artış olmaması kriter olarak kabul edilmiştir (83).

4. BULGULAR

Çalışmada ülkemizde üretilen ve piyasada satılmakta olan yüz bakım ürünleri, el ve vücut bakım ürünleri, şampuanlar, bebek ürünleri, duş jelleri, sıvı sabunlar, tıraş öncesi ve sonrası ürünler, tüy dökücü ürünler ve ter önleyici ürünler olarak gruplandırılan toplam 50 adet kozmetik ürün piyasadan temin edilmiştir. Ürünlerin mikrobiyolojik içerikleri ve içerdikleri koruyucu maddelerin mikroorganizmalara karşı etkinlikleri incelenmiştir.

4.1. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

4.1.1. USP'ye Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

4.1.1.1. Toplam Aerop Bakteri Sayısının Saptanmasına Ait Bulgular

Çalışmada mikrobiyolojik içerikleri açısından incelenen 50 kozmetik ürün içinde yer alan, yüz bakımı ürün grubundaki beş üründen birinin, el ve vücut bakımı grubundaki beş üründen ikisinin toplam aerop bakteri sayılarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Belirlenen toplam aerop bakteri sayılarına ait sonuçlar Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

4.1.1.2. *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* Varlığının Araştırılmasına Ait Bulgular

S. aureus varlığının araştırılması amacıyla incelenen 50 kozmetik ürün içinde yer alan el ve vücut bakım ürünleri, yüz bakım ürünleri ve tüy dökücü ürünler grubundaki örneklerin birer tanesinin, tıraş öncesi ürün grubu içinde yer alan örneklerin ikisinin *S. aureus* içerdiği saptanmıştır.

P. aeruginosa varlığının araştırılması amacıyla incelenen 50 kozmetik ürün içerisinde yer alan hiçbir ürünün *P. aeruginosa* içermediği tespit edilmiştir.

4.1.1.3. *Escherichia coli* ve *Salmonella* Türlerinin Varlığının Araştırılmasına Ait Bulgular

E. coli ve *Salmonella* türlerinin varlığının araştırılması amacıyla incelenen 50 kozmetik ürün içerisinde yer alan hiçbir ürünün *E. coli* ve *Salmonella* türlerini içermediği belirlenmiştir.

Tablo 4-1: Kozmetik ürünlerin içerdiği toplam aerop bakteri sayılarına ait sonuçlar

Kozmetik Ürün Grubu	Örnek No	Toplam Aerop Bakteri Sayısı (kob/g)	Toplam Aerop Bakteri Sayısı (kob/g)
		USP	FDA
Yüz Bakım Ürünleri	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$2,53 \times 10^4$	$3,2 \times 10^6$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El ve Vücut Bakım Ürünleri	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$7,88 \times 10^4$	$1,25 \times 10^6$
	4	$1,4 \times 10^5$	$2,2 \times 10^6$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuanlar	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanları	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jelleri	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabunlar	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi Ürünler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası Ürünler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü Ürünler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyiciler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

4.1.1.4. Toplam Mantar Sayısının Saptanmasına Ait Bulgular

İncelenen 50 kozmetik ürün içerisinde yer alan el ve vücut bakım ürünleri grubundaki bir ürünün toplam mantar sayısının yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sayımlara ait sonuçlar Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

4.1.2. FDA’ya Göre Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

4.1.2.1. Toplam Aerop Bakteri Sayısının Saptanmasına Ait Bulgular

Mikrobiyolojik içerikleri açısından incelenen 50 kozmetik ürün içinde yer alan yüz bakım ürün grubundaki bir ürünün, el ve vücut bakım grubundaki iki ürünün toplam bakteri sayımlarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Belirlenen toplam aerop bakteri sayılarına ait sonuçlar Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

4.1.2.2. Toplam Mantar Sayısının Belirlenmesine Ait Bulgular

İncelenen 50 kozmetik ürün içinde yer alan el ve vücut bakım ürün grubundaki örneklerin birinde toplam mantar sayısının yüksek olduğu belirlenmiş, buna ait sonuçlar Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

4.1.3. İzole Edilen Mikroorganizmaların Tanımına Ait Bulgular

Çalışılan kozmetik ürünlerden izole edilen mikroorganizmaların tanımı morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre yapılmıştır.

4.1.3.1. Gram Pozitif Kok Şeklindeki Bakterilerin Tanımına Ait Bulgular

Mikrobiyolojik içerikleri açısından her iki yöntemle göre incelenen 50 adet kozmetik üründen izole edilen ve Gram pozitif boyanma özelliği gösteren kok şeklindeki bakteriler katalaz, oksidaz, koagülaz ve stafilaz enzimi varlığı açısından incelenmiştir.

Dört farklı ürün grubuna ait örneklerden izole edilerek tanımı yapılan Gram pozitif kok şeklindeki bakteriler ve izole edildikleri ürün gruplarına ait sonuçlar Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: Kozmetik ürünlerin içerdiği toplam mantar sayılarına ait sonuçlar

Kozmetik Ürün Grubu	Örnek No	Toplam Mantar Sayısı (kob/g)	Toplam Mantar Sayısı (kob/g)
		USP	FDA
Yüz Bakım Ürünleri	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El ve Vücut Bakım Ürünleri	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$5,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$
Şampuanlar	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanları	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jelleri	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabunlar	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi Ürünler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası Ürünler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü Ürünler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyiciler	1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

4.1.3.2. Gram Negatif Çomak Şeklindeki Bakterilerin Tanımına Ait Bulgular

Mikrobiyolojik içerikleri açısından her iki yönteme göre incelenen 50 adet kozmetik üründen izole edilen ve Gram negatif boyanma özelliği gösteren çomak şeklindeki bakterilerin tanımlanmaları uygulanan oksidaz testi sonrası, API 20 E ve API 20 NE tanı test kitleri ile yapılmıştır.

İki farklı ürün grubuna ait örneklerden izole edilerek tanımı yapılan Gram negatif çomak şeklindeki bakteriler ve izole edildikleri ürün gruplarına ait sonuçlar Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

4.1.3.3. Maya Şeklindeki Mantarların Tanımına Ait Bulgular

İncelenen kozmetik ürünlerden SDA üzerinde üreyen kolonilerden Gram boyama yapılarak mikroskopta incelenmiş, morfolojik olarak maya olduğu belirlenen mantarların tür tayini API 20 C AUX tanı test kiti ile yapılmıştır. Tanımı yapılan mantar türü ve ürün grubuna ait sonuçlar Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4-3: Kozmetik ürünlerden izole edilen mikroorganizmalar ve izole edildikleri ürün grupları

Kozmetik Ürün Grubu	Örnek No	İzole Edilen Mikroorganizmalar
Tıraş Öncesi Ürünler	2	<i>Staphylococcus aureus</i>
	3	<i>Staphylococcus aureus</i>
El ve Vücut Bakım Ürünleri	1	<i>Staphylococcus aureus</i>
	3	<i>Alcaligenes xylosoxyidans</i> , <i>Burkholderia cepacia</i>
	4	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Pseudomonas putida</i>
	5	<i>Candida krusei</i>
Yüz Bakım Ürünleri	1	<i>Staphylococcus aureus</i>
	3	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Burkholderia gladioli</i>
Tüy Dökücü Ürünler	2	<i>Staphylococcus aureus</i>

4.2. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

Çalışmada, piyasadan temin edilen kozmetik ürünlerin içerdiği koruyucu maddelerin *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 9027,

C. albicans ATCC 10231 ve *A. niger* ATCC 16404 suşlarına karşı etkinlikleri antimikrobiyal etkinlik testi ile belirlenmiştir.

4.2.1. Çalışmada Kullanılan Nötralizanın Belirlenmesine Ait Bulgular

4.2.1.1. Nötralizan Validasyon Çalışmalarına Ait Bulgular

Çalışmada kullanılacak uygun nötralizan, nötralizan toksisite ve nötralizan etkinlik testleri ile belirlenmiştir.

Nötralizan toksisite testi sonucu, pepton deney grubunda belirlenen mikroorganizma sayısının canlılık deney grubunda belirlenen mikroorganizma sayısına bölümünün 0,70'den büyük olduğu belirlenmiştir. Elde edilen değer 0,70'den büyük olması nötralizanın, koruyucu etkinlik testinde kullanılan mikroorganizmalara karşı toksik olmadığını göstermektedir.

Nötralizan etkinlik testi sonucu, test deney grubunda belirlenen mikroorganizma sayısının pepton deney grubunda belirlenen mikroorganizma sayısına bölümünün 0,70'den büyük olduğu saptanmıştır. Bu değer 0,70'den büyük olması nötralizanın koruyucu etkinlik testinde kullanılan mikroorganizmalara karşı etkili olduğunu göstermiştir. Nötralizan validasyon deneylerine ait sonuçlar Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4-4: Nötralizan toksisite ve etkinlik test sonuçları

Mikroorganizma	Nötralizan Toksisite Testi	Nötralizan Etkinlik Testi
<i>P. aeruginosa</i>	1,07	1,33
<i>E. coli</i>	1,02	1,01
<i>S. aureus</i>	1,48	1,08
<i>C. albicans</i>	1,06	0,84
<i>A. niger</i>	0,95	0,81

4.2.2. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin Mikroorganizmalara Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular

4.2.2.1. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin *Pseudomonas aeruginosa*'ya Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Kozmetik ürünlerin içerdiği koruyucu maddelerin, *P. aeruginosa*'ya karşı etkinliğinde tıraş öncesi, tıraş sonrası ve ter önleyici grupta yer alan üç ürünün, tüy dökücü grupta yer alan dört ürünün başlangıç sayılarının $<1 \times 10^1$ olduğu belirlenmiştir.

El ve vücut bakımı grubunda bulunan üç ürün, yüz bakımı grubunda yer alan bir ürün, toplam aerop bakteri ve mantar sayıları yüksek olan ürünler olduğundan bu ürünlerin başlangıç sayımlarında *P. aeruginosa* ürerken, 14. ve 28. gün sayım Petrilerinde ürünün kendi kirliliğini oluşturan mikroorganizmalar üremiştir. Diğer kozmetik ürünlerin 14. gündeki sayımlarının başlangıç sayımlarına göre en az 2 log azaldığı, 28. gün sayımlarında 14. gün sayımlarına göre artış olmadığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre incelenen 50 kozmetik ürünün içerdiği koruyucu maddelerin *P. aeruginosa*'ya karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Kozmetik ürünlerdeki koruyucu maddelerin *P. aeruginosa*'ya karşı etkinlik değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

4.2.2.2. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin *Escherichia coli*'ye Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Kozmetik ürünlerin içerdiği koruyucu maddelerin *E. coli*'ye karşı etkinliğinde, tıraş öncesi ve ter önleyici grupta yer alan üç ürünün, tıraş sonrası ve tüy dökücü grupta yer alan iki ürünün başlangıç sayılarının $<1 \times 10^1$ olduğu belirlenmiştir. El ve vücut bakımı grubunda bulunan üç ürün, yüz bakımı grubunda yer alan bir ürün, toplam aerop bakteri ve mantar sayımları yüksek olan ürünler olduğundan bu ürünlerin başlangıç sayımlarında *E. coli* ürerken, 14. ve 28. gün sayım Petrilerinde ürünün kendi kirliliğini oluşturan mikroorganizmalar üremiştir. El ve vücut bakım grubunda yer alan bir ürünün 14. gündeki bakteri sayımının başlangıç sayımına göre azalmadığı ve aynı kaldığı ancak 28. gündeki bakteri sayımının 14. günde belirlenen bakteri sayımına göre artış göstermediği belirlenmiştir. Diğer kozmetik ürünlerin 14. gündeki sayımlarının başlangıç sayımlarına göre en az 2 log azaldığı, 28. gün sayımlarında ise 14. gün sayımlarına göre artış olmadığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre incelenen 50 kozmetik ürünün içerdiği koruyucu maddelerin *E. coli*'ye karşı etkinliğinde bir ürünün koruyucusunun etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Kozmetik ürünlerdeki koruyucu maddelerin *E. coli*'ye karşı etkinlik değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.6'da gösterilmiştir

Tablo 4-5: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin *P. aeruginosa*'ya karşı etkinlik değerleri

Ürün Adı	Örnek No	İnokulum Sayısı (kob/g)	Sayım		
			0.gün * (kob/g)	14.gün (kob/g)	28.gün (kob/g)
Yüz Bakımı	1	1×10^6	$6,03 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	2	$1,41 \times 10^6$	$8,58 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	3	1×10^6	$1,62 \times 10^5$	kirli	kirli
Yüz Bakımı	4	$1,41 \times 10^6$	$5,2 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	5	$1,41 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	1	1×10^6	$3,52 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	2	$1,25 \times 10^6$	$3,03 \times 10^5$	$4,3 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	3	$1,45 \times 10^6$	$3,2 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	4	$1,45 \times 10^6$	$3,11 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	5	1×10^6	$5,03 \times 10^5$	kirli	kirli
Şampuan	1	$1,1 \times 10^6$	$2,6 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	2	$1,52 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	3	$1,25 \times 10^6$	$3,81 \times 10^5$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	4	$1,52 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$	2×10^2	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	5	$1,45 \times 10^6$	$2,93 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	1	$1,41 \times 10^6$	$3,36 \times 10^5$	1×10^1	1×10^1
Bebek Şampuanı	2	$1,52 \times 10^6$	$2,2 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	3	$1,25 \times 10^6$	$3,78 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	4	$1,45 \times 10^6$	$3,08 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	5	$1,41 \times 10^6$	$3,36 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	1	$1,1 \times 10^6$	$6,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	2	$1,25 \times 10^6$	$2,38 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	3	$5,5 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$	3×10^1	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	4	$1,41 \times 10^6$	$3,58 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	5	$1,41 \times 10^6$	$3,12 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	1	$1,1 \times 10^6$	$9,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	2	$5,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	3	$5,5 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	4	$1,52 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$	4×10^1	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	5	$1,25 \times 10^6$	$3,67 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	1	$1,1 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	2	$5,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	3	$1,25 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	4	$1,25 \times 10^6$	$5,36 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	5	$1,45 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	1	$1,1 \times 10^6$	1×10^6	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	2	$1,08 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	3	$1,08 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

Tıraş Sonrası	4	$1,08 \times 10^6$	$3,72 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	5	$1,08 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	1	$1,1 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	2	$1,25 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	3	$1,41 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	4	$1,41 \times 10^6$	$1,68 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	5	$1,08 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	1	$1,41 \times 10^6$	$8,7 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	2	$1,08 \times 10^6$	$1,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	3	$1,08 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	4	$1,08 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	5	$1,08 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

* Başlangıç sayımı

Tablo 4-6: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin *E. coli*'ye karşı etkinlik değerleri

Ürün Adı	Örnek No	İnokulum Sayısı (kob/g)	Sayım		
			0.gün* (kob/g)	14.gün (kob/g)	28.gün (kob/g)
Yüz Bakımı	1	$8,6 \times 10^5$	$4,17 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	2	$2,25 \times 10^6$	$4,78 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	3	$8,6 \times 10^5$	$1,08 \times 10^5$	kirli	kirli
Yüz Bakımı	4	$2,25 \times 10^6$	$6,84 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	5	$2,25 \times 10^6$	$2,18 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	1	$8,6 \times 10^5$	$7,68 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	2	$1,43 \times 10^6$	$7,06 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$	$7,2 \times 10^3$
El&Vücut Bakımı	3	$1,01 \times 10^6$	$2,81 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	4	$1,01 \times 10^6$	$3,17 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	5	$8,6 \times 10^5$	$3,64 \times 10^5$	kirli	kirli
Şampuan	1	$1,9 \times 10^6$	1×10^6	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	2	$1,5 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	3	$1,43 \times 10^6$	$5,7 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	4	$1,5 \times 10^6$	$4,8 \times 10^5$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	5	$1,01 \times 10^6$	$3,7 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	1	$2,25 \times 10^6$	$2,68 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	2	$1,5 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	3	$1,43 \times 10^6$	$5,42 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	4	$1,01 \times 10^6$	$3,94 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	5	$2,25 \times 10^6$	$2,97 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	1	$1,9 \times 10^6$	$1,4 \times 10^5$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	2	$1,43 \times 10^6$	$4,7 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	3	$1,5 \times 10^6$	$3,3 \times 10^5$	3×10^1	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	4	$2,25 \times 10^6$	$4,45 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	5	$2,25 \times 10^6$	$2,9 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	1	$1,9 \times 10^6$	2×10^5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	2	$1,5 \times 10^6$	$4,9 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	3	$1,5 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	4	$1,5 \times 10^6$	$5,6 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	5	$1,43 \times 10^6$	$4,67 \times 10^5$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	1	$1,9 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	2	$1,5 \times 10^6$	$3,6 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	3	$1,43 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	4	$1,43 \times 10^6$	$1,13 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	5	$1,01 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	1	$1,9 \times 10^6$	1×10^6	1×10^2	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	2	$2,25 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	3	$2,25 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

Tıraş Sonrası	4	1,67 x 10 ⁶	1,59 x 10 ⁵	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Tıraş Sonrası	5	1,67 x 10 ⁶	4,3 x 10 ⁴	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Tüy Dökücü	1	1,9 x 10 ⁶	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Tüy Dökücü	2	1,43 x 10 ⁶	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Tüy Dökücü	3	2,25 x 10 ⁶	2,7 x 10 ⁴	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Tüy Dökücü	4	2,25 x 10 ⁶	1,15 x 10 ⁵	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Tüy Dökücü	5	2,25 x 10 ⁶	6,9 x 10 ⁴	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Ter Önleyici	1	2,25 x 10 ⁶	1,9 x 10 ⁴	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Ter Önleyici	2	1,67 x 10 ⁶	2,98 x 10 ⁴	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Ter Önleyici	3	1,67 x 10 ⁶	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Ter Önleyici	4	1,67 x 10 ⁶	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹
Ter Önleyici	5	1,67 x 10 ⁶	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹	< 1 x 10 ¹

* Başlangıç sayımı

4.2.2.3. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin *Staphylococcus aureus*'a Karşı Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

Kozmetik ürünlerin içerdiği koruyucu maddelerin *S. aureus*'a karşı etkinliğinde, tıraş sonrası grupta yer alan bir ürünün, ter önleyici grupta yer alan beş ürünün başlangıç sayılarının $<1 \times 10^1$ olduğu belirlenmiştir. El ve vücut bakımı grubunda bulunan üç ürün, yüz bakımı grubunda yer alan bir ürün, toplam aerop bakteri ve mantar sayımları yüksek olan ürünler olduğundan bu ürünlerin başlangıç sayımlarında *S. aureus* ürerken, 14. ve 28. gün sayım Petrilerinde ürünün kendi kirliliğini oluşturan mikroorganizmalar üremiştir. El ve vücut bakımı grubunda yer alan diğer bir ürünün 14. gündeki sayımlarının başlangıç sayımlarına göre 1 logluk azalma gösterdiği, 28. gün sayımlarının da 14. gün sayımlarına göre artış olmadığı belirlenmiştir. Tıraş öncesi grubunda yer alan bir ürünün 14. gün sayımlarının başlangıç sayımlarına göre 4 log azaldığı ancak 28. gün sayımlarında 14. günde belirlenen sayıma göre artış olduğu görülmüştür. Diğer kozmetik ürünlerin 14. gündeki sayımlarının başlangıç sayımlarına göre en az 2 log azaldığı, 28. gün sayımlarında 14. gün sayımlarına göre artış olmadığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre incelenen 50 kozmetik ürünün içerdiği koruyucu maddelerin *S. aureus*'a karşı etkinliğinde iki ürünün koruyucusunun etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Kozmetik ürünlerdeki koruyucu maddelerin *S. aureus*'a karşı etkinlik değerleri Tablo 4.7'de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin *S. aureus*'a karşı etkinlik değerleri

Ürün Adı	Örnek No	İnokulum Sayısı (kob/g)	Sayım		
			0.gün* (kob/g)	14.gün (kob/g)	28.gün (kob/g)
Yüz Bakımı	1	8×10^5	$2,69 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	2	$9,6 \times 10^5$	$4,64 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	3	8×10^5	$7,8 \times 10^4$	kirli	kirli
Yüz Bakımı	4	$9,6 \times 10^5$	8×10^5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	5	$9,6 \times 10^5$	$6,91 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	1	8×10^5	$2,74 \times 10^5$	$1,66 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	2	1×10^6	$6,13 \times 10^5$	$1,1 \times 10^4$	2×10^1
El&Vücut Bakımı	3	$6,5 \times 10^5$	$1,63 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	4	$6,5 \times 10^5$	$1,85 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	5	8×10^5	$7,54 \times 10^5$	kirli	kirli
Şampuan	1	$1,2 \times 10^6$	1×10^6	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	2	$4,2 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	3	1×10^6	$4,2 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	4	$4,2 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	5	$6,5 \times 10^5$	$6,53 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	1	$9,6 \times 10^5$	$3,95 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	2	$4,2 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$	4×10^1	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	3	1×10^6	$3,56 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	4	$6,5 \times 10^5$	$1,14 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	5	$9,6 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	1	$1,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	2	1×10^6	$1,56 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	3	$4,2 \times 10^5$	3×10^5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	4	$9,6 \times 10^5$	$3,04 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	5	$8,3 \times 10^5$	$4,07 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	1	$1,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	2	$4,2 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	3	$4,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	4	$4,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	5	1×10^6	$4,62 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	1	$1,2 \times 10^6$	$5,3 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	2	$4,2 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$4,02 \times 10^4$
Tıraş Öncesi	3	1×10^6	$5,9 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	4	1×10^6	$5,36 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	5	$6,5 \times 10^5$	$3,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	1	$1,2 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$	1×10^2	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	2	$8,3 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	3	$8,3 \times 10^5$	$4,9 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$

Tıraş Sonrası	4	$8,3 \times 10^5$	$4,03 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	5	$8,3 \times 10^5$	$7,56 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	1	$1,2 \times 10^6$	7×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	2	1×10^6	$1,74 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	3	$9,6 \times 10^5$	$6,2 \times 10^5$	4×10^2	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	4	$9,6 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	5	$9,6 \times 10^5$	$4,96 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	1	$9,6 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	2	$8,3 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	3	$8,3 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	4	$8,3 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	5	$8,3 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

*Başlangıç sayımı

4.2.2.4. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin *Candida albicans*'a Karşı Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

Kozmetik ürünlerin içerdiği koruyucu maddelerin *C. albicans*'a karşı etkinliğinde tıraş öncesi ve tıraş sonrası grupta yer alan bir ürünün, tüy dökücü ve ter önleyici grupta yer alan üç ürünün başlangıç sayılarının $<1 \times 10^1$ olduğu belirlenmiştir. El ve vücut bakımı grubunda bulunan üç ürün, yüz bakımı grubunda yer alan bir ürün, toplam aerop bakteri ve mantar sayımları yüksek olan ürünler olduğundan bu ürünlerin başlangıç sayımlarında *C. albicans* ürerken, 14. ve 28. gün sayım Petrillerinde ürünün kendi kirliliğini oluşturan mikroorganizmalar üremiştir. Yüz bakımı grubunda yer alan bir ürünün ise 14. gün sayımlarının başlangıç sayımına göre azalma göstermediği aynı kaldığı ancak 28. gün sayımlarında 14. gün sayımlarına göre logaritmik artış olmadığı belirlenmiştir. Diğer kozmetik ürünlerin 14. gündeki sayımlarının başlangıç sayımlarına göre azaldığı, 28. gün sayımlarında 14. gün sayımlarına göre artış olmadığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre incelenen 50 kozmetik ürünün içerdiği koruyucu maddelerin *C. albicans*'a karşı etkinliğinde bir ürünün koruyucusunun etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Kozmetik ürünlerdeki koruyucu maddelerin *C. albicans*'a karşı etkinlik değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

Tablo 4-8: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin *C. albicans*'a karşı etkinlik değerleri

Ürün Adı	Örnek No	İnokulum Sayısı (kob/g)	Sayım		
			0.gün (kob/g)	14.gün (kob/g)	28.gün (kob/g)
Yüz Bakımı	1	$7,3 \times 10^5$	$3,5 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$	$7,88 \times 10^4$
Yüz Bakımı	2	$1,4 \times 10^5$	$5,1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	3×10^1
Yüz Bakımı	3	$7,3 \times 10^5$	$1,12 \times 10^4$	kirli	kirli
Yüz Bakımı	4	$1,4 \times 10^5$	$4,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	5	$1,4 \times 10^5$	$2,1 \times 10^4$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	1	$7,3 \times 10^5$	$3,64 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	2	$4,6 \times 10^4$	$3,56 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	3	5×10^5	$1,4 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	4	5×10^5	$4,6 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	5	$7,3 \times 10^5$	$6,31 \times 10^4$	kirli	kirli
Şampuan	1	$1,4 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	2	$6,5 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	3	$4,6 \times 10^4$	$2,11 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	4	$6,5 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	5	5×10^5	9×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	1	$1,4 \times 10^5$	$5,86 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	1×10^1
Bebek Şampuanı	2	$6,5 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	3	$4,6 \times 10^4$	$2,89 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	4	5×10^5	$2,33 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	5	$1,4 \times 10^5$	$4,18 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	1	$1,4 \times 10^5$	1×10^5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	2	$4,6 \times 10^4$	$2,38 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	3	$6,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$	4×10^1	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	4	$1,4 \times 10^5$	$1,8 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	5	$1,4 \times 10^5$	$3,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	1	$1,4 \times 10^5$	$9,6 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	2	$6,5 \times 10^4$	3×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	3	$6,5 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	4	$6,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	5	$4,6 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	1	$1,4 \times 10^5$	$2,1 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	2	$6,5 \times 10^4$	$2,9 \times 10^4$	2×10^1	2×10^1
Tıraş Öncesi	3	$4,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	4	$4,6 \times 10^4$	$2,98 \times 10^4$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	5	5×10^5	$1,4 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	1	$1,4 \times 10^5$	$2,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	2	$1,4 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	3	$1,4 \times 10^5$	$1,08 \times 10^4$	$2,1 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$

Tıraş Sonrası	4	$8,2 \times 10^4$	$5,7 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	5	$8,2 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	1	$1,4 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	2	$4,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	3	$1,4 \times 10^5$	$1,25 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	4	$8,6 \times 10^4$	3×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	5	$8,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	1	$1,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	1×10^1
Ter Önleyici	2	$8,2 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	3	$8,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	4	$8,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	5	$8,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

*Başlangıç sayımı

4.2.2.5. Kozmetik Ürünlerin İçerdiği Antimikrobiyal Etkili Koruyucu Maddelerin *Aspergillus niger*'e Karşı Etkinliklerinin Saptanmasına Ait Bulgular

Kozmetik ürünlerin içerdiği koruyucu maddelerin *A. niger*'e karşı etkinliğinde tıraş sonrası grupta yer alan bir ürünün ve ter önleyici grupta yer alan iki ürünün başlangıç sayılarının $<1 \times 10^1$ olduğu belirlenmiştir. El ve vücut bakımı grubunda bulunan üç ürün, yüz bakımı grubunda yer alan bir ürün, toplam aerop bakteri ve mantar sayımları yüksek olan ürünler olduğundan bu ürünlerin başlangıç sayımlarında *A. niger* ürerken, 14. ve 28. gün sayım Petrillerinde ürünün kendi kirliliğini oluşturan mikroorganizmalar üremiştir. Yüz bakımı ürün grubunda yer alan ürün ile duş jeli grubunda bulunan bir ürünün 14. gün sayımlarının başlangıç sayımlarına göre bir logluk azalma gösterirken duş jeli grubunda yer alan ürünün 28. gün sayımlarında artış olmamış ancak yüz bakımı ürününün 28. gün sayımlarında 14. gün sayımlarına göre artış olduğu görülmüştür. Tüy dökücü ürün grubu ve tıraş sonrası ürün gruplarında yer alan birer ürünün ise 14. gün sayımının $<1 \times 10^1$ olduğu ancak 28. gün sayımının 14. gün sayımına göre artış gösterdiği saptanmıştır. Diğer kozmetik ürünlerin 14. gündeki sayımlarının başlangıç sayımlarına göre 28. gün sayımlarında 14. gün sayımlarına göre artış olmadığı görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre incelenen 50 kozmetik ürünün içerdiği koruyucu maddelerin *A. niger*'e karşı etkinliğinde bir ürünün koruyucusunun etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Kozmetik ürünlerdeki koruyucu maddelerin *A. niger*'e karşı etkinlik değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4-9: Kozmetik ürünlerin içerdiği antimikrobiyal etkili koruyucu maddelerin *A. niger*'e karşı etkinlik değerleri

Ürün Adı	Örnek No	İnokulum Sayısı (kob/g)	Sayım		
			0.gün (kob/g)	14.gün (kob/g)	28.gün (kob/g)
Yüz Bakımı	1	$1,6 \times 10^6$	$1,52 \times 10^5$	$3,74 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$
Yüz Bakımı	2	$1,8 \times 10^6$	$2,9 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yüz Bakımı	3	$1,6 \times 10^6$	$3,23 \times 10^5$	kirli	kirli
Yüz Bakımı	4	$1,8 \times 10^6$	$2,98 \times 10^5$	$1,22 \times 10^4$	$1,41 \times 10^4$
Yüz Bakımı	5	$1,8 \times 10^6$	$2,68 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	1	$1,6 \times 10^6$	$5,58 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	2	$1,82 \times 10^6$	$1,73 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
El&Vücut Bakımı	3	$2,4 \times 10^6$	$3,44 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	4	$2,4 \times 10^6$	$4,92 \times 10^5$	kirli	kirli
El&Vücut Bakımı	5	$1,6 \times 10^6$	$5,12 \times 10^5$	kirli	kirli
Şampuan	1	$3,2 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	2	$1,6 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	3	$1,82 \times 10^6$	$6,82 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	4	$1,6 \times 10^6$	$2,8 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Şampuan	5	$2,4 \times 10^6$	$5,52 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	1	$1,8 \times 10^6$	$3,42 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	2	$1,6 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	3	$1,82 \times 10^6$	$9,11 \times 10^5$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	4	$2,4 \times 10^6$	5×10^5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Bebek Şampuanı	5	$1,8 \times 10^6$	$6,4 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	3×10^1
Duş Jeli	1	$3,2 \times 10^5$	$1,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	2	$1,82 \times 10^6$	$4,45 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	3	$1,6 \times 10^6$	$1,2 \times 10^5$	$5,38 \times 10^4$	2×10^4
Duş Jeli	4	$1,8 \times 10^6$	$3,68 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Duş Jeli	5	$1,8 \times 10^6$	$2,74 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	1	$3,2 \times 10^5$	$8,6 \times 10^4$	1×10^1	2×10^1
Sıvı Sabun	2	$1,6 \times 10^6$	$1,3 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	3	$1,6 \times 10^6$	$1,8 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	4	$1,6 \times 10^6$	$1,9 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Sıvı Sabun	5	$1,82 \times 10^6$	$8,79 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	1	$3,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^4$	$1,1 \times 10^3$	3×10^1
Tıraş Öncesi	2	$1,6 \times 10^6$	$2,7 \times 10^5$	4×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	3	$1,82 \times 10^6$	$4,23 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	4	$1,82 \times 10^6$	$2,92 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Öncesi	5	$2,4 \times 10^6$	$1,57 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	1	$3,2 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	1×10^1
Tıraş Sonrası	2	$1,8 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	3	$1,8 \times 10^6$	$2,72 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	1×10^2

Tıraş Sonrası	4	$1,8 \times 10^6$	$3,12 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tıraş Sonrası	5	$1,8 \times 10^6$	$1,64 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	1	$3,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	2	$1,82 \times 10^6$	$2,45 \times 10^5$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	3	$1,8 \times 10^6$	$1,84 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Tüy Dökücü	4	$1,8 \times 10^6$	$1,9 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$4,3 \times 10^2$
Tüy Dökücü	5	$1,8 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	1	$1,8 \times 10^6$	$2,86 \times 10^5$	$1,76 \times 10^4$	$6,2 \times 10^3$
Ter Önleyici	2	$1,8 \times 10^6$	$4,2 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	6×10^1
Ter Önleyici	3	$1,8 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	4	$1,8 \times 10^6$	$4,88 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Ter Önleyici	5	$1,8 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

*Başlangıç sayımı

5. TARTIŞMA

Kozmetik ürünler, bileşimindeki maddeler nedeniyle mikroorganizma üremesi için uygun ortamlardır. Yapılan çalışmalarda bu ürünlerin çeşitli mikroorganizmalar ile kontamine olabildikleri, *Pseudomonas* türleri, *Enterobacter* türleri, *Klebsiella* türleri, *Serratia* türleri ve *S. aureus* gibi önemli patojenleri içerebildikleri tespit edilmiştir (8). Bu nedenle kozmetik ürün formülasyonlarına koruyucu olarak bilinen farklı kimyasal yapıda maddelerin eklenmesi öngörülmüştür. Günümüzde koruyucu maddeler, kozmetik ürün formülasyonlarında kullanılması onaylanan koruyucu madde listelerine ve toksik doz limitlerine uygun olarak ürünlere ilave edilmekte ve tüketicinin kullanımına sunulmaktadır. İnsan sağlığı açısından üretici firmaların denetimleri dahilinde piyasaya sunulan bu ürünlerin mikrobiyolojik içeriğinin ve içerdikleri koruyucu etkinliğinin denetim ve güvenlik değerlendirmelerinin yapılması gerekmektedir. 1998 yılında Resmi Gazete’de yayınlanan Kozmetik Yönetmeliği’nde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik’te, kozmetik ürünlerin içerebileceği patojen olmayan mikroorganizma sayısı üst sınır olarak 10^3 olarak belirlenirken insan sağlığı için tehlike oluşturan *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Salmonella* türleri, *Clostridium* türleri ve *C. albicans* gibi patojen mikroorganizmaları içermemeleri gerektiği bildirilmiştir (11).

Çalışmamızda Haziran 2008- Mayıs 2009 tarihleri arasında piyasadan temin edilen 50 adet kozmetik ürün, mikrobiyolojik içeriklerinin belirlenmesi ve koruyucu etkinliklerinin araştırılması amacıyla incelenmiştir. Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik analizleri USP ve FDA tarafından önerilen yöntemlere göre yapılmıştır. Her iki yönteme göre mikrobiyolojik analizleri yapılan ürünlerden el ve vücut bakımı grubunda yer alan iki ürünün, yüz bakımı ürün grubunda yer alan bir ürünün toplam aerop bakteri sayılarının ve el ve vücut bakımı grubunda yer alan bir ürünün toplam mantar sayısının bu ürünler için izin verilen limitlerin üstünde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada FDA tarafından önerilen yönteme göre mikrobiyolojik analizleri yapılan ürünlerde belirlenen toplam aerop bakteri ve mantar sayılarının USP tarafından önerilen yönteme göre belirlenen sayılardan yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın FDA yönteminde, mikroorganizma sayımı için kullanılan besiyerlerindeki nötralle edici maddelerin varlığından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çalışmada iki adet tıraş öncesi ürün ile birer adet el ve vücut bakım ürünü, yüz bakım ürünü ve tüy dökücü ürünün *S. aureus* içerdiği saptanmıştır.

İzole edilen Gram negatif çomak şeklindeki bakteriler infeksiyon etkeni olabilen potansiyel patojen bakterilerdir. Çalışmada el ve vücut bakım ürünlerinden *A. xylosoxyidans*, *B. cepacia*, *S. maltophilia* ve *P. putida*; yüz bakım ürününden ise *C. freundii*, *B. cepacia* ve *B. gladioli* izole edilmiştir. Bu bakterilerden özellikle antimikrobik maddelere dirençli olabildiği bilinen *B. cepacia* ve *S. maltophilia*'nın etken olduğu birçok infeksiyon bildirilmiştir (72,73). Ayrıca çalışmada el ve vücut bakım ürünü grubunda yer alan bir ürünün *C. krusei* içerdiği tespit edilmiştir.

Campana ve ark. (58) 91 adet kozmetik ürünün mikrobiyal kontaminasyonlarını araştırdıkları çalışmada banyo köpüklerinin % 13.5 şampuanların % 6.7 ve sıvı sabunların % 10'unun *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus epidermidis* ve *P. putida* ile kontamine olduğunu belirlemişlerdir.

Okeke ve Lamikanra'nın (5) 2001 yılında yaptıkları bir başka çalışmada ise marketlerden satın alınan 25 krem ve 24 losyon olmak üzere toplam 49 adet vücut nemlendiricisinin sekizinin gram veya mililitrede 10^3 'den daha fazla mikroorganizma ile kontamine olduğu ve ürünlerin *E. coli*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait türleri içerdiği tespit edilmiştir.

Çarıkçı ve ark. (59) yaptıkları çalışmada 127 adet kozmetik ürünün mikrobiyal içeriği hem klasik yöntemler hem de polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılarak araştırıldığında, çalışılan ürünlerin toplam % 6.3'ünün gramında 10^3 'ü aşan sayıda mikroorganizma bulunduğu saptanmış, ürünlerden *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. cepacia* ve *K. pneumoniae* gibi patojen mikroorganizmalar izole edilmiştir.

Hugbo ve ark.'nın (55) yaptığı bir başka çalışmada ise piyasada satılmakta olan on farklı firmaya ait krem ve losyonlar satın alınmış ve mikrobiyal içerikleri araştırıldığında ürünlerin büyük bölümünün bakteri ve mantar sayısının 10^3 'den fazla olduğu ve ürünlerin *Staphylococcus* türleri, *S. aureus*, *Microsporium canis* ve *Aspergillus fumigatus* gibi mikroorganizmaları içerdikleri tespit edilmiştir.

Boynukara ve ark. (85) tarafından yapılan çalışmada ithal edilen bir deri kreminde belirlenen mikrobiyal kontaminasyon araştırıldığında etkenin *A. niger* olduğu belirlenmiştir.

Anerlich ve Korsten (86) tarafından yapılan çalışmada bozulmuş yüz, el ve vücut kremleri araştırılmış ve ürünlerin % 69'unun mikroorganizmalar ile kontamine

olduğu ve ürünlerin *P. aeruginosa*, *Enterobacter gergoviae*, *Candida parapsilosis* ve *A. flavus* içerdiği tespit edilmiştir.

Benzer şekilde yapılan birçok çalışmada üretilen ve tüketicinin kullanımına sunulan kozmetik ürünlerde birçok patojen veya fırsatçı patojen bakteri ve mantar bulunabildiğini gösterilmiştir (17,19,30,87).

Çalışmamızda saptadığımız *S. aureus*, Kozmetik Yönetmeliği'ne göre kozmetik preparatlarda bulunmaması gereken potansiyel patojen bir bakteridir. El ve vücut bakımı ürünü, yüz bakımı ürünü, tüy dökücü krem ve tıraş ürünlerinde saptanan *S. aureus* bütünlüğü bozulmuş deriden (kesik, sıyrık v.s) girerek özellikle deri ve mukoza infeksiyonlarına neden olabilir. Bu yolla giren bakteriler fronkül ya da lokalize bir abse meydana getirebilirler. Çeşitli deri yaralarına sebep olan stafilokokların, kana yayılarak çoğalmaları ile yerleştikleri yerlerde özel klinik tablolar oluşturup ağır infeksiyonlara yol açabildikleri bilinmektedir (53).

İzole edilen Gram negatif bakterilerden *C. freundii* Enterobacteriaceae ailesinde bulunan koliform bir bakteridir. Bu bakterinin ürünlerde bulunması fekal bir kirliliği göstermektedir. İki üründe bulunan *B. cepacia*, *B. gladioli* ve *S. maltophilia* özellikle immün sistemi baskılanmış ve kistik fibrozisli hastalarda ciddi infeksiyonlara neden oldukları bilinen fırsatçı patojenlerdir (68,88). Özellikle *S. maltophilia* birçok antibiyotiğe karşı dirençli olabilen nazokomiyal bir patojendir (61). Çalışmada izole edilen tek maya türü olan *C. krusei* de genellikle immün sistemi baskılanmış hastalarda ciddi infeksiyonlar ve ölümlere neden olabilmektedir (80). Yaygın olarak kullanılan kozmetik ürünlerde bulunan bu mikroorganizmalar, özellikle toplumdaki immün sistemi zayıflamış bireylerde veya sağlıklı kişilerde vücudun steril yerlerine geçerek, gözün müköz membranına veya uygulanma bölgesindeki bütünlüğü bozulmuş, çizik veya çatlak deriden vücuda girerek infeksiyona neden olabilmektedir. Ayrıca tüm bunların dışında özellikle ürünlerin uygulanma bölgesinde aşırı duyarlılık reaksiyonları oluşturabildiklerinden tüketici sağlığı açısından tehlikeli olabilmektedirler.

Kozmetik ürünlerin kontaminasyonu genellikle, üretimde kullanılan su, hammaddeler, yardımcı maddeler, paketleme materyalleri, personel, üretim tesis ve donanımı, çevre ve depolama koşulları kaynaklıdır (2). Üretim tesisindeki yüzeylerin etkili yöntemlerle arıtımı olan sanitasyonun nasıl yapılacağı GMP ile belirtilmiştir. Bu nedenle üreticilerin mikrobiyal kontaminasyonu engellemek amacıyla GMP kurallarını ciddi şekilde uygulaması gerekmektedir (23). Kozmetik ürünler içerisinde üreyebilen

ve kullanıcıya zarar verebilen mikroorganizmaların engellenmesi için üreticilerin GMP'ye uygun imalat yapmaları gerekmektedir. Ancak kontaminasyon her zaman üretim sırasında değil zaman zaman kullanım sırasında tüketici tarafından da meydana getirilebilmektedir. Bu nedenle ürünün raf ömrü ve kullanım süresi boyunca oluşabilecek mikrobiyal bozulmaları engellemek amacıyla ürün formülasyonlarındaki diğer maddelerle uyumlu ve etkili bir koruyucunun da ürünlere ilave edilmesi gerekmektedir.

Çalışmada mikrobiyolojik analizleri yapılan 50 adet kozmetik ürünün formülasyonuna katılan koruyucuların etkinlikleri araştırıldığında yedi ürünün koruyucusunun, etkinlik testinde çalışılan deney mikroorganizmalarına karşı etkisiz olduğu tespit edilmiştir.

Mikrobiyolojik limit testinde, toplam aerop bakteri sayısı yüksek bulunan üç ürünün ve bir ürününün koruyucu etkinlik testinin 0. gününde deney mikroorganizmaları ürerken, deneyin 14. ve 28. günlerinde bu mikroorganizmalar dışında üründe kontaminasyona neden olan kontaminantların ürediği görülmüştür. Bu ürünlerin koruyucuları iki üründe DMDM hidantoin ve triklosan, bir üründe metil paraben ve bir üründe etil alkol, izopropil alkol ve sitrik asittir. Çalışmamızda, koruyucu etkinliğinin olmadığı belirlenen bu dört üründen el ve vücut bakım ürünlerinde *A. xylosoxyidans*, *B. cepacia*, *S. maltophilia*, *P. putida* ve *C. krusei*, yüz bakım ürününde ise *C. freundii*, *B. cepacia* ve *B. gladioli* gibi potansiyel patojen mikroorganizmalar izole edilmiştir.

Çalışmada metil parabenin koruyucu olarak tek başına kullanıldığı üç ürünün, etkinlik testinde en az bir mikroorganizmaya karşı etkisiz olduğu bulunmuştur. Flores ve ark. (89) çeşitli kozmetik ürünlerden izole ettikleri mikroorganizmaların koruyuculara direnç durumlarını araştırdıkları çalışmalarında benzer olarak tüm mikroorganizmaların metil parabene dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Tez çalışmamızda mikrobiyolojik limit testinde, içerisinde *S. aureus* bulunduğu belirlenen bir tıraş öncesi ürünün koruyucu etkinlik testinde, 14. günde sayısı azalan *S. aureus*'un 28. günde sayısınının tekrar yükseldiği belirlenmiştir. Ürün içinde koruyucu olarak bulunan sodyum metil parabenin tek başına *S. aureus*'a karşı etkili olmadığı görülmüştür.

Campana ve ark. (58) 91 adet kozmetik ürünün 3 farklı yöntemle göre koruyucu etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında *S. aureus* ATCC 4338 ve *P. aeruginosa*

ATCC 9027 suşları ile çalışılan ürünlerden izole ettikleri *Staphylococcus epidermidis* ve *P. putida* suşlarını kullanmışlardır. Ürünlerdeki metil ve propil paraben kombinasyonu koruyucu etkinlik testlerine göre uygun bulunmuştur.

Okeke ve Lamikanra (5) tarafından araştırma amaçlı yapılan bir çalışmada steril şartlarda sulu kremler hazırlanmış ve ürünler 3 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba koruyucu olarak % 1 klorokrezol, ikinci gruba % 0.1 metil paraben ve % 0.03 propil parabenler ilave edilirken, üçüncü grup ürüne ise koruyucu koyulmamıştır. Hazırlanan tüm kremlere test mikroorganizmaları ilave edilip uygun saklama koşullarında 28 gün bekletilmiştir. Bu çalışmaya göre metil ve propil paraben karışımının sulu kremlerde etkili koruyucular oldukları dolayısı ile parabenlerin kombinasyon halinde kullanılması ile daha etkili olabildikleri tespit edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmada benzer şekilde kombinasyon halinde kullanılan bu koruyucuların daha etkili oldukları saptanmıştır.

Kozmetik ürün formülasyonlarına katılan koruyucuların geniş spektrumlu olmaları kullanıcı sağlığının korunması açısından önemlidir. Ancak tüm koruyucular bu özelliğe sahip olmadıklarından bu etkisiz koruyucular ile korunan kozmetik ürünler kullanım sırasında istenmeyen mikroorganizmalar ile kontamine olmakta ve kullanıcı sağlığını olumsuz etkileyebilmektedir. Bu nedenle koruyucuların uygun koruyucu grupları ile kombinasyon halinde kullanılarak etkinliklerinin artırılması gerekmektedir.

Çalışmamızda koruyucu etkinlikleri araştırılan tıraş öncesi, tıraş sonrası, tüy dökücü ve ter önleyici ürünlerden bazılarının etkinlik testinin 0. gününde, çalışılan hemen hemen tüm mikroorganizmalar için, mikroorganizma sayısını deneyin başlangıç sayımı olan 10^6 'dan sıfıra düşürdüğü görülmüştür. Özellikle bir tıraş sonrası ve iki ter önleyici ürünün deney sırasında 0. günde çalışılan tüm test mikroorganizmalarının sayısını sıfıra indirdiği saptanmıştır. Mikroorganizma sayımlarındaki bu düşüş tıraş sonrası ve ter önleyici ürünlerin içerisinde bulunan farklı yapıdaki koruyucuların ve antimikrobiyal etkili diğer bileşenlerin izin verilenden fazla miktarda konulmuş olabileceğini göstermiştir. Bu şekilde fazla miktarda antimikrobiyal madde içeren ve özellikle tıraş sonrası ve ter önleyici gibi durulanmadan deri üzerinde kalan kozmetik ürünlerin kullanımı kullanıcıların epitel hücrelerine zarar vereceğinden tüketici sağlığı açısından üzerinde durulması gereken bir durumdur.

Yapılan çalışmalarda kozmetik kullanımı ile ilişkili alerjik kontakt dermatitin koruyucu miktarı ile doğrudan ilişkili olduğu belirlenmiştir (31). Ülkemizde yapılan bir

çalışmada tiomersal, benzalkonyum klorür ve formaldehitin en fazla kontakt dermatit etkeni olan koruyucular oldukları tespit edilmiştir (90).

Mikroorganizmalar, metabolik aktiviteleri sayesinde ürünlerde bozulmalara neden olabilirler. Ürünlerdeki bu bozulmalar, ürün içerisindeki aktif bileşenlerin bozulması, mikroorganizmaların toksinler oluşturması, degradasyon sonucu genel görünümünün bozulması şeklinde ortaya çıkabilir. Ürünlerin içerisindeki yüzey aktif maddelerin, tat, koku ve renk verici maddelerin, yağların ve emülsiyonların yanı sıra ürünü mikroorganizmalardan koruyan koruyucuların da degradasyona uğrayabildikleri bilinmektedir. Özellikle *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* ve *Nocardia* cinslerine ait türler tarafından koruyucuların parçalanabildiği gösterilmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarda degradasyona duyarlı koruyucular klorheksidin, setrimit, fenol bileşikleri, feniletıl alkol, benzoik asit, benzalkonyum klorür ve p-hidroksibenzoik asit esterleridir (21). Ürün formülasyonlarındaki bu bozulmalar sonucu meydana gelen gözle görünür değişiklikler, sıvı ürünlerde çökelti, bulanıklık veya zar oluşumu, mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu pH, redoks ve diğer değişimler sonucu renk ve kokusunun değişmesi, gaz, baloncuk veya köpük oluşumudur. Ürünün yapısındaki bu değişiklikler ürünlerin kullanıcı tarafından kullanımını olanaksız kılar (3).

Çalışmada koruyucu etkinlik testi sırasında *C. albicans* ve *A. niger* ilave edilen ve 0. gün sayımları, başlangıç sayımları ile benzer olduğu belirlenen bir adet yüz bakım ürününün 14. ve 28. günlerinde *C. albicans* ve *A. niger* sayılarında artış gözlenmiştir. Mantar sayılarında görülen bu artış, üründe koruyucu olarak bulunan benzil alkol, metilkloroizothiazolinon ve metilizothiazolinonun mantarlara karşı etkisiz olduğunu göstermektedir. Ayrıca koruyucu etkinlik testi sırasında *A. niger* ilave edilen bu ürünün başlangıçta beyaz olan renginin 14. günde yeşile dönüştüğü gözlenmiştir. Bu durum, söz konusu üründe bulunan karbonhidratların ve bitkisel hammaddelerin *A. niger* için besin kaynağı olarak kullanıldığı ve üründe degradasyona neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Gauthier ve ark. (91) tarafından yapılan bir çalışmada bazı antibiyotik, antiepileptik ve hipertansiyon ilaçlarının da çeşitli mikroorganizmalar tarafından biodegradasyona uğradıkları belirlenmiştir. Bu çalışmada ilaçlardan özellikle karbamazepinin *A. niger* tarafından önemli ölçüde degrade edilebildiği tespit edilmiştir.

Yapılan bir araştırmada, içerisinde koruyucu olarak paraben, imidazolidinil üre ve fenoksietanol bulunan ancak bozulması gözle görülemeyen, yüz temizleyicisi, vücut

nemlendiricisi, banyo jeli, tıraş sonrası ve şampuan gibi 42 adet kozmetik üründen izole edilen *Bacillus*, *Micrococcus* ve *Staphylococcus* cinslerine ait türlerin koruyuculara karşı duyarlılıkları incelenmiş ve mikroorganizmaların hepsinin metilparabene dirençli olduğu, bazılarının fenoksietanole ve imidazolidinil üreye duyarlı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca nişasta ve jelatin gibi çeşitli hammaddelerin de bu mikroorganizmalar tarafından hidrolize edilebildiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada mikroorganizmalar, içerisinde koruyucu bulunmayan bir kreme ilave edildiklerinde, mikrobiyal üremeye bağlı olarak kremin yapısında renk ve koku değişimleri pH düşüşü, ağırlık kaybı, faz ayrımı gibi değişiklikler gözlenmiştir (89).

Benzer şekilde yapılan çalışmalarda koruyucuların özellikle de parabenlerin, *Pseudomonas beteli*, *Burkholderia latens* ve *B. cepacia* tarafından parçalanabildiği tespit edilmiştir (62,92). Bu nedenle koruyucu seçiminde dikkat edilmesi gereken önemli etkenlerden biri de geniş spektrumlu olması, mikroorganizmaları hemen öldürebilmesi ve böylece mikroorganizmaların ortama adapte olamadan koruyucuları parçalamalarının engellenmesidir.

Yaklaşık olarak yarım yüzyıldır kozmetiklerde koruyucu olarak kullanılan hidroksibenzoik asit esterleri olan parabenler, kozmetiklerde tek başlarına veya kombinasyon halinde sık kullanılan antimikrobiyal ajanlardır. İdeal koruyucu olarak birçok özelliğe sahip olan parabenlerin, endokrin ve üreme sistemini olumsuz yönde etkileyebildikleri son yıllarda yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar ile gösterilmiştir, özellikle koltuk altına uygulanan kozmetik ürünlerde bulunabilen parabenlerin göğüs kanseri ile ilişkisi olabildiği de bildirilmiştir (40,93,94).

Bu çalışmada mikrobiyolojik analizleri ve koruyucu etkinlikleri araştırılan ürünlerin çoğunun özellikle çalışılan beş ter önleyici üründen dördünün metil, etil, butil, propil ve izobutil parabenleri içerdiği görülmüştür. Tüm parabenlerin koltuk altına uygulanan ter önleyici ürünlerde bulunması kullanıcılar için göğüs kanseri riskini arttıracığından bu şekilde uygulanan kozmetik ürünlerde östrojenik aktivitesi olan parabenlerin kullanılmaması konusunda dikkatli davranılması gerekmektedir. Özellikle östrojenik aktivitesi çok fazla olan ve ilgili genlerin anlatımını arttıran izobutil parabenin göğüse yakın olan koltuk altına uygulanan bu ürünlerde bulunması kesinlikle yasaklanmalıdır.

Koruyucu etkinlik testlerinde, koruyucunun test mikroorganizmalarına karşı etkinliğinin doğru belirlenebilmesi için etkili ve uygun bir nötralizasyon yönteminin

kullanılması gerekmektedir. Eğer koruyucular uygun nötralizan ile inaktive edilmezse koruyucunun aktivitesi deney sırasında da devam ederek yanlış sonuçlara neden olabilmektedir (49). Tüm antimikrobiyal ajanları nötralize edebilen tek bir nötralizasyon yöntemi bulunmamaktadır. Bu amaçla en sık kullanılan yöntem kimyasal nötralizasyon yöntemidir. Ancak kullanılacak kimyasal maddenin hem etkili olması hem de deney mikroorganizmalarına karşı toksik etki göstermemesi gerekmektedir (95,96). Yapılan çeşitli çalışmalarla doğru deney sonuçları alabilmek için doğru nötralizasyonun önemi ve gerekliliği gösterilmiştir (49,50,96).

Çalışmamızda koruyucu etkinlikleri açısından incelenen 50 kozmetik ürünün birçoğu birden fazla koruyucu grubunun yanı sıra koruyucu olarak kabul edilmeyen ancak antimikrobiyal etkiye sahip maddeleri de içeren ürünlerdir. Bu nedenle koruyucu etkinlik testi sırasında bu ajanları nötralize edebilmek için Cosmetic Toiletry Perfumery Association tarafından önerilen “üniversal nötralizan” yeterli olmamış bu nötralizanın modifiye edilmiş hali kullanılmıştır (95). Kullanılan modifiye nötralizan “üniversal nötralizan”ın içeriğinde bulunan lesitin, tween 80, sodyum tiyosülfat pentahidrat ve L-histidin miktarlarının beş kat artırılması ile hazırlanmıştır. Etkinlik testinde nötralizasyon sonrası, bakteriler ve maya şeklinde mantarların sayımı için besiyeri olarak da yine içerisinde nötralize edici ajanlar bulunan D/E agar besiyeri kullanılmıştır. D/E agar besiyerinin etkili bir nötralizasyon besiyeri olduğu yapılan araştırmalar ile de doğrulanmıştır (49,50).

Koruyucu maddeler kozmetik ürünlere üretim sonrası ürünlerin saklanması ve kullanımı sırasında oluşabilecek mikroorganizma kontaminasyonlarını ortadan kaldırmak amacıyla ilave edilmektedir. Ancak çalışmada görüldüğu gibi bazı kozmetik ürünlerde mikrobiyal kontaminasyonların tespit edilmesi bu ürünlere ilave edilen koruyucuların etkisiz olduğunu göstermiştir.

Rastogi (97) tarafından yapılan bir çalışmada kozmetik ürünlerin içindeki koruyucu madde miktarları HPLC yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada kozmetik ürünlerin koruyucu miktarlarının olması gerekenden yüksek ya da düşük olduğu ya da o koruyucuları içermediği tespit edilmiştir.

Ayrıca çalışmamızda koruyucu etkinlik testi sırasında, bazı ürünlerde ilave edilen mikroorganizma sayısı sıfıra düşerken bazı ürünlerde testin başlangıcında mikroorganizma sayılarında artış görülməsi ürünlere ilave edilen koruyucu madde miktarlarının uygun konsantrasyonda konulmadığını düşündürmüştür.

Sonuç olarak çalışmada tüketici kullanımına sunulmak üzere piyasada satılmakta olan kozmetik ürünlerde mikrobiyal kontaminasyonun saptanmış olması ürünlerdeki kontaminasyonun üretim işlemleri sırasında olabileceğini ortaya koymuştur. Bu nedenle mikroorganizma kontaminasyonuna bağlı olarak kullanıcıda oluşabilecek olası bir enfeksiyonu önlemede üretim sırasında alınacak önlemler önem kazanmaktadır. Bu durum üretim işlemleri sırasında GMP prensiplerine uyulması ve her aşamada kontrole yönelik önlemlerin alınması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Kozmetik ürünlerde koruyucu etkinliğini belirlemek amacıyla yaptığımız bu çalışmada elde edilen sonuçlar; koruyucuların tüketici sağlığı düşünülerek yönetmeliklerce belirlenen konsantrasyonlarda ve toksik doz limitlerine uygun olarak ilave edilmesi gerektiğini göstermiştir. Ayrıca Kozmetik Yönetmeliği'ne göre kozmetik ürün formülasyonlarına ilave edilen antimikrobiyal madde ve konsantrasyonlarının da bu kategoride değerlendirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Steinberg D. *Preservatives for Cosmetics*. 2nd ed. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation; 2006.
2. Underwood E. Ecology of Microorganisms as It Affects the Pharmaceutical Industry. İçinde Hugo WB, Russell AD, editörler. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 339-354.
3. Smart R, Spooner DF. Microbiological spoilage in pharmaceuticals and cosmetics. *J Soc Cosmet Chem* 1972; **23**: 721-737.
4. Sasseville D. Hypersensitivity to preservatives. *Dermatol Ther* 2004; **17**: 251-263.
5. Okeke IN, Lamikanra A. Bacteriological quality of skin-moisturizing creams and lotions distributed in a tropical developing country. *J Appl Microbiol* 2001; **91**: 922-928.
6. T.C. Sağlık Bakanlığı. *Kozmetik Kanunu*. Resmi Gazete, 23 Mart 2005, Sayı 5324.
7. T.C. Sağlık Bakanlığı. *Kozmetik Yönetmeliği*. Resmi Gazete, 23 Mayıs 2005, Sayı 25823.
8. Baird RM. Contamination of Non-steril Pharmaceuticals in Hospital and Community Environments. İçinde Hugo WB, Russell AD, editör. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 374-384.
9. Curry JC, Brannan DK, Geis PA. History of Cosmetic Microbiology. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 3-17.
10. Steinberg DC. Global Regulation of Preservatives and Cosmetic Preservatives. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 215-226.
11. Naki Sivri N. *Türkiye piyasasında mevcut bazı kozmetiklerin gama radyasyonla dekontaminasyonu* [web page on the Internet]. Erişim 14.03.2008, 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi 2005:
<http://www.das.org.tr/dosya/kongre/kong2005/22-05.pdf>.
12. FDA. *Bacteriological Analytical Manual Microbiological Methods for Cosmetics*. Chapter 23. Food and Drug Administration (İnternette) 2001, Ağustos. Erişim 10.07.2009,

<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070149.htm>.

13. European Commission. The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products Intended for Consumers. *Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for Their Safety Evaluation*. 1999th edition (İnternette), Erişim 01.04.2009 http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out12_en.pdf.

14. Sutton SVW. Antimicrobial Preservative Efficacy and Microbial Content Testing. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 111-145.

15. Brannan DK. Biology of Microbes. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 19-69.

16. Lundov MD, Zachariae C. Recalls of microbiologically contaminated cosmetics in EU from 2005 to May 2008. *Int J Cosmetic Sci* 2008; **30**: 471-474.

17. Behravan J, Bazzaz F, Malaekheh P. Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000). *Int J Dermatol* 2005; **44**: 482-485.

18. Geis PA. Preservation Strategies. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 163-180.

19. Pack LD, Wickham MG, Enloe RA, Hill DN. Microbial contamination associated with mascara use. *Optometry* 2008; **79**: 587-593.

20. Bhadauria R, Ahearn DG. Loss of effectiveness of preservative systems of mascaras with age. *Appl Environ Microb* 1980; **39**: 665-667.

21. Bloomfield SF. Microbial Contamination: Spoilage and Hazard. İçinde Denyer S, Baird R, editörler. *Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals*. West Sussex: Ellis Horwood Limited; 1990. pp. 29-52.

22. Payne DN. Microbial Ecology of the Production Process. İçinde Denyer S, Baird R, editörler. *Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals*. West Sussex: Ellis Horwood Limited; 1990. pp. 53-67.

23. Mulhall R, Schmidt E, Brannan DK. Microbial Environment of the Manufacturing Plant. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 73-96.

24. Brannan DK, Dille JC. Type of closure prevents microbial contamination of cosmetics during consumer use. *Appl Environ Microb* 1990; **56**: 1476-1479.

25. T.C. Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü. *Kozmetik İyi İmalat Uygulamaları Kılavuzu* (İnternette) Ankara 2005. Erişim 29.09.2009, http://www.iegm.gov.tr/Folders/TheLaws/Kozmetikler%20%C5%9Eube%20M%C3%BCd%C3%BCr%C3%BC%C4%9F%C3%BC/GMP_8f75e89.pdf.
26. Goolsby LM, Schubert HL. Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Protocols in Cosmetic Microbiology. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 97-107.
27. Smith CN, Alexander BR. The relative cytotoxicity of personal care preservative systems in Balb/C 3T3 clone A31 embryonic mouse cells and the effect of selected preservative systems upon the toxicity of a standard rinse-off formulation. *Toxicol In Vitro* 2005; **19**: 963-969.
28. Lee E, An S, Choi D, Moon S, Chang I. Comparison of objective and sensory skin irritations of several cosmetic preservatives. *Contact Dermatitis* 2007; **56**: 131-136.
29. Beveridge EG. Microbial Spoilage and Preservation of Pharmaceuticals Products. İçinde Hugo WB, Russell AD, editör. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 355-373.
30. Eken A. *Kozmesötik Etken Maddeler*. İstanbul: Esen Ofset A.Ş.; 2006.
31. Lundov MD, Moesby L, Zachariae C, Johansen JD. Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. *Contact Dermatitis* 2009; **60**: 70-78.
32. Orth DS. Principles of Preservation. İçinde Denyer S, Baird R, editörler. *Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals*. West Sussex: Ellis Horwood Limited; 1990. pp. 241-250.
33. Hugo WB. Mode of Action of Non-antibiotic Antibacterial Agents. İçinde Hugo WB, Russell AD, editörler. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 256-262.
34. Chapman JS. Antimicrobial Mechanisms of Selected Preservatives and the Bacterial Response. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 181-190.
35. Şenol A, Gülay H. *Kozmetiğe Giriş*. Kocaeli: Cem Ofset; 2002.
36. Scott EM, Gorman SP. Chemical disinfectants, Antiseptics and Preservatives. İçinde Hugo WB, Russell AD, editörler. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 201-228.

37. Charnock C, Finsrud T. Combining esters of para-hydroxy benzoic acid (parabens) to achieve increased antimicrobial activity. *J Clin Pharm Ther* 2007; **32**: 567-572.
38. Darbre PD. Underarm cosmetics and breast cancer. *J Appl Toxicol* 2003; **23**: 89-95.
39. Oishi S. Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Arch Toxicol* 2002; **76**: 423-429.
40. Oishi S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food Chem Toxicol* 2002; **40**: 1807-1813.
41. Common Cosmetic Preservatives. İçinde Geis PA, editör. *Cosmetic Microbiology*. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 227-281.
42. Hugo WB, Russell AD. Evaluation of Non-antibiotic Antimicrobial Agents. İçinde Hugo WB, Russell AD, editörler. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 229-255.
43. Denyer SP, Wallhaeusser KH. Antimicrobial Preservatives and Their Properties. İçinde Denyer S, Baird R, editörler. *Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals*. West Sussex: Ellis Horwood Limited; 1990. pp. 251-273.
44. Doorne HV. Interactions Between Preservatives and Pharmaceutical Components. İçinde Denyer S, Baird R, editörler. *Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals*. West Sussex: Ellis Horwood Limited; 1990. pp. 274-291.
45. Varvaresou A, Papageorgiou S, Tsirivas E, Protopapa E, Kintziou H, Kefala V ve ark. Self-preserving cosmetics. *Int J Cosmetic Sci* 2009; **31**: 163-175.
46. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999; **86**: 985-990.
47. Lambert RJ, Hanlon GW, Denyer SP. The synergistic effect of EDTA/antimicrobial combinations on *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Microbiol* 2004; **96**: 244-253.
48. Nostro A, Cannatelli MA, Morelli I, Cioni PL, Bader A, Marino A ve ark. Preservative properties of *Calamintha officinalis* essential oil with and without EDTA. *Lett Appl Microbiol* 2002; **35**: 385-389.
49. Dey BP, Engley FB. Methodology for recovery of chemically treated *Staphylococcus aureus* with neutralizing medium. *Appl Environ Microb* 1983; **45**: 1533-1537.
50. Sutton SV, Wrzosek T, Proud DW. Neutralization efficacy of Dey-Engley medium in testing of contact lens disinfecting solutions. *J Appl Bacteriol* 1991; **70**: 351-354.

51. Cengiz AT. Staphylococcus. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. pp. 339-347.
52. İnanç D. Stafilokokların mikrobiyolojik tanı özellikleri. *İnfeksiyon dergisi* 1990; **4**: 685-691.
53. Bilgehan H. *Klinik Mikrobiyoloji Özel Bakteriyoloji ve Bakteri İnfeksiyonları*. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi; 1992.
54. Ashour MS, Abdelaziz AA, El-Tayeb OM, Hefnai H. Microbial contamination of cosmetics and personal care items in Egypt. I. Contamination of toothpastes and mouthwashes. *J Soc Cosmet Chem* 1987; **38**: 435-441.
55. Hugbo PG, Onyekweli AO, Igwe I. Microbial contamination and preservative capacity of some brands of cosmetic creams. *Trop J Pharm Res* 2003; **2**: 229-234.
56. Erdem B. Pseudomonaslar. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. pp. 551-558.
57. Aumeran C, Paillard C, Robin F, Kanold J, Baud O, Bonnet R ve ark. *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* outbreak associated with contaminated water outlets in an oncohaematology paediatric unit. *J Hosp Infect* 2007; **65**: 47-53.
58. Campana R, Scesa C, Patrone V, Vittoria E, Baffone W. Microbiological study of cosmetic products during their use by consumers: health risk and efficacy of preservative systems. *Lett Appl Microbiol* 2006; **43**: 301-306.
59. Çarıkçı Aİ, Uçar F, Yalçın HT. Kozmetik ürünlerde bakteriyal ve fungal kompozisyonun klasik yöntemler ve PCR yöntemi kullanılarak saptanması. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* [serial online] 2008, **6**:1-16. Erişim 02.07.2009, www.mikrobiyoloji.org/pdf/702080101.pdf.
60. Matrician L, Ange G, Burns S, Fanning WL, Kioski C, Cage GD ve ark. Outbreak of nosocomial *Burkholderia cepacia* infection and colonization associated with intrinsically contaminated mouthwash. *Infect Contr Hosp Ep* 2000; **21**: 739-741.
61. Öztürk R. Çoklu ilaç dirençli *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* ile oluşan infeksiyon hastalıklarında antimikrobik tedavi. *ANKEM Derg* 2008; **22**: 36-43.
62. Hutchinson J, Runge W, Mulvey M, Norris G, Yetman M, Valkova N ve ark. *Burkholderia cepacia* infections associated with intrinsically contaminated ultrasound gel: the role of microbial degradation of parabens. *Infect Cont Hosp Ep* 2004; **25**: 291-296.

63. Russell AD. Resistance to Non-antibiotic Antimicrobial Agents. İçinde Hugo WB, Russell AD, editör. *Pharmaceutical Microbiology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 263-277.
64. Alvarez-Lerma F, Maull E, Terradas R, Segura C, Planells I, Coll P ve ark. Moisturizing body milk as a reservoir of *Burkholderia cepacia*: outbreak of nosocomial infection in a multidisciplinary intensive care unit. *Crit Care* 2008; **12**: R10.
65. Kutty PK, Moody B, Gullion JS, Zervos M, Ajluni M, Washburn R ve ark. Multistate outbreak of *Burkholderia cenocepacia* colonization and infection associated with the use of intrinsically contaminated alcohol-free mouthwash. *Chest* 2007; **132**: 1825-1831.
66. Graves M, Robin T, Chipman AM, Wong J, Khashe S, Janda JM. Four additional cases of *Burkholderia gladioli* infection with microbiological correlates and review. *Clin Infect Dis* 1997; **25**: 838-842.
67. Lestin F, Kraak R, Podbielski A. Two cases of keratitis and corneal ulcers caused by *Burkholderia gladioli*. *J Clin Microbiol* 2008; **46**: 2445-2449.
68. Kanj SS, Tapson V, Davis RD, Madden J, Browning I. Infections in patients with cystic fibrosis following lung transplantation. *Chest* 1997; **112**: 924-930.
69. Jiao Z, Kawamura Y, Mishima N, Yang R, Li N, Liu X ve ark. Need to differentiate lethal toxin-producing strains of *Burkholderia gladioli*, which cause severe food poisoning: description of *B. gladioli* pathovar cocovenenans and an emended description of *B. gladioli*. *Microbiol Immunol* 2003; **47**: 915-925.
70. Palleroni NJ, Bradbury JF. *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1980) Swings et al. 1983. *Int J Syst Bacteriol* 1993; **43**: 606-609.
71. Bayraktar B, Kaygusuz A, Öngen B, Barlas N, Erturan Z, Gürler N ve ark. *Xanthomonas maltophilia* izolasyonları. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1994; **24**: 154-157.
72. Spencer RC. The emergence of epidemic, multiple-antibiotic-resistant *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* and *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. *J Hosp Infect* 1995; **30 Suppl**: 453-464.
73. Dülger D, Berktaş M. *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının klinik önemi. *Van Tıp Dergisi* 2007; **14**: 90-95.
74. Erdem B. Enterobacteriaceae. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. pp. 471-515.

75. Drelichman V, Band JD. Bacteremias due to *Citrobacter diversus* and *Citrobacter freundii*. Incidence, risk factors, and clinical outcome. *Arch Intern Med* 1985; **145**: 1808-1810.
76. Gülhan B, Özekinci T, Meşe S, Atmaca S. 2004-2006 yılları arasında izole edilen *Citrobacter* suşlarında antibiyotik direnci. *ANKEM Derg* 2007; **21**: 91-94.
77. Ashour MS, Abdelaziz AA, Hefni H, El-Tayeb OM. Microbial contamination of cosmetics and personal care items in Egypt-body lotions and talcum powders. *J Clin Pharm Ther* 1989; **14**: 207-212.
78. Gerçeker D. Miscellaneous Gram Negatif Bakteriler. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. pp. 541-550.
79. Tümbay E. Candida Türleri. İçinde Ustaçelebi Ş, editör. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi; 1999. pp. 1081-1086.
80. Hautala T, Ikäheimo I, Husu H, Säily M, Siitonen T, Koistinen P ve ark. A cluster of *Candida krusei* infections in a haematological unit. *BMC Infect Dis* 2007; **7**: 97.
81. USP 24, NF 19. *Microbial Limit Tests*. The United States Pharmacopeia 2000.
82. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Brock Biology of Microorganisms*. 8th ed. New Jersey: Prentice Hall International, Inc.; 1997.
83. USP 24, NF 19. *Antimicrobial Effectiveness Testing*. The United States Pharmacopeia 2000.
84. USP 29, NF 24. *Validation of Microbial Recovery from Pharmacopeial Articles*. The United States Pharmacopeia (İnternette) Erişim 13.01.2009, http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1227.html.
85. Boynukara B, İlhan Z, Gülhan T. İthal kozmetik bir deri kreminden *Aspergillus niger* izolasyonu. *YTÜ. Vet. Fak. Derg.* 2002; **13**: 41-43.
86. Anelich LE, Korsten L. Survey of micro-organisms associated with spoilage of cosmetic creams manufactured in South Africa. *Int J Cosmetic Sci.* 1996; **18**: 25-40.
87. Ravita TD, Tanner RS, Ahearn DG, Arms EL, Crockett PW. Post-consumer use efficacies of preservatives in personal care and topical drug products: relationship to preservative category. *J Ind Microbiol Biot* 2009; **36**: 35-38.
88. Goldmann DA, Klinger JD. *Pseudomonas cepacia*: biology, mechanisms of virulence, epidemiology. *J Pediatr* 1986; **108**: 806-812.
89. Flores M, Morillo M, Crespo ML. Deterioration of raw materials and cosmetic

- products by preservative resistant microorganisms. *Int Biodeter Biodegr* 1997; **40**: 157-160.
90. Boyvat A, Akyol A, Gürgey E. Contact sensitivity to preservatives in Turkey. *Contact Dermatitis* 2005; **52**: 329-332.
91. Gauthier H, Yargeau V, Cooper DG. Biodegradation of pharmaceuticals by *Rhodococcus rhodochrous* and *Aspergillus niger* by co-metabolism. *Sci Total Environ* 2010; **408**: 1701-1706.
92. Amin A, Chauhan S, Dare M, Bansal AK. Degradation of parabens by *Pseudomonas beteli* and *Burkholderia latens*. *Eur J Pharm Biopharm* 2010.
93. Soni MG, Carabin IG, Burdock GA. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food Chem Toxicol* 2005; **43**: 985-1015.
94. Darbre PD, Byford JR, Shaw LE, Horton RA, Pope GS, Sauer MJ. Oestrogenic activity of isobutylparaben in vitro and in vivo. *J Appl Toxicol* 2002; **22**: 219-226.
95. Mehrgan H, Elmi F, Fazeli MR, Shahverdi AR, Samadi N. Evaluation of neutralizing efficacy and possible microbial cell toxicity of a universal neutralizer proposed by the CTPA. *Iran J Pharm Res* 2006; **3**: 173-178.
96. Sheikh W. Development and validation of a neutralizer system for in vitro evaluation of some antiseptics. *Antimicrob Agents Ch* 1981; **19**: 429-434.
97. Rastogi SC. Analytical control of preservative labelling on skin creams. *Contact Dermatitis* 2000; **43**: 339-343.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mayram	Soyadı	Tüysüz
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	02.08.1984
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	15374357858
Email	mayram_t@hotmail.com	Tel	05359520983

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2010
Lisans	İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Ö.Esayan Lisesi	2002

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	İyi	78,75	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	85,535	83,016	79,684
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	Çok iyi

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, sinemaya ve tiyatroya gitmek, müzik dinlemek