

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BEBEKLER İÇİN KULLANILAN VE PİYASADA BULUNAN ÇEŞİTLİ KOZMETİK
ÜRÜNLERİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

RUHİYE KOÇ

**DANIŞMAN
DOÇ.DR. SİBEL DÖŞLER**

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



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 çalışmasıyla 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.

RUHİYE KOÇ

(İmza)

İTHAF

Destęini ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında, bilgilerini ve tecrübelerini paylaşarak, öğrenim sürecimde çok büyük emeği geçen, yardımını ve desteğini her daim hissettiğim değerli danışman hocam Doç. Dr. Sibel Döşler'e teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans öğrenimim süresince, bilgi ve hoşgörülerini esirgemeyen Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki hocalarıma ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında yanımda olan desteklerini esirgemeyen canım aileme teşekkür ederim.

Manevi desteğini ve bilgilerini her zaman paylaşan değerli arkadaşım Kim. Yasemin Taşpınar'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2020-35428

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kozmetik Ürünlerin Tanımı.....	3
2.2. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kalitesi	3
2.3. Kozmetik Ürünlerde Görülen Kontaminasyonlar	4
2.4. Mikrobiyal Kontaminasyon Kaynakları	6
2.4.1. Su	6
2.4.2. Hava	7
2.4.3. Hammadde ve Yardımcı Maddeler	7
2.4.4. Ambalaj Materyali	7
2.4.5. Personel.....	7
2.4.6. Tesis	8
2.4.7. Depolama	8
2.4.8. Kullanım.....	9
2.5. Kozmetik Ürünlerde Kontaminasyonun Engellenmesi	9
2.5.1. İyi İmalat Uygulamaları (GOOD MANUFACTURING PRACTICE) (GMP) 10	
2.5.2. Koruyucular	11
2.6. Koruyucu Etkinlik Testi.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. Kozmetik Ürünler	17
3.2. Besiyerleri	17

3.2.1. Tryptic Soy Broth (TSB).....	17
3.2.2. Lactose Broth (LB):	17
3.2.3. Tryptic Soy Agar (TSA)	17
3.2.4. Sabouraud Dextrose Agar (SDA):	18
3.2.5. Mannitol Salt Agar (MSA):	18
3.2.6. Cetrimide Agar (CET):	18
3.2.7. MacConkey Agar (MCA):	18
3.2.8. Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar (XLDA):.....	18
3.2.9. Dey Engley Neutralizing Agar (D/E):	18
3.3. Çözeltiler.....	19
3.3.1. pH 7 Fosfat Tamponu:	19
3.3.2. Steril Fizyolojik Tuzlu Su:.....	19
3.3.3. Pepton Çözeltisi:	19
3.3.4. Nötralizan:.....	19
3.4. Tanı Kitleri.....	19
3.5. Diğer Malzemeler	19
3.6. Kozmetiklerin Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesi	20
3.6.1. Toplam Aerop Bakteri Sayısı Tespiti.....	20
3.6.2. Toplam Mantar Sayısının Tespiti.....	20
3.6.3. <i>Staphylococcus aureus</i> Varlığının Araştırılması.....	20
3.6.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Varlığının Araştırılması	21
3.6.5. <i>Escherichia coli</i> Varlığının Araştırılması	21
3.6.6. <i>Salmonella</i> Türlerinin Varlığının Araştırılması	21
3.7. Mikroorganizmaların tanımlanması.....	21
3.8. Koruyucu Etkinliklerinin İncelenmesi	23
3.8.1. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması.....	23
3.8.2. Nötralizan Seçilmesi	24
3.8.3. Koruyucu Etkinlik Testinin Yapılışı	25
4. BULGULAR.....	26
4.1. Kozmetiklerin Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesine Ait Bulgular	26
4.1.1. Toplam Aerop Bakteri Sayılarına Ait Bulgular	26
4.1.2. Toplam Mantar Sayılarına Ait Bulgular	29

4.1.3. Kozmetik Ürünlerde tespit Edilen Mikroorganizmaların Tanımlanmasına Ait Bulgular.....	31
4.1.3.1. Gram Pozitif Kok Şeklindeki Bakterilerin Tanımlanmasına Ait Bulgular ..	31
4.1.3.2. Gram Negatif Çomak Şeklindeki Bakterilerin Tanımlanmasına Ait Bulgular	31
4.1.3.3. Maya Şeklindeki Mantarların Tanımlanmasına Ait Bulgular	31
4.2. Kozmetik Ürünlerin İçerisinde Bulunan Koruyucuların Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular	32
4.2.1. Nötralizana Ait Validasyon Bulguları.....	32
4.2.2. Koruyucu Etkinlik Testlerine Ait Bulgular.....	33
4.2.2.1. <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular.....	33
4.2.2.2. <i>E. coli</i> 'ye karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular.....	37
4.2.2.3. <i>S. aureus</i> 'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	40
4.2.2.4. <i>C. albicans</i> 'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	43
4.2.2.5. <i>A. niger</i> 'e karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	46
5. TARTIŞMA	49
KAYNAKLAR	57
HAM VERİLER	62
FORMLAR	63
ETİK KURUL KARARI	64
PATENT HAKKI İZNİ	65
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	66
ÖZGEÇMİŞ	67

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kozmetik ürünler kategorileri ve mikrobiyolojik özellikleri	3
Tablo 2-2: Farmasötik ürünler ve kozmetiklerde bulunan mikroorganizmalar	4
Tablo 2-3: Kozmetiklerde en yaygın kullanılan koruyucular	12
Tablo 2-4: Çeşitli Koruyucuların Antimikrobiyal etki spektrumları	13
Tablo 2-5: Test organizmaları	14
Tablo 2-6: Bazı antimikrobiyal maddeler için nötralize edici ajanlar	15
Tablo 4-1: İncelenen kozmetiklerde tespit edilen toplam aerob bakteri sayıları	27
Tablo 4-2: İncelenen kozmetiklerde tespit edilen toplam mantar sayıları	29
Tablo 4-3: Kozmetik ürünlerden izole edilen mikroorganizmalar ve izole edildikleri ürün gruplar	32
Tablo 4-4: Nötralizan toksisite testi ve nötralizan etkinlik testi sonuçları	33
Tablo 4-5: <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	34
Tablo 4-6: <i>E. coli</i> 'ye karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	37
Tablo 4-7: <i>S. aureus</i> 'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	40
Tablo 4-8: <i>C. albicans</i> 'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	43
Tablo 4-9: <i>A. niger</i> 'e karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular	46

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

USP: United States Pharmacopeia

GMP: Good Manufacturing Practice

TİTCK: Türkiye ilaç ve tıbbi cihaz kurumu

DMDM hidantoin: Dimetil dimetilol hidantoin

CFTA: Cosmetic Toiletry and Fragrance Association

ASTM: American Society for Testing and Materials

BP: British Pharmacopeia

EP: European Pharmacopeia

FDA: Food and Drug administration

TSB: Tryptic Soy Broth

LB: Lactose Broth

TSA: Tryptic Soy Agar

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

MSA: Mannitol Salt Agar

CET: Cetrinide Agar

MCA: MacConkey Agar

XLDA: Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar

D/E: Dey Engley Neutralizing Agar

ÖZET

Koç R. Bebekler için Kullanılan ve Piyasada Bulunan Çeşitli Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Açıdan Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2020.

Kozmetik ürünler, formülasyonları ve yapısal özellikleri itibari ile mikroorganizmalar ile kontamine olma riski yüksek ürünlerdir. Özellikle de ciltlerinin daha hassas ve bağışıklık sistemlerinin daha zayıf olması nedeniyle, bebekler için kullanılan kozmetik ürünler, kozmetikler arasında en çok dikkat edilmesi gereken gruptur.

Bu çalışmada, bebekler için kullanılan ve piyasada satılan dokuz farklı ürün grubuna ait toplam 63 adet kozmetik ürün temin edilip bu ürünlerin mikrobiyal kontaminasyona uğrayıp uğramadığı kontrol edilmiştir. Ayrıca kozmetik ürünlerin bileşiminde bulunan koruyucuların etkili olup olmadığı da araştırılarak mikrobiyolojik değerlendirmeleri yapılmıştır. Bu amaçla Amerikan Farmakopesi (Unites States Pharmacopea/USP) 24’de bildirilen standartlara göre çalışmamız yürütülmüştür.

Mikrobiyolojik limit testi yapılan 63 kozmetik üründen dört tanesinin izin verilen toplam bakteri sayısından, bir tanesinin de toplam mantar sayısından fazla sayıda kontaminant içerdiği tespit edilmiştir. Kozmetik ürün gruplarından bebek şampuanlarından bir tanesinin *Candida parapsilosis* adlı maya mantarı, bir diğerinin *Photobacterium damsela*, bir adet diş macununun ise *Enterobacter amnigenus* adlı Gram negatif bakterilerle, bir adet pudranın ve bir adet güneş kreminin *Staphylococcus aureus* ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Yine USP 24 tarafından bildirilen yöntem kullanılarak yapılan koruyucu etkinlik testi sonuçlarına göre test ettiğimiz ürünlerden dokuz tanesinin içinde bulunan koruyucunun minimum bir test mikroorganizmasına karşı etkisiz olduğu belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre özellikle yerel/az bilinen markalı ve bitkisel/doğal içerikli olan bazı ürünlerde izin verilen limitlerin üzerinde mikrobiyal kontaminasyon saptanmış, benzer şekilde en az bir mikroorganizmaya karşı etkisiz olan koruyuculara da yine yerel/az bilinen markalı ve bitkisel/doğal içerikli ürünlerde rastlanmıştır. Bu bulguların hem tüketicilere kozmetik tercihlerini yaparken yardımcı olacağı, hem üretici firmalar için tarafsız ve doğru bilgi kaynağı olabileceği, hem de konu ile ilgili yapılacak bilimsel çalışmalara yön gösterici katkılar sağlayabileceği görüşündeyiz.

Anahtar Kelimeler: Bebek, kozmetik, mikrobiyolojik limit testi, koruyucu etkinlik testi, iyi üretim uygulamaları.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2020-35428.

ABSTRACT

Koç R. Microbiological Evaluation of Various Cosmetic Products Used for Babies that Available in the Market. İstanbul University, Institute of Health Science, Pharmaceutical Microbiology Department, Master Thesis. İstanbul. 2020

Cosmetics are products with high risk of contamination with microorganisms due to their formulations and structural features. Due to their skin is more sensitive and immune systems' is weaker, products used for babies, are the group that needs the most attention among cosmetics.

In this study, 63 cosmetic products belonging to nine different baby product groups sold in the market were obtained and controlled for potential microbial contamination. In addition, we made the microbiological evaluations by investigating the preservatives used in these cosmetic products are effective or not. For this purpose, we used the microbiological limit test and challenge test techniques according to United States Pharmacopeia (USP).

It was determined that four of 63 products that we tested in this study, were contained more than allowed total bacteria, and one contained more than the total number of allowed fungi as contaminants. Also we determined that, one baby shampoo from cosmetics was contaminated with the yeast *Candida parapsilosis*, another shampoo and one toothpaste with Gram-negative bacteria named *Photobacterium damsela* and *Enterobacter amnigenus*, respectively, one powder and one sunscreen were contaminated with *Staphylococcus aureus*. According to our challenge test results, we determined the preservatives in nine products we tested, were ineffective against a minimum one test microorganism.

According to our results, we generally detected the microbial contamination above the allowed limits, in some local/little known branded and herbal/natural products, and similarly, the ineffective preservatives against at least one microorganism were also found in local/little known branded and herbal/natural products. We believe that our findings will help consumers, manufacturers and researchers for making their cosmetic choices, as being an impartial and accurate source of information, and as providing the guiding contributions about cosmetics for ongoing studies, respectively.

Key Words: Baby, cosmetic, microbiological limit test, preservative efficacy test, good manufacturing practices.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. TYL-2020-35428.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kozmetik ürünler özellikleri itibari ile mikroorganizmalar ile kontamine olma riski yüksek ürünlerdir (1). Bunlar arasında en çok dikkat edilmesi gereken grupların başında, ciltlerinin daha hassas ve bağışıklık sistemlerinin daha zayıf olması gibi sebeplerden dolayı bebekler için kullanılan kozmetik ürünler gelmektedir.

Bebeklerin ve küçük çocukların ciltleri, henüz tam olarak olgunlaşmamış olmalarından dolayı yetişkinlere kıyasla çok daha ince ve narindir. Bu durum, özellikle yeni doğan dönemi ve bir yaşına kadar olan bebeklerin derisinin yetişkinlere göre daha kuru oluşu, epidermis ve dermis tabakalarının çok kuvvetli olmaması, yeterli elastik lif sayısının oluşmamış olması, Stratum corneum'un geçirgenliğinin fazla oluşu, epidermal bariyerin yeterince gelişmemiş ve deriye rengini veren melanin üretimi ile ter bezlerinin işlevinin henüz yetersiz olması gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır. Derilerinin bu denli ince ve hassas oluşu bebekleri, vücutlarına temas eden herhangi bir kontamine üründen dolayı oluşabilecek enfeksiyonlara karşı daha savunmasız hale getirmektedir.

Tüm bu sebeplerden dolayı bebekler için kullanılacak ürünlerin hem içerikleri ve üretim teknikleri, hem de satın alındıktan sonra kullanımları konusunda çok daha fazla özen gösterilmesi gereklidir. Bu bilgilerden yola çıkılarak kozmetik sektöründe de bebeklerin kullanımına sunulan ürünler ayrı bir kategori olarak diğer kozmetiklerden ayrılmakta ve bu ürünlerin hem içerikleri hem de üretimlerinde azami dikkat gösterilmektedir.

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Aspergillus* türleri kozmetik ürünlerde sıklıkla kontaminasyona neden olan mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmaların varlığı, ürünün bozulmasına ve bunun sonucunda da kullanıcılar için çok ciddi sağlık sorunlarına sebep olabilmektedir. Bu durumun önüne geçmek için kozmetik ürünlerin her zaman belirli kalitede olmaları gerekmektedir. Bu kaliteyi sağlayamayan ürünler üretim sırasında hava, su, personel, hammadde, ambalaj materyali yada tesis kaynaklı kontaminasyona uğrayabildiği gibi bu kontaminasyon depolama esnasında veya tüketicinin kullanımıyla da oluşabilmektedir. Üretimden kaynaklı kontaminasyonu engellemek için kozmetik firmalarının iyi üretim uygulamaları (Good manufacturing practice, GMP) kurallarına göre üretim yapmaları ve bu uygulamanın belirlediği şartları gerek üretim alanları gerekse dökümantasyon

olarak gerçekleştirmeleri gerekmektedir. Ayrıca kozmetik ürünlerin formülasyonlarına eklenen ve koruyucu adı verilen kimyasal maddeler de ürünü raf ömrü boyunca mikroorganizma kontaminasyonundan koruyan önemli bir unsurdur. Bu nedenle gerekli görölen kozmetik ürünlere, içeriğinde yer alan diğerk maddelerle uyumlu, kullanıcıya alerjik, toksik ve tahriş edici etki bırakmayan, geniş spektrumlu koruyucu maddeler eklenebilmektedir.

Kozmetikler günlük yaşantımızda sürekli ihtiyaç duyduğumuz ve oldukça yaygın olarak kullanılan ürünler olmakla birlikte özellikle bebekler için kullandığımız ürünler konusunda daha dikkatli olunması, daha bilinçli olarak en kaliteli ürünlerin tercih edilmeleri ve tüketilmeleri son derece önemlidir. Çalışmamızın amacı, ölkemizde üretilmekte olup tüketiciler tarafından piyasadan temin edilebilen ve özellikle bebekler için kullanılan çeşitli kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik olarak değerkendirilmesidir. Bu amaçla hem ürünlerin içerisinde bulunan mikrobiyolojik kontaminasyonlar hem de bu ürünlerde bulunan koruyucuların etkinlikleri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kozmetik Ürünlerin Tanımı

25823 sayı ve 23 Mayıs 2005 tarihli Kozmetik Yönetmeliğinde belirtilen tanıma göre kozmetik ürün; İnsan vücudunun dış kısımlarına; epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlarına veya dişler ile ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek, bunları korumak, iyi bir durumda tutmak veya vücut kokularını düzeltmek olan bütün madde veya karışımlardır (2). Kozmetik ürünler oldukça geniş bir yelpazeye sahip olup toplumun hemen her kesiminde günlük yaşamla iç içe olan tüketim ürünleridir. Deri ve eklerine uygulanan bu kozmetikler, insan vücuduna sürülen, serpilerek veya sprey şeklinde uygulanan temizleme, güzelleştirme, çekiciliği artırma veya görünümü değiştirme amacıyla kullanılan ilaç etkinliği olmayan ürünlerdir. Kullanılan bu kozmetik ürünlerin en önemli işlevi derinin fizyolojik özelliklerini değiştirmeden güzelleştirmek ve korumaktır (3).

2.2. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kalitesi

25823 sayılı ve 23 Mayıs 2005 tarihli Kozmetik Yönetmeliğine göre; Piyasaya arz edilen bir kozmetik ürün, normal ve üretici tarafından öngörülebilir şartlar altında ya da ürünün sunumu, etiketlenmesi, kullanımına dair açıklamalar veya üretici tarafından sağlanan bilgiler dikkate alınarak önerilen kullanım şartlarına göre uygulandığında, insan sağlığı açısından güvenli olmalıdır (2).

Kozmetik bir ürünün kontaminasyon risk seviyesinin belirlenmesi için yapılan mikrobiyolojik risk analiziyle, kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik incelemeleri konusunda farklı ihtiyaçlar belirlenmiştir. Mikrobiyolojik risk analizinde kullanıcı tipi, uygulama alanı, kozmetik ürünlerdeki olası değişimler ve mikroorganizmaların hastalık meydana getirebilme yetenekleri gibi unsurlar yer almaktadır (4).

Kozmetikler, steril olmayan ürünler olup mikroorganizmaların kontaminasyonuna her an açıktırlar. Bu ürünler mikrobiyolojik açıdan incelendiğinde, aseptik koşullarda üretilmediklerinden, patojen olmayan mikroorganizmaların varlığına rastlanması doğaldır. Önemli olan bu bulaşanların patojenik özellik göstermemesi ve belirlenen sınır değerlerden fazla bulunmamasıdır. Aksi halde, patojen mikroorganizma

içeren kozmetik ürünler, kullanıcıyı güzelleştirmek yerine sağlığını tehlikeye atacak, hastalık meydana getirecek yada ürünün bozulmasına neden olacaktır (1).

Farklı cilt bölgeleri, farklı hassasiyetlere sahip olabileceğinden Tablo 2.1’de görüldüğü gibi kozmetik ürünler için iki ayrı kategori tanımlanmıştır (4):

Tablo 2-1: Kozmetik ürün kategorileri ve mikrobiyolojik özellikleri

Ürün kategorileri	Kategori 1	Kategori 2
Kozmetik ürün türleri	3 yaş altı çocuklara yönelik ürünler, Göz bölgesine uygulanan ürünler, Mukoz membranlara uygulanan ürünler, Durulanmayan ürünler	Diğer ürünler, durulanan ürünler
Kantitatif/nicel mikrobiyolojik limitler	Toplam canlı aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı (bakteri, maya ve küf) 10^2 cfu/g ya da ml’den fazla olmamalıdır.	Toplam canlı aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı 10^3 cfu/g ya da ml’den fazla olmamalıdır.
Kalitatif/nitel mikrobiyolojik limitler	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> ya da <i>Escherichia coli</i> bulunmamalıdır.	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> ya da <i>E. coli</i> bulunmamalıdır.

2.3. Kozmetik Ürünlerde Görülen Kontaminasyonlar

Kozmetiklerdeki mikrobiyal kontaminasyon ilk olarak, bebeklerde kullanılan talk pudrasının *Clostridium tetani* ile kontaminasyonu sonucu tetanoz enfeksiyonunun görülmesiyle rapor edilmiştir. Ayrıca, oral ürünlerin kontaminasyonundan kaynaklanan Salmonella enfeksiyonu salgısıyla ilgili raporlar da bulunmaktadır (5). Sonraki yıllarda *P. aeruginosa* içeren göz damlalarını kullanmış hastalarda yaygın olarak göz enfeksiyonlarının, Klebsiella türleri yada *P. aeruginosa* ile kontamine olmuş kozmetik ürünlerin kullanımına bağlı nazokomiyal enfeksiyonlar ve epidemiler rapor edilmiştir (6). Kozmetik ürünlerin kontaminasyonu sonucu oluşan ve gitgide artan bu tehlikeler, araştırmacıların dikkatini çekmiş ve yoğun olarak konu ile ilgili çalışmalara

başlanmıştır (7). Tablo 2.2’de, çeşitli çalışmalarda farmasötik ürünler ve kozmetiklerde kontaminasyon olarak saptanan bazı mikroorganizmalar özetlenmiştir (8).

Tablo 2-2: Farmasötik ürünler ve kozmetiklerde bulunan mikroorganizmalar

Yıl	Ürün	Mikroorganizma
1907	Veba aşısı	<i>Clostridium tetani</i>
1943	Floresan göz damlası	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1946	Talk pudrası	<i>Clostridium tetani</i>
1948	Serum aşısı	<i>Staphylococcus aureus</i>
1955	Kloroksilenol dezenfektan	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1966	Tiroid tabletleri	<i>Salmonella muenchen</i>
1966	Antibiyotik göz merhemi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1966	Tuz çözeltisi	<i>Serratia marcescens</i>
1967	Karmin tozu	<i>Salmonella cubana</i>
1967	El kremi	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1969	Nane suyu	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1970	Klorheksidin-setrimid antiseptik çözelti	<i>Pseudomonas cepacia</i>
1972	İntravenöz sıvılar	<i>Pseudomonas, Erwinia ve Enterobacter spp.</i>
1972	Pankreatin tozu	<i>Salmonella agona</i>
1977	Kontakt lens çözümü	<i>Serratia ve Enterobacter spp.</i>
1981	Cerrahi pansumanlar	<i>Clostridium spp.</i>
1982	İyodor çözeltisi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1983	Sıvı sabun	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
1984	Timol gargara	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1986	Antiseptik gargara	Koliformlar

Kozmetik ürünlerin içerisinde yer alan maddeler, kontaminasyona neden olan mikroorganizmaların üreyerek çoğalabilmesi için uygun ortamlardır. Kozmetik ürünlerin formülasyonlarına bakıldığında bunların içerdikleri karbonhidratlar, proteinler, mineraller, aminoasitler, yağ asitleri, glikol, gliserol, glikozidler, steroidler,

vitaminler, peptidler, üreme faktörleri ve bitkisel hammaddeler ile ürünlerde fazla miktarda kullanılan su, mikroorganizmaların üremesi için uygundur (9). Krem ve losyonlarda kullanılan gliserin, mikroorganizmalar tarafından metabolize edilebilen bir madde olup özellikle *Bacillus*, *Staphylococcus* ve *Micrococcus* türleri tarafından kullanılabilirler (10). Ayrıca kozmetik ürünlerin asitliği ve nem miktarı da mikroorganizmaların üreyip gelişmesi için uygun ortam sağlamaktadır (11). Son zamanlarda doğal ürünlerin daha fazla tercih edilmesiyle bu ürünlerin içeriğinde bulunan ham maddeler de, mikroorganizmaların daha fazla üreyerek çoğalmasını desteklemektedir.

Kozmetik ürünler mikroorganizmalarla kontamine olduklarında ürünün fiziksel ve kimyasal yapısı ile dış görünüşü bozulabilmekte olup mikroorganizmaların direk kendileri yada ürettikleri toksik maddeler yoluyla kullanıcının sağlığını da bozabilmektedirler (22). Ayrıca kozmetik ürünlerin kontaminasyona uğramasıyla, üretici firma açısından hem ekonomik hem de itibari anlamda büyük kayıplar meydana gelebilmektedir (1).

2.4. Mikrobiyal Kontaminasyon Kaynakları

Kozmetiklerde görülen mikrobiyal kontaminasyon; üretim sırasında su, hava, hammadde, ambalaj materyali, personel gibi kaynaklardan olabileceği gibi, depolama sırasında yada kozmetik ürün tüketici tarafından kullanılırken de oluşabilmektedir. En önemli kontaminasyon kaynakları aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. Su

Su, üretimin her aşamasında direk yada dolaylı olarak ürünle temas edebilen önemli bir hammadde olduğundan özel itina gösterilmelidir. Su üretim ekipmanları ve su sistemleri, bitmiş ürünün uygunluğunu garanti edecek kalitede su sağlamalı; deiyonizasyon, filtrasyon, distilasyon gibi suya uygulanacak işlemler de ürün gerekliliklerine göre belirlenmelidir (14). Suyun depolanması ve dağıtılması sırasında oluşabilecek riskler bazı mikroorganizma türlerinin çoğalmasını sağlayabilir. Suda bulunan ve sağlık açısından önem taşıyan bakteriler arasında *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *E. coli*, *Salmonella typhi*, diğer salmonellalar, *Shigella spp.*, *Vibrio cholera*, *Yersinia enterocolitica*, *Shakespearei legionella*, *P. aeruginosa*, *Aeromonas spp.*, *Mycobacterium, atypical* gibi türler yer almaktadır (15).

2.4.2. Hava

Hava, üretimin tüm aşamalarında gerek ürünle gerekse de diğer tüm mikrobiyolojik kontaminasyon kaynaklarıyla temas halinde olduğundan ve kendi içerisinde sirkülasyonu da olduğundan, en önemli kontaminasyon kaynakları arasında yer alır. Temizlenmemiş havadaki çeşitli mikroorganizmalar, toz taneciklerinde ve su buharında asılı olarak bulunurlar. Bu nedenle kozmetik üretim sahalarındaki havalandırma sistemi, ürünü kontaminasyondan koruyacak ve çapraz bulaşmayı önleyecek şekilde tasarlanmalıdır (14). Mikroorganizmaların üremesi için uygun olan sıcak ve nemli ortamları engellemek için ısı ve nem ölçer cihazlarla kontrol sağlanmalıdır. Havadan gelen mikroorganizmalar arasında genellikle *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus* ve *Candida* türlerine rastlandığı görülmüştür (16).

2.4.3. Hammadde ve Yardımcı Maddeler

Bütün hammaddeler kendi özelliklerine uygun şekilde, bulaşma ve çapraz bulaşma riskini önleyecek şekilde depolanmalı, özel depolama koşulları mevcutsa bu kurallara da uyulmalıdır (5). Özellikle doğal kaynaklı hammaddeler, sentetik olanlara kıyasla çok daha fazla sayıda ve çeşitte mikroorganizma ihtiva edebilirler. Kozmetik ürünlerin formülasyonlarına katılan hammaddelerin daha çok *Bacillus* ve *Streptococcus* türleri, *S. aureus*, *E. coli* ve küf gibi çok sayıda mikroorganizmayı içerebileceği görülmüştür (17).

2.4.4. Ambalaj Materyali

Kozmetikler için kullanılan kapların ambalaj bütünlüğü, ambalajın kapalı olup olmadığı, herhangi bir bulaşma ve hasar belirtisi olup olmadığı kontrol edilmelidir (14). Ürünler, dış ortam ile teması engelleyecek biçimde ambalajlanmalı, ayrıca ışık, sıcaklık, nem gibi dış etkilere kaynaklanabilecek kontaminasyon engellenmelidir. Mantar ve bakteri sporları ile kontamine olabilecek organik maddeler (mantar tıpa, kağıt, karton, mukavva vb.) yerine biyolojik olarak bozulmayacak maddeler tercih sebebi olmalı ve ürün türüne göre en uygun materyal seçilmelidir.

2.4.5. Personel

Kozmetik üretiminde modern ve otomatize sistemlerin kullanımı gitgide daha da yaygınlaşmakla birlikte, insanın yer almadığı bir üretim süreci mümkün değildir. Bu nedenle bir ürünün imalat sürecindeki en önemli ve en büyük kontaminasyon

kaynaklarından biri de çalışan personeldir. Özellikle *S. aureus*, cilt ve mukoza membranlarında (çoğunlukla burun bölgesi) bulunan normal insan mikrobiyotasının bir üyesi olup, çok çeşitli klinik belirtilere neden olabilen önemli bir insan patojenidir (18). Kozmetik ürünlerde bu ve diğer patojenlerden kaynaklı bir kontaminasyon oluşmaması için üretim, kontrol ve depolama alanlarına giren herkes uygun kıyafetler ve koruyucu ekipman giymeli; personel, el yıkama ve kişisel hijyen kurallarına uyma konusunda eğitilmelidir. Üretim, kontrol ve depolama alanlarında gıda, içecek, sigara veya kişisel ilaçlar vb.'nin yenmesi, içilmesi, çiğnenmesi, tüketilmesi ve depolanması önlenmelidir. Hasta olan veya açıktaki vücut kısımlarında açık lezyonu bulunan kişilerin, bu sağlık sorunu giderilene veya yetkili tıbbi personel tarafından kozmetik ürünün kalitesinin tehlikeye düşmediğine karar verilene kadar, ürünle doğrudan temas etmesi önlenmeli, gerekli ve uygun önlemler alınmalıdır (19).

2.4.6. Tesis

Kaliteli bir üretim yapabilmek için, inşaat sürecinden itibaren tesislerin yerleşimi, tasarımı, inşaatı ve kullanımı konusunda mikrobiyal kontaminasyona izin vermeyecek tedbirlerin alınması gereklidir. Bu tedbirler özellikle ürünün korunmasını sağlamalı ve etkili bir temizlik, gerekirse de sanitizasyon ve bakıma olanak tanımalıdır (19). Tesisler ayrıca haşere, kemirgenler, kuşlar ve diğer hayvanların içeri girmesini engelleyecek şekilde tasarlanarak inşa edilmeli ve haşerelerle mücadele konusunda gerekli tedbirler alınmalıdır (14).

İç alan havasında bulunan çeşitli partiküller, özellikle de mantarlar alerjik, infeksiyöz ve toksik etkileri ile insan sağlığına zarar verebilmektedir (20). Özellikle *Stachybotrys chartarum* türünden kaynaklanan küf maruziyetinin sonucu olarak şiddetli hastalık bildirimleri olmuştur. *Stachybotrys*'in yanısıra duvarlarda *Penicillium* ve *Aspergillus versicolor* ile *Cladosporium* gelişimi gözlenmiştir (21).

2.4.7. Depolama

Depolama alanlarında ürün ve materyallerin yerleşimi, toz ve kir birikimini önleyecek, kolay temizlenebilir, bulaşma ve çapraz bulaşmaya izin vermeyecek şekilde yerle ve duvarla teması kesilmiş bir biçimde yapılmalıdır (14). Ayrıca, haşereler gibi zararlılardan korunmalıdır.

2.4.8. Kullanım

Kozmetik ürünler sadece üretim ve depolama aşamalarında değil, kullanım sırasında da mikrobiyal kontaminasyona maruz kalabilirler. Elle kullanılan ürünlere genellikle parmaklardan, yada havadan, şampuan vb. ürünlere ise kullanım sırasında açık bırakılan kapaklardan sıçrama yolu ile mikroorganizma girişi olabilmektedir. Bu nedenle kontaminasyonu önlemek için kullanıcının da kullanım talimatlarına ve hijyen kurallarına uyması gerekmektedir. Kozmetik ürünler, mikroorganizmalar için optimum üreme sıcaklıklarında birkaç saat dahi beklediğinde, kontamine olan mikroorganizmalar hızla çoğalmakta ve sağlık için tehlike oluşturabilmektedirler (1).

2.5. Kozmetik Ürünlerde Kontaminasyonun Engellenmesi

Kozmetikler, steril üretim zorunluluğu olmayan ürünler oldukları ve bileşimlerine giren çok sayıda doğal hammadde bulunması nedeniyle, yüksek kontaminasyon riski taşırlar. Kozmetik ürünlerin mikroorganizmalarla kontamine olmalarının engellenmesi amacıyla; tesislerinin dizaynından başlamak üzere üretim sürecinde yer alan tüm aşamaların amaca uygun ve valide edilmiş olması, ayrıca ürünün bileşimine giren tüm ham maddeler, ambalaj materyalleri ve çalışan personelin üretim öncesi, sırası ve sonrasında kontrol edilmeleri gereklidir.

Bir ürünün üretiminin dizaynından, raf ömrünün sonuna kadar geçen süreçteki tüm bu aşamalarda hata riskini en aza indirmeyi ve kullanım amacına uygun üretim yapmayı sağlamak üzere iyi üretim uygulamaları (Good manufacturing practise=GMP) kavramı ortaya çıkmış olup gerek dünyada gerekse ülkemizde, özellikle ilaç yada kozmetik gibi ürünlerde kaliteyi oluşturmak için başarıyla uygulanmaktadır.

Üreticinin GMP kurallarına uygun, mikrobiyal kontaminasyona izin vermeyecek şekilde ürettiği kozmetik ürünlerin, kullanım sırasında kontaminasyona uğramaması da oldukça önemlidir. Bu amaçla tüketicilerin, hijyen kurallarına ve kullanım talimatlarına uygun şekilde ürünleri kullanması ve muhafaza etmeleri altın standart olmakla birlikte, riski en aza indirmek ve raf ömrü boyunca ürünün kontamine olmasını engellemek amacıyla formülasyona çeşitli koruyucu maddeler de eklenebilmektedir (1).

2.5.1. İyi İmalat Uygulamaları (GOOD MANUFACTURING PRACTICE) (GMP)

Gerek tüketici sağlığının, gerekse üreticinin maddi çıkarları ile marka değerlerinin korunması amacıyla, her türlü kozmetik ürünün üretim sürecinde, kontaminasyonların engellenmesi ve bu ürünlerin kaliteli, etkin ve güvenilir şekilde üretilmesi sağlanmalıdır. Bu amaçla hammadde ve ambalaj malzemesinden başlayıp, ürünün tüketiciye ulaşmasına kadar geçen süreçte uyulması gereken kurallar bütünü olarak da tanımlanabilen GMP'nin temel amacı sıfır hata, temel hedefi ise kalitede sürekliliğin sağlanmasıdır (23).

Bu Uluslararası Standart; ilaç, kozmetik, gıda üretimi yapan firmalar için hazırlanan kalite faaliyetlerinin ve sonuçlarının uygunluğunun denetlenmesini sağlayan sistemli ve bağımsız bir uygulamadır. GMP sertifikasıyla üretim yapan firmalar kendi standartlarını oluşturup bunları kontrol altına almalıdır. Tüketicilerin temel ihtiyaçlarından olan kişisel hijyen amacıyla kullanılan kozmetikler sınıfında ise, bebekler için üretilen ürünlerin uygunluğu ayrıca önem arz etmektedir. Bu standart ile üretilen ürünler, insan sağlığına hiçbir olumsuz etki göstermeden, gerekli etkinliği sağlayacak en uygun şartlarda ve tesislerde üretilmelidir.

GMP sertifikasına sahip kozmetiklerin üretildiği alanlardaki üretim ekipmanları, üretim personelleri, giriş-çıkış alanları, depo alanları, kalite sistemi, dokümantasyon, eğitimler, cihaz kalibrasyonları, geri çağırma, şahit numune odaları, sıcaklık-nem ölçümleri ve haşere kontrol kayıtlarına özellikle dikkat edilmelidir. Kozmetik üreticisi, GMP kurallarına ve Mikrobiyolojik Kalite Yönetimine uyarak ürünlerin patojen mikroorganizma içermeyecek şekilde üretilmiş olmasını sağlamalı ve gerekirse özel temizleme, sanitasyon ve kontrol prosedürlerini tanımlayarak uygulamalıdır.

GMP, kaliteli üretim ve tüketiciye ürünün sağlıklı şekilde ulaştırılmasını sağlamanın yanısıra uluslararası ticarete yasal gerekliliklerin yerine getirilmesinde de kolaylık sağlamakta ve gerek kamuoyunda gerekse firma içinde ürün güvenliği bilincini arttırmaktadır. Ayrıca GMP'ye uygun üretim yapan firmalar, sektör içinde pozitif ayrılmakta ve bu durum kalitenin artması yönündeki firmalar arası rekabeti de arttırmaktadır. Bu şekilde GMP sistemi ile gerek yetişkinler gerekse kalitenin çok daha öncelikli olduğu bebekler için piyasada bulunan ve çeşitli amaçlar için kullanılan kozmetik ürünlerin daha güvenli olmalarını ve bu ürünlerin kullanıcıya zarar vermeden işlevini yerine getirmesini sağlamaktadır. Bu sistem ile birlikte kozmetik ürünlerin, merdiven altı olarak da tabir edilen işletmelerce ve gerekli GMP standartlarını

karşılamaksızın, uygun olmayan şartlardaki üretiminin engellenmesi ve kurallara uygun üretim yapan işletmelerin çalıştırılması sağlanabilmektedir.

2.5.2. Koruyucular

Koruyucular; kozmetikler, ilaçlar, gıdalar gibi kolaylıkla mikroorganizma kontaminasyonuna uğrayabilme potansiyeline sahip tüketim ürünlerine eklenerek raf ömrü boyunca hem ürünü bozulmaya hem de tüketiciyi enfeksiyonlara karşı korumak amacıyla kullanılan biyosidal kimyasallardır (24). Birçok kozmetik üründe kullanılan ve çeşitli etki mekanizmaları ile mikroorganizmalara karşı etkili olan doğal yada sentetik birçok koruyucu madde bulunmakta olup her ürün tipine en uygun koruyucunun seçilmesi ve optimum konsantrasyonda kullanılması gerekmektedir.

Kozmetik ürünlerde kullanılabilecek ideal bir koruyucunun aşağıdaki özelliklere sahip olması beklenir.

- a) Çok çeşitli pH ve sıcaklık aralıklarında stabil olmalıdır.
- b) Geniş spektrumlu olup bakteri ve mantarlara karşı etkili olmalıdır.
- c) Formülasyondaki diğer maddelerle uyumlu olmalıdır.
- d) Renksiz, kokusuz ve suda çözünabilir olmalıdır.
- e) Toksik, alerjik yada tahriş edici etkileri olmamalıdır.
- f) Maliyeti düşük olmalıdır (25,26).

Koruyucu olarak kullanılan kimyasal maddelerin antimikrobiyal etki mekanizmaları ve etki spektrumları, hücre içinde etki ettikleri hedeflere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu hedefler; hücre duvarı, stoplazma zarı, protein sentezi yada nükleik asit sentezidir (27). Koruyucular, yüksek konsantrasyonda kullanılmaları durumunda, mikroorganizmalara karşı daha aktif olmakla birlikte toksik etki potansiyelleri de artmakta, buna karşılık düşük konsantrasyonlarda kullanıldıklarında ise hem antimikrobiyal etkinlikleri yetersiz kalmakta, hem de mikrobiyal direnç gelişimine neden olabilmektedirler. Bu nedenle her madde kendisi için belirlenmiş olan optimum konsantrasyonda kullanılmalı ve minimum toksik etki yaparken maksimum antimikrobiyal etkinlik göstermelidir (28).

Mikroorganizmalar, tıpkı antibiyotikler yada diğer antimikrobiyal maddelere olduğu gibi, zamanla koruyuculara karşı da direnç oluşturabilmektedir. Bu direnç

gelişimi genellikle üç ana mekanizmaya dayanmaktadır. Bunlar sırasıyla hedef bölgenin değişimi ve artık inhibitör ile etkileşime girmemesi, koruyucunun mikroorganizma içine giren aktif inhibitör konsantrasyonlarının azaltılması yada koruyucunun enzimatik veya kovalent bağlar yapmak suretiyle inaktivasyonudur. Ayrıca mikroorganizmaların biyofilm oluşturması da dirence neden olan önemli bir diğer mekanizmadır (29).

Kozmetik ürünlerde her zaman geniş spektrumlu koruyucu maddeler kullanılamamakla birlikte, potansiyel kirleticiler olan bakteri ve mantarlara karşı geniş antimikrobiyal etki sağlamak ve sinerji oluşturmak için bazı durumlarda koruyucu maddeler kombinasyon şeklinde de uygulanmaktadır (35).

Kozmetik ürünlerin toksisitesinin değerlendirilmesinde kozmetik ürüne maruziyet, ürünün deriye temas edeceği yüzey alanı, temas bölgesinin özellikleri, uygulanan ürünün miktarı, uygulama süresi ve sıklığı ile öngörülebilir ve öngörülmeyen maruz kalma yolları da dikkate alınmalıdır. Ülkemizde 2012’de Türkiye ilaç ve tıbbi cihaz kurumu (TİTCK) tarafından, kozmetik ürünlerin güvenli kullanımını sağlamak üzere yol göstermek amacıyla, kozmetik ürünlerde güvenlik değerlendirmesine ilişkin kılavuz yayınlanmıştır (30).

Koruyucular tarafından meydana getirilen toksik etkiler arasında ilk sıralarda alerjik reaksiyonlar gelmektedir. Bazı koruyucular, cilt katmanlarını çeşitli maddelere karşı duyarlı hale getirmek suretiyle kontakt dermatit gibi alerik reaksiyonlara neden olabilmektedir (31). Alerjik kontakt dermatit, özellikle de cilt bariyerleri daha hassas olan çocuklarda görülen ve gitgide artan bir sorun haline gelmiştir (32,33). Her ne kadar tartışmalı olsa da son çalışmalar, atopik dermatitli çocukların, diğer alerjenlere karşı da duyarlılık riski taşıyabileceğine dair endişeleri paylaşmaktadır (34).

Kozmetik ürünlerde kullanılacak koruyucuların ürün tipine göre hangi konsantrasyonlarda kullanılabileceği, kullanımlarının sınırlandırıldığı ürünler ve kullanılabilecek kimyasal maddelerin listesi yönetmeliklerde açıklanmıştır. Ülkemizde de konu ile ilgili olarak Sağlık Bakanlığı tarafından 24.03.2005 tarih ve 5324 sayılı Kozmetik Kanunu’nun yedinci maddesine göre hazırlanmış olan kılavuz bulunmaktadır (2).

Kozmetiklerde sıklıkla kullanılan koruyucular Tablo 2.3’te, sık kullanılan koruyucuların antimikrobiyal etki spektrumları ise Tablo 2.4’te özetlenmiştir (36, 37).

Tablo 2-3: Kozmetiklerde en yaygın kullanılan koruyucular

Koruyucu	Etki Spektrumu	Uyumluluk	İnaktive Edenler	Uygun pH
Benzoik asit esterleri,parabenler: Metil paraben Etil paraben Propil paraben Butil paraben	Mantar, Gram pozitif bakteriler	Katyonik	Anyonik, noniyonik, proteinler	<7
İmidazolinidil üre, Diazolinidil üre	Geniş spektrumlu;ancak mantarlara karşı zayıf etkili	Anyonik, noniyonik, katyonik, proteinler	Seyreltme ile etkisiz	4-9
İzotiyazolinonlar (Klorometil izotiyazolinon / metil izotiyazolinon)	Geniş spektrumlu	Anyonik, noniyonik, katyonik	Ağartıcı maddeler ve yüksek pH	4-8
Formaldehit, Dimetiloldimetil hidantoin (DMDM Hidantoin)	Geniş spektrumlu	Anyonik, noniyonik, katyonik	T 0> 600C	4-9
Benzalkonyum klorür	Gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı etkili; küflere karşı zayıf spektrumlu	Noniyonik, katyonik	Anyonik, proteinler, sabunlar	4-9
2-bromo-2-nitropropanol, 3-diol	Geniş spektrumlu	Anyonik, noniyonik, katyonik	Sıcaklık, yüksek pH, sistein, alüminyum	<6

Tablo 2-4: Çeşitli Koruyucuların Antimikrobiyal etki spektrumları

Koruyucu Madde	Bakteriler		Mantarlar	
	Gram pozitif	Gram negatif	Maya	Küf
Benzelkonyum klorid	++	(++)*	(++)	+
Benzetinyum klorid	++	(++)*	(++)	+
Benzoik asit ve tuzları	++	+	+	+
Benzil Alkol	++	+	+	+
Bronopol	(++)	++	+	+
Bütil hidroksianisol	(++)	+	(++)	(++)
Setrimid	++	(++)*	(++)	+
Klorbutanol	++	++	(++)	+
Klorheksidin	++	(++)*	(++)	+
Klorokrezol	++	(++)	+	+
Kresol	(++)	+	+	+
Diazolidinil üre	++	(++)	+	+
EDTA	+	+	+	+
Etanol	++	++	(++)	(++)
İmidiazolidinil üre	(++)	(++)	+	+
Parabenler(metil, etil, propil, butil)	(++)	+	(++)	(++)
Fenol	(++)	+	+	+
Fenoksietanol	(++)	++	+	+
Fenilmerkürük tuzları	++	++*	(++)	+
Propiyonik asit tuzları	+	+		++
Propilen glikol	++	++	(++)	+
Sorbik asit tuzları	+	+	++	(++)
Tiyomersal	++	(++)	(++)	+

++: Etkili, (++): orta etkili, +: zayıf etkili, *,:Pseudomonas spp.'ye karşı zayıf etkili

2.6. Koruyucu Etkinlik Testi

Kozmetik ürünler, kullanım özellikleri gereği formülasyonlarında yer alan bazı bileşenlerden dolayı çeşitli mikroorganizmaların üreyip çoğalmaları için elverişli ortamlar haline gelebilir ve tüketicinin sağlığı açısından ciddi birtakım riskler oluşturabilir. Mikrobiyal kontaminasyonunu ve bunun neticesinde kozmetik ürünlerde bakteri, maya ve küf gibi mikroorganizmaların üreme olasılığını engellemek için, ürünlere koruyucu adı verilen kimyasal maddeler ilave edilmektedir. Geçmiş yıllarda bazı kozmetiklerin kullanımı sonrası görülen çeşitli istenmeyen durumların araştırılması amacıyla yapılan çalışmalarda, çok sayıda kozmetik üründe çeşitli mikrobiyal kontaminasyonlar saptanmıştır. Bunun neticesinde patojen mikroorganizmaların bulunmaması gereken kozmetik ürünlere, uygun koruyucu maddelerin eklenerek ürünün korunmasına ve kontaminasyona izin verilmedem üretim yapılmasına karar verilmiştir.

Koruyucu etkinlik testi, ürünlerde kontaminasyona engel olmak amacıyla eklenmiş olan koruyucu maddenin gerçekten etkili olup olmadığını değerlendirmek için yapılan zorunlu bir test olup bu testin prensibi, bitmiş ürünün yapay olarak kontaminasyona uğratılması ve belirli zaman aralıkları ile örnekler alınarak bu kontaminasyondaki artış yada azalışın değerlendirilmesine dayanır. Diğer bir deyişle koruyucu etkinlik testi, kozmetik ürünün üretim aşamasından başlanarak tüketiciye sunulmasına kadar olan süreç boyunca mikrobiyal kontaminasyon riskine karşı, formüllerine eklenen koruyucu maddeler tarafından korunabileceğine dair güvence vermektedir.

Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik olarak korunmasına yönelik, Avrupa Birliği Komisyonu ile dünyadaki çok sayıda sağlık kuruluşu tarafından gerekli düzenlemeler yapılmıştır. Tekrarlanabilir sonuçlara ulaşmak için bu testteki şartların standartlaştırılması gerektiğinden, Cosmetic Toiletry and Fragrance Association (CFTA), American Society for Testing and Materials (ASTM) ve United States Pharmacopeia (USP) gibi uluslararası klavuzlarda çeşitli test yöntemleri için spesifik organizmalar, besiyerleri, üreme ve saklama koşulları gibi kriterler bulunmaktadır (38). Ayrıca British Pharmacopeia (BP), European Pharmacopeia (EP), Food and Drug administration (FDA) gibi kurumların da koruyucu etkinlik testi ile ilgili, kendilerine ait farklı standartları bulunmaktadır.

Tablo 2.5’de koruyucu etkinlik testlerinde kullanılmakta olan mikroorganizmalar özetlenmiştir (39,38).

Tablo 2-5: Test organizmaları

	Organizma	ATCC Referansı	Diğer referanslar
Bakteri	<i>S. aureus</i>	6538	NCIMB 9518, NCTC 10788 CIP4.83
	<i>P. aeruginosa</i>	9027	NCIMB 8626, CIP82.118
	<i>E. coli</i>	8739	NCIMB 8545, CIP 53.126
Küf	<i>A. niger</i>	16404	IMI 149007, IP 1431.83
Maya	<i>C. albicans</i>	10231	IMI 3179, IP 48.72
	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	None	NCYC 381, IP 2021.92

Koruyucu etkinlik testi uygulanacak olan ürün dışarıdan kontaminasyona uğratıldıktan sonra, içeriğindeki koruyucunun etkinliğini doğru şekilde ölçebilmek ve canlı kalmış olan mikroorganizmaların üremesine izin vermek amacıyla belirlenen zaman aralıklarında örnekler alındığında, koruyucunun antimikrobiyal aktivitesinin durdurulması gerekmektedir. Bu amaçla da her farklı yapıdaki koruyucu için, kendisine uygun olan nötralizan madde kullanılmalıdır. Nötralizan olarak kullanılacak maddenin antimikrobiyal etkiyi tam olarak gidermesinin yanısıra, kendisinin de toksik etkisinin bulunmaması ve mikroorganizma sayısına etki etmemesi son derece önemlidir (38). Bu sebeple uygun olan nötralizanın belirlenmesi için validasyon çalışması yapılmaktadır. Validasyon çalışmasında, incelenecek kozmetik ürünlerin formüllerindeki koruyucuları nötralize edebilecek nötralizan madde hazırlandıktan sonra farmakopede belirtilen test, pepton ve canlılık kontrol deney grupları çalışılarak etkili ve toksik etkisi olmayan nötralizan seçilecektir. Tablo 2.6'da bazı antimikrobiyal maddeler için kullanılacak nötralize edici ajanlar özetlenmiştir (40).

Tablo 2-6: Bazı antimikrobiyal maddeler için nötralize edici ajanlar

Antimikrobiyal ajan	Nötralize edici ajan
Benzoik asit	Dilüsyon yada Tween 80
Bronopol	Sistin hidroklorid
Klorhekzidin	Lubrol W ve yumurta lesitin yada 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 yada Tween 80 ve lesitin
Sülfonamidler	p-aminobenzoik asit

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda piyasadan toplanan ve bebekler için kullanılan çeşitli kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik olarak değerlendirilmesi yapılmış olup bu ürünlerin içeriğindeki koruyucuların etkinliği de incelenmiştir.

3.1. Kozmetik Ürünler

Çalışmamızda, piyasada bulunan dokuz bebek ürün grubu olan şampuanlar, pişik kremleri, pudralar, yağlar, ıslak mendiller, losyonlar, güneş kremleri, diş macunları ve pişik önleyici kremlere ait üçer adet bitkisel/doğal içerikli, ikişer adet ulusal/tanınmış markalı ve ikişer adet de yerel/az bilinen markalı olmak üzere toplam yedişer ürün satın alınarak toplam 63 ürünle çalışılmıştır. Çalışma esnasında her grubu temsilen piyasadan temin edilen 7'şer adet kozmetik ürün 1'den 7'ye kadar numaralandırılmıştır.

3.2. Besiyerleri

3.2.1. Tryptic Soy Broth (TSB)

40 gr toz şeklindeki besiyeri tartılmış, üzerine distile su ilave edilerek hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmış ve içerisine % 1 oranında Tween 80 eklenerek otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril edilmiştir.

3.2.2. Lactose Broth (LB):

13 gr toz şeklindeki besiyeri tartılmış, üzerine distile su ilave edilerek hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmış ve içerisine % 1 oranında Tween 80 eklenerek otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril edilmiştir.

3.2.3. Tryptic Soy Agar (TSA)

40 gr toz şeklindeki besiyeri tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiş ve aseptik şartlarda petri kutularına 10'ar ml dökülmüştür.

3.2.4. Sabouraud Dextrose Agar (SDA):

65 gr toz şeklindeki besiyeri tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiş ve aseptik şartlarda petri kutularına 10'ar ml dökülmüştür.

3.2.5. Mannitol Salt Agar (MSA):

111 gr toz şeklindeki besiyeri tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiş ve aseptik şartlarda petri kutularına 10'ar ml dökülmüştür.

3.2.6. Cetrimide Agar (CET):

45,3 gr toz şeklindeki besiyeri tartıldıktan sonra üzerine distile su ilave edilerek hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmış ve üzerine 10 ml Bacto glycerol eklenip, çözündürülmüştür. Daha sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiş ve aseptik şartlarda petri kutularına 10'ar ml dökülmüştür.

3.2.7. MacConkey Agar (MCA):

50 gr toz şeklindeki besiyeri tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiş ve aseptik şartlarda petri kutularına 10'ar ml dökülmüştür.

3.2.8. Xylose-Lysine-Deoxycholate Agar (XLDA):

57 gr toz şeklindeki besiyeri tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra su banyosunda kaynama sıcaklığının hemen altında ısıtılarak steril hale getirilmiş ve aseptik şartlarda petri kutularına 10'ar ml dökülmüştür.

3.2.9. Dey Engley Neutralizing Agar (D/E):

54 gr toz şeklindeki besiyeri tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Daha sonra otoklavda 121°C'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiş ve aseptik şartlarda petri kutularına 10'ar ml dökülmüştür.

3.3. Çözeltiler

3.3.1. pH 7 Fosfat Tamponu:

4 gr KH_2PO_4 ve 13,6 gr K_2HPO_4 tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. İçerisine % 1 oranında Tween 80 eklenerek otoklavda 121°C 'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiştir.

3.3.2. Steril Fizyolojik Tuzlu Su:

8.5 gr sodium klorür tartılmış, üzerine distile su ilave edilerek çözündürülmüş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Oda ısısında pH 7 değerine ayarlanarak otoklavda 121°C 'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiştir.

3.3.3. Pepton Çözeltisi:

0,8 gr toz şeklindeki pepton tartılarak üzerine distile su ilave edilmiş ve hacminin 80 ml'ye getirilmesi sağlanarak otoklavda 121°C 'de 20 dakika süreyle steril edilmiştir.

3.3.4. Nötralizan:

15 gr lesitin, 150 ml tween 80, 25 gr $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5 gr L-histidin, 1 gr proteaz pepton, 2.92 gr sodyum klorür, 18.16 gr, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ve 3.6 gr KH_2PO_4 tartılmış, üzerine distile su ilave edilerek çözündürülmüş ve hacminin 1000 ml'ye getirilmesi sağlanmıştır. Sıcaklığı oda ısısına getirildikten sonra pH 7 değerine ayarlanarak otoklavda 121°C 'de 20 dakika süreyle steril hale getirilmiştir.

3.4. Tanı Kitleri

Çalışmamızda Gram negatif çomak şeklindeki bakterileri tanımlamak için API 20E ve API 20NE tanı kitlerinden, mayaları tanımlamak için ise API 20C AUX tanı kitinden yararlanılmıştır.

3.5. Diğer Malzemeler

Çalışmamızda yararlandığımız diğer malzemeler; dereceli pipetler, otomatik pipetler ve bunlarda kullanılmak üzere steril hale getirilmiş plastik uçlar, otoklav, Pasteur fırını, terazi, hassas terazi, distile su cihazı, derin dondurucu, McFarland cihazı, etüvler ve kit saklama dolabıdır.

3.6. Kozmetiklerin Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesi

Çalışmamızda kullandığımız kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesinde USP 24'te bildirilen yöntemin önerilerinden yararlanılmıştır (41).

3.6.1. Toplam Aerop Bakteri Sayısı Tespiti

Kozmetik ürünlerin her birinden direk olarak, ıslak mendil kategorisindeki ürünlerde ise aseptik şartlarda sulu kısmı sıkılarak 10'ar gr/ml örnek tartılmış, hazırlanışı 3.3.1 kısmında bildirilen 90 ml pH 7 fosfat tamponu içerisinde iyice karıştırılmış ve petri kutularına 1 ve 0,1'er ml'lik örnekler alınmıştır. Bu örneklerin üzerlerine, hazırlanışı 3.2.3 kısmında açıklanan 15 ml, eritilip 45-50°C'ye soğutulmuş TSA besiyeri eklenerek homojen bir şekilde karıştırılmış ve katılaşması sağlanmıştır. Petri kutuları 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve oluşan koloniler sayılarak ürünlerin gr/ml'sinde bulunan toplam bakteri sayıları hesaplanmıştır.

3.6.2. Toplam Mantar Sayısının Tespiti.

Kozmetik ürünlerin her birinden ayrıca ürünlerin içerisinde yer alan ıslak mendil kategorisindekilerin uygun şartlarda nonwoven solüsyon emdirilmiş sulu kısmı sıkılarak 10'ar gr/ml örnek tartılmış, hazırlanışı 3.3.1 kısmında bildirilen 90 ml pH 7 fosfat tamponu içerisinde iyice karıştırılmış ve petri kutularına 1 ve 0,1'er ml'lik örnekler alınmıştır. Bu örneklerin üzerlerine, hazırlanışı 3.2.4 kısmında açıklanan 15 ml, eritilip 45-50°C'ye soğutulmuş SDA besiyeri eklenerek homojen bir şekilde karıştırılmış ve katılaşması sağlanmıştır. Petri kutuları 25°C'de 5-7 gün inkübasyona bırakılmış ve oluşan koloniler sayılarak ürünlerin gr/ml'de bulunan toplam mantar sayıları hesaplanmıştır.

3.6.3. *Staphylococcus aureus* Varlığının Araştırılması.

Kozmetik ürünlerin her birinden ayrıca ürünlerin içerisinde yer alan ıslak mendil kategorisindekilerin uygun şartlarda nonwoven solüsyon emdirilmiş sulu kısmı sıkılarak 10'ar gr/ml örnek tartılmış, hazırlanışı 3.2.1 kısmında bildirilen 90 ml TSB besiyeri içerisinde iyice karıştırılmış ve 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün oluşan sıvı kültürden bir öze dolusu alınarak hazırlanışları 3.2.5 kısmında açıklanan MSA besiyerinin yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37°C'de bir gecelik inkübasyonun sonunda MSA besiyerinde üreyen sarı zonlu sarı renkteki koloniler olası *S. aureus* olarak değerlendirmeye alınmıştır.

3.6.4. *Pseudomonas aeruginosa* Varlığının Araştırılması

Kozmetik ürünlerin her birinden ayrıca ürünlerin içerisinde yer alan ıslak mendil kategorisindekilerin uygun şartlarda nonwovena solüsyon emdirilmiş sulu kısmı sıkılarak 10'ar gr/ml örnek tartılmış, hazırlanışı 3.2.1 kısmında bildirilen 90 ml TSB besiyeri içerisinde iyice karıştırılmış ve 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün oluşan sıvı kültürden bir öze dolusu alınarak hazırlanışı 3.2.6 kısmında açıklanan CET besiyerinin yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37°C'de bir gecelik inkübasyonun sonunda CET besiyerinde üreyen yeşilimsi renkli koloniler olası *P. aeruginosa* olarak değerlendirmeye alınmıştır.

3.6.5. *Escherichia coli* Varlığının Araştırılması

Kozmetik ürünlerin her birinden ayrıca ürünlerin içerisinde yer alan ıslak mendil kategorisindekilerin uygun şartlarda nonwovena solüsyon emdirilmiş sulu kısmı sıkılarak 10'ar gr/ml örnek tartılmış, hazırlanışı 3.2.2 kısmında bildirilen 90 ml LB besiyeri içerisinde iyice karıştırılmış ve 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün oluşan sıvı kültürden bir öze dolusu alınarak hazırlanışları 3.2.7 kısmında açıklanan MCA besiyerinin yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37°C'de bir gecelik inkübasyonun sonunda MCA besiyerinde üreyen tuğla kırmızısı renkli koloniler olası *E. coli* olarak değerlendirmeye alınmıştır.

3.6.6. *Salmonella* Türlerinin Varlığının Araştırılması

Kozmetik ürünlerin her birinden ayrıca ürünlerin içerisinde yer alan ıslak mendil kategorisindekilerin uygun şartlarda nonwovena solüsyon emdirilmiş sulu kısmı sıkılarak 10'ar gr/ml örnek tartılmış, hazırlanışı 3.2.2 kısmında bildirilen 90 ml LB besiyeri içerisinde iyice karıştırılmış ve 37°C'lik etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra oluşan sıvı kültürden bir öze dolusu alınarak hazırlanışları 3.2.8 kısmında açıklanan XLDA besiyerinin yüzeyine azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır. 37°C'de bir gecelik inkübasyonun sonunda XLDA besiyerinde üreyen kırmızı siyah renkli koloniler olası *Salmonella* türü olarak değerlendirmeye alınmıştır.

3.7. Mikroorganizmaların tanımlanması

Kozmetiklerin mikrobiyolojik incelenmesi sonucunda üreyen şüpheli koloniler, öncelikle Gram boyama yöntemi ile boyanarak mikroskopta incelenmiş ve saf kültür elde etmek üzere TSA besiyerine ekilmiştir.

Gram negatif çomak şeklinde oldukları tespit edilen bakteriler için öncelikle oksidaz testi yapılmış, oksidaz pozitif olan suşlar API 20 NE, oksidaz negatif olanlar ise API 20 E tanı kiti ile tanımlanmıştır. Gram pozitif kok şeklinde oldukları tespit edilen bakterilerin tanımı için stafilaz testi yapılmış, maya şeklindeki mantarların tanınması için ise API C AUX tanı kiti kullanılmıştır.

Stafilaz testi: Bakterilerin TSA besiyerindeki 24 saatlik saf kültüründen birer öze dolusu alınarak, temiz bir lam üzerindeki fibrinojenle hassaslaştırılmamış eritrosit süspansiyonu içeren kontrol ve fibrinojenle hassaslaştırılmış eritrosit süspansiyonu içeren test çözeltileri ile karıştırılmıştır. Birkaç dakika içinde kontrolde herhangi bir çökme olmazken test süspansiyonunda çökme görülmesi, pozitif olarak kabul edilmiştir (42). Deneyde pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 6538 suşu kullanılmıştır.

Oksidaz testi: Bakterilerin TSA besiyerindeki 24 saatlik saf kültüründen birer öze dolusu alınarak, % 1 oranında N,N-dimetil-p-fenilen diamin çözeltisi emdirilmiş filtre kağına sürülmüştür. Filtre kağıdının üzerinde, 10-60 saniye içinde koyu mavi/mor renk oluşması pozitif olarak kabul edilmiştir (43). Deneyde pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 9027 suşu kullanılmıştır.

API 20 E: Gram negatif çomak şeklinde oldukları tespit edilen ve oksidaz testi negatif bulunan suşların tanımlanması API 20 E tanı kiti ile yapılmıştır. Bu amaçla TSA besiyerindeki bir gecelik saf bakteri kültürlerinden, hazırlanışı 3.3.4 bölümünde açıklanan steril fizyolojik tuzlu su kullanılarak McFarland cihazı yardımıyla yaklaşık 1×10^8 kob/ml'lik (0.5 McFarland) bakteri süspansiyonları elde edilmiştir. Hazırlanan bu süspansiyonlar API 20 E kitinin uygulama talimatlarına uygun şekilde inoküle edildikten sonra 37°C'lik etüvde 24 saat inkübe edilmiş ve sonuçlar API veritabanına girilerek bakterilerin tanısı yapılmıştır.

API 20 NE: Gram negatif çomak şeklinde oldukları tespit edilen ve oksidaz testi pozitif bulunan suşların tanımlanması API 20 NE tanı kiti ile yapılmıştır. Bu amaçla TSA besiyerindeki bir gecelik saf bakteri kültürlerinden, hazırlanışı 3.3.4 bölümünde açıklanan steril fizyolojik tuzlu su kullanılarak McFarland cihazı yardımıyla yaklaşık 1×10^8 kob/ml'lik (0.5 McFarland) bakteri süspansiyonları elde edilmiştir. Hazırlanan bu süspansiyonlar API 20 NE kitinin uygulama talimatlarına uygun şekilde inoküle edildikten sonra 30-35°C'lik etüvde 24-48 saat inkübe edilmiş ve sonuçlar API veritabanına girilerek bakterilerin tanısı yapılmıştır.

API 20 C AUX: Gram boyama sonucunda maya şeklinde mantar oldukları tespit edilen suşların tanımlanması API 20 C AUX tanı kiti ile yapılmıştır. Bu amaçla SDA besiyerindeki 24-48 saatlik saf maya kültürlerinden, hazırlanışı 3.3.4 bölümünde açıklanan steril fizyolojik tuzlu su kullanılarak yaklaşık 2 McFarland bulanıklığında süspansiyonları elde edilmiştir. Hazırlanan bu maya süspansiyonları API 20 C AUX kitinin uygulama talimatlarına uygun şekilde inoküle edildikten sonra 25-30°C'lik etüvde 48-72 saat inkübe edilmiş ve sonuçlar API veritabanına girilerek maya şeklindeki mantarların tanısı yapılmıştır.

3.8. Koruyucu Etkinliklerinin İncelenmesi

Çalışmamızda kullandığımız kozmetik ürünlerin içerisinde bulunan koruyucu maddelerin etkinliği, USP 24'te bildirilen esaslara göre incelenmiştir. Bu test yöntemine göre kullandığımız mikroorganizmalar *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* ATCC 10231 ve *A. niger* ATCC 16404 standart suşlarıdır (44).

3.8.1. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan bakteri süspansiyonlarını hazırlamak üzere -80°C'lik derin dondurucuda saklanan bakteri suşları, azaltma yöntemiyle TSA besiyerine ekilerek 37°C'deki bir gecelik kültürleri elde edilmiştir. Ertesi gün elde edilen tek düşmüş kolonilerden, hazırlanışı 3.3.4 kısmında açıklanan fizyolojik tuzlu su çözeltisi içinde, McFarland cihazı yardımıyla yaklaşık 1×10^8 kob/ml'lik süspansiyonlar hazırlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan bir maya mantarı olan *C. albicans*'ın SDA besiyerinde azaltma yöntemiyle elde edilen bir gecelik tek düşmüş kolonilerinin, McFarland cihazı yardımıyla, hazırlanışı 3.3.4 kısmında açıklanan fizyolojik tuzlu su çözeltisi içinde, süspande edilmesiyle yaklaşık 1×10^7 kob/ml'lik süspansiyonu hazırlanmıştır. Küf şeklinde bir mantar olan *A. niger* süspansiyonunu hazırlamak için ise SDA besiyerinde, 25°C'de 5-7 günlük inkübasyon sonunda elde edilen sporlar, aseptik şartlarda hazırlanışı 3.3.4 kısmında açıklanan fizyolojik tuzlu su çözeltisi içinde toplanarak sayılmış ve 1×10^7 kob/ml'ye ayarlanmıştır.

3.8.2. Nötralizan Seçilmesi

Koruyucu etkinlik testinde kullanılacak en uygun nötralizan çözeltisinin belirlenmesi amacıyla validasyon çalışmaları yapılmış ve tüm ürünlerdeki koruyuculara karşı en etkili olup, mikroorganizmalara karşı toksik etkisi bulunmayan nötralizan seçilmiştir (45). Bu amaçla, çalışılan tüm ürünlerin içerisinde bulunan koruyucu maddeleri nötralize edebilecek nötralizan maddelerin farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlandıktan sonra test, pepton ve canlılık gruplarında farmakopede bildirilen validasyonlar yapılmış ve en uygun formül belirlenmiştir.

Test deney grubu: Kozmetik ürünlerin 1 ml'si, 9 ml nötralizan ile karıştırılarak 10 dakika beklenmiş, üzerine hazırlanışı 3.8.1 bölümünde açıklanan mikroorganizma süspansiyonlarından son konsantrasyon 1×10^4 kob/ml olacak şekilde 1'er ml ilave edilerek 10 dakika daha bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda hazırlanan karışımlardan 1'er ml örnek alınarak bakteriler ve maya mantarı için eritilip 45-50°C'ye soğutulmuş, hazırlanışları 3.2.3 ve 3.2.9 bölümlerinde açıklanan TSA ve D/E agar besiyerleri ile karıştırılarak katılaşmaları beklenmiş ve 37°C'de üç gün, *A. niger* için ise hazırlanışı 3.2.4 bölümünde açıklanan SDA besiyeri ile karıştırılarak katılaşması beklenmiş ve 25°C'de beş gün inkübasyona bırakılarak oluşan koloniler sayılmıştır.

Pepton deney grubu: Bir ml % 0.1'lik, hazırlanışı 3.3.5 bölümünde açıklanan steril pepton çözeltisi, 9 ml nötralizan ile karıştırılarak 10 dakika beklenmiş, üzerine hazırlanışı 3.8.1 bölümünde açıklanan mikroorganizma süspansiyonlarından son konsantrasyon 1×10^4 kob/ml olacak şekilde 1'er ml ilave edilerek 10 dakika daha bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda hazırlanan karışımdan 1 ml alınarak bakteriler ve maya mantarı için eritilip 45-50°C'ye soğutulmuş, hazırlanışları 3.2.3 ve 3.2.9 bölümlerinde açıklanan TSA ve D/E agar besiyerleri ile karıştırılarak katılaşması beklenmiş ve 37°C'de üç gün, *A. niger* için ise hazırlanışı 3.2.4 bölümünde açıklanan SDA besiyeri ile karıştırılarak katılaşması beklenmiş ve 25°C'de beş gün inkübasyona bırakılarak oluşan koloniler sayılmıştır.

Canlılık kontrol deney grubu: 10 ml hazırlanışı 3.3.4 bölümünde açıklanan steril fizyolojik tuzlu su üzerine hazırlanışı 3.8.1 bölümünde açıklanan mikroorganizma süspansiyonlarından son konsantrasyon 1×10^4 kob/ml olacak şekilde 1'er ml ilave edilerek 10 dakika bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda hazırlanan karışımdan 1 ml alınarak bakteriler ve maya mantarı için eritilip 45-50°C'ye soğutulmuş, hazırlanışları

3.2.3 ve 3.2.9 bölümlerinde açıklanan TSA ve D/E agar besiyerleri ile karıştırılarak katılaşması beklenmiş ve 37°C’de üç gün, *A. niger* için ise hazırlanışı 3.2.4 bölümünde açıklanan SDA besiyeri ile karıştırılarak katılaşması beklenmiş ve 25°C’de beş gün inkübasyona bırakılarak oluşan koloniler sayılmıştır.

Yapılan validasyon çalışmaları sonucunda, nötralizanın toksisitesini belirlemek amacıyla pepton deney grubunda bulunan mikroorganizma sayısı, canlılık deney grubunda bulunan mikroorganizma sayısına bölündüğünde elde edilen değerin 0,7’den büyük olması gerekmektedir. Nötralizan etkinliğini belirlemek amacıyla ise test deney grubunda bulunan mikroorganizma sayısı, pepton deney grubunda bulunan mikroorganizma sayısına bölündüğünde elde edilen değerin 0,7’den büyük olması esas alınmıştır (45).

3.8.3. Koruyucu Etkinlik Testinin Yapılışı

Çalışmamızda kullanılan tüm kozmetik ürünlerden, her bir mikroorganizma için aseptik şartlarda 20’şer gr tartılmış ve içerisine son konsantrasyon 1×10^6 kob/ml olacak şekilde, hazırlanışı 3.8.1 bölümünde açıklanan mikroorganizma süspansiyonularından ürün miktarının % 1.0’i oranında eklenerek homojen bir şekilde karışması sağlanmıştır. Hazırlanan karışımlardan deneyin 0., 14. ve 28. günlerinde 1’er ml örnek alınarak üzerlerine 9’ar ml nötralizan çözeltisi eklenmiş, 10 dakika bekletildikten sonra gerekli seyreltmeler yapılarak, bakteriler ve maya mantarı için hazırlanışları 3.2.3 ve 3.2.9 bölümlerinde açıklanan TSA ve D/E agar besiyerleri ile 37°C’de 2 gün, *A. niger* için ise hazırlanışı 3.2.4 bölümünde açıklanan SDA besiyeri ile 25°C’de beş gün inkübasyona bırakılmış ve oluşan koloniler sayılmıştır. Ürünler 14. ve 28. günlerdeki sayım işlemlerine kadar 25°C’lik etüvde muhafaza edilmiştir. Deneyin sonunda bakteri sayılarının 14. günde 0. güne göre minimum iki log azalma göstermesi, 28. günde ise 14. güne göre artış göstermemesi; mantarlarda ise 14. ve 28. günlerde, 0. güne göre artış olmaması esas alınmıştır (44).

4. BULGULAR

Çalışmamızda piyasadan temin ettiğimiz şampuanlar, pişik kremleri, pudralar, yağlar, ıslak mendiller, losyonlar, güneş kremleri, diş macunları ve pişik önleyici kremleri içeren toplam 63 adet bebek kozmetik ürününün mikrobiyolojik olarak incelenmesi sonucunda elde ettiğimiz bulgular bu bölümde paylaşılmıştır.

4.1. Kozmetiklerin Mikrobiyolojik Olarak Değerlendirilmesine Ait Bulgular

4.1.1. Toplam Aerop Bakteri Sayılarına Ait Bulgular

İncelemesini yaptığımız 63 adet kozmetik ürünün dört tanesinin izin verilen toplam bakteri sayısından fazla kontaminant içerdiği belirlenmiştir. Tüm ürünlerdeki bakteri sayımlarına ait sonuçlar Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4-1: İncelenen kozmetiklerde tespit edilen toplam aerob bakteri sayıları

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	Toplam Aerob Bakteri Sayıları (cfu/g-cfu/ml)
Şampuanlar	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Pişik Kremi	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Pudralar	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	5×10^2
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Yağlar	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$\sim 1,1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Islak Mendiller	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$

Tablo 4-1 (devam): İncelenen kozmetiklerde tespit edilen toplam aerop bakteri sayıları

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	Toplam Aerop Bakteri Sayıları (cfu/g-cfu/ml)
Losyonlar	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Güneş Kremeleri	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$\sim 1,1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Diş Macunları	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$2,5 \times 10^4$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Pişik Önleyici Kremeler	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$

4.1.2. Toplam Mantar Sayılarına Ait Bulgular

İncelemesini yaptığımız 63 adet kozmetik üründen bir tanesinin izin verilen toplam mantar sayısından fazla kontaminant içerdiği belirlenmiştir. Tüm ürünlere ait toplam mantar sayımlarına ait sonuçlar Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4-2: İncelenen kozmetiklerde tespit edilen toplam mantar sayıları

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	Toplam Mantar Sayıları (cfu/g-cfu/ml)
Şampuanlar	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	3×10^4
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Pişik Kremleri	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Pudralar	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$
Yağlar	1	$< 1 \times 10^2$
	2	$< 1 \times 10^2$
	3	$< 1 \times 10^2$
	4	$< 1 \times 10^2$
	5	$< 1 \times 10^2$
	6	$< 1 \times 10^2$
	7	$< 1 \times 10^2$

Tablo 4-2 (devam): İncelenen kozmetiklerde tespit edilen toplam mantar sayıları

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	Toplam Mantar Sayıları (cfu/g-cfu/ml)
Islak Mendiller	1	< 1x10 ²
	2	< 1x10 ²
	3	< 1x10 ²
	4	< 1x10 ²
	5	< 1x10 ²
	6	< 1x10 ²
	7	< 1x10 ²
Losyonlar	1	< 1x10 ²
	2	< 1x10 ²
	3	< 1x10 ²
	4	< 1x10 ²
	5	< 1x10 ²
	6	< 1x10 ²
	7	< 1x10 ²
Güneş Kremleri	1	< 1x10 ²
	2	< 1x10 ²
	3	< 1x10 ²
	4	< 1x10 ²
	5	< 1x10 ²
	6	< 1x10 ²
	7	< 1x10 ²
Diş Macunları	1	< 1x10 ²
	2	< 1x10 ²
	3	< 1x10 ²
	4	< 1x10 ²
	5	< 1x10 ²
	6	< 1x10 ²
	7	< 1x10 ²
Pişik Önleyici Kremler	1	< 1x10 ²
	2	< 1x10 ²
	3	< 1x10 ²
	4	< 1x10 ²
	5	< 1x10 ²
	6	< 1x10 ²
	7	< 1x10 ²

4.1.3. Kozmetik Ürünlerde tespit Edilen Mikroorganizmaların Tanımlanmasına Ait Bulgular

İncelenen kozmetik ürünlerde kontaminasyon olarak belirlediğimiz mikroorganizmaların tanımlanması ve özellikle bulunmaması gereken *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *Salmonella* türlerinin varlığının belirlenmesi amacıyla tüm izolatların morfolojik ve biyokimyasal özellikleri incelenmiştir.

4.1.3.1. Gram Pozitif Kok Şeklindeki Bakterilerin Tanımlanmasına Ait Bulgular

Çalışmada kullandığımız 63 adet kozmetik ürünün USP 24 esas alınarak yapılan değerlendirmelerinde, kontaminant olarak tespit edilen ve gerek TSA besiyerinde üreyen gerekse MSA besiyerinde üreyen sarı zonlu sarı renkteki kolonilerden izole edilen Gram pozitif kok şeklindeki bakterilerin ayırıcı tanısı için stafilaz testi ile enzim varlığı incelenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda ürünlerden bir adet pudranın ve bir adet güneş kreminin *S. aureus* ile kontamine olduğu anlaşılmıştır.

4.1.3.2. Gram Negatif Çomak Şeklindeki Bakterilerin Tanımlanmasına Ait Bulgular

Çalışmada kullandığımız 63 adet kozmetik ürünün USP 24 esas alınarak yapılan değerlendirmelerinde, kontaminant olarak tespit edilen ve gerek TSA besiyerinde üreyen, gerekse CET besiyerinde üreyen yeşilimsi renkli, MCA besiyerinde üreyen tuğla kırmızısı renkli ve XLDA besiyerinde üreyen kırmızı siyah renkli kolonilerden izole edilen Gram negatif çomak şeklindeki bakterilerin ayırıcı tanısı için oksidaz testi ile enzim varlığı incelenmiştir. Bu test sonucunda oksidaz pozitif olduğu belirlenen suşların tanısı API 20 NE, oksidaz negatif olanlar ise API 20 E tanı kitleriyle yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'te özetlenmiş olup incelenen ürünlerin hiçbirinde *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *Salmonella* türlerinin bulunmadığı belirlenmiştir.

4.1.3.3. Maya Şeklindeki Mantarların Tanımlanmasına Ait Bulgular

Çalışmada kullandığımız 63 adet kozmetik ürünün USP 24 esas alınarak yapılan değerlendirmelerinde, kontaminant olarak tespit edilen ve gerek TSA gerekse SDA besiyerinde üreyen maya şeklindeki mantarların tanısı API 20 C AUX tanı kitiyle yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.3'te özetlenmiş olup bu sonuçlara göre bir üründe maya şeklinde bir mantar bulunduğu tespit edilmiştir.

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

Kozmetik Ürün Grubu	Örnek No	Belirlenen Mikroorganizmalar
Diş Macunu	4	<i>Enterobacter amnigenus</i>
Şampuan	5	<i>Candida parapsilosis</i>
Şampuan	3	<i>Photobacterium damsela</i>
Pudra	6	<i>Staphylococcus aureus</i>
Güneş Kremi	4	<i>Staphylococcus aureus</i>

4.2. Kozmetik Ürünlerin İçerisinde Bulunan Koruyucuların Etkinliklerinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Çalışmamızda bebekler için kullanılan kozmetik ürünlerinin içerisinde bulunan koruyucuların etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla USP 24 esas alınarak yapılan koruyucu etkinlik testlerinde *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* ATCC 10231 ve *A. niger* ATCC 16404 standart suşları kullanılmıştır. Bu amaçla önce nötralizanların etkinlik ve toksisite kontrolleri yapılmış, ardından en uygun nötralizan kullanılarak deneyler yapılmıştır.

4.2.1. Nötralizana Ait Validasyon Bulguları

Koruyucu etkinlik testlerinde doğru sonuç elde edebilmemiz için gereken en önemli faktörlerden biri olan en uygun nötralizanın belirlenmesi amacıyla nötralizana toksisite ve etkinlik testleri uygulanmıştır.

Nötralizanın çalışılan mikroorganizmalar üzerine toksik etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için çalışılan testte, pepton deney grubundaki mikroorganizma sayısı, canlılık deney grubundaki mikroorganizma sayına bölünmüş ve çıkan sonucun 0,7'den büyük olduğu görülmüştür. Bu sonuç koruyucu etkinlik testinde kullanılacak nötralizanın deneyde çalışılan mikroorganizmalara karşı toksik etkisinin olmadığını göstermektedir.

Nötralizanın yeterince etkili olup olmadığının belirlenmesi için çalışılan testte ise, test deney grubundaki mikroorganizma sayısı, pepton deney grubundaki

mikroorganizma sayısına bölünmüş ve çıkan sonucun 0,7'den büyük olduğu görülmüştür. Bu sonuç, koruyucu etkinlik testinde kullanılacak nötralizanın deneyde kullanılan ürünlerde bulunan tüm koruyucuları nötralize edebildiğini göstermektedir. Nötralizan validasyon deneyinde saptanan değerler Tablo 4.4'te özetlenmiştir.

Tablo 4-4: Nötralizan toksisite testi ve nötralizan etkinlik testi sonuçları

Mikroorganizma	Nötralizan Toksisite Testi	Nötralizan Etkinlik Testi
<i>P. aeruginosa</i>	1,50	1,63
<i>E. coli</i>	1,56	1,82
<i>S. aureus</i>	0,96	1,8
<i>C. albicans</i>	0,71	1,2

4.2.2. Koruyucu Etkinlik Testlerine Ait Bulgular

Çalışmada kullandığımız bebek kozmetik ürün gruplarından pudralar, toz/katı ürünler olmaları ayrıca güneş kremi grubundaki bir ürünün de katı olması nedeniyle bu testin dışında bırakılmış olup diğer 8 kategorideki ürünlerin her birinin *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 8739, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* ATCC 10231 ve *A. niger* ATCC 16404 suşlarına karşı yapılan koruyucu etkinlik testi sonuçları tablo 4.5-4.9'da gösterilmiştir.

4.2.2.1. *P. aeruginosa*'ya karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Ürün gruplarımızdan şampuanlardan bir tanesinin 28. gün sayım sonuçları 14. güne göre azalırken 14. gün sayım sonuçlarının 0. güne göre bir logluk artış gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer bir şampuanda ise 14. gün sayım sonuçları 0. güne göre iki logluk azalma gösterirken 28. gün sonuçlarında 14. güne göre bir artış gözlemlenmiştir. Bir güneş kreminde 14. gün sonuçlarında 0. güne göre iki logluk azalış görülmesine rağmen 28. günde 14. güne göre dört logluk artış tespit edilmiştir. Bir diş macununda ise 14. günde 0. güne göre birbirine yakın değerler bulunmuş, 28. günde ise 14. güne göre artış tespit edilmiştir. Yağlardan birinde 14. günde 0. güne göre iki logluk azalış olmasına rağmen 28. günde 14. güne göre artış tespit edilmiştir. Diğer bir bebe yağında da 14. günde 0 güne göre bir logluk azalış olup 28. günde ise 14. güne göre artış belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, incelediğimiz 55 kozmetik üründen

altı tanesinde bulunan koruyucuların *P. aeruginosa*'ya karşı etkisiz olduğu belirlenmiş olup, yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular Tablo 4.5'te özetlenmiştir.



Tablo 4-5: *P. aeruginosa*^ya karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Şampuanlar	1	$3,22 \times 10^8$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,22 \times 10^8$	3×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,22 \times 10^8$	$3,1 \times 10^4$	$1,41 \times 10^5$	9×10^4
	4	$4,40 \times 10^8$	$5,4 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$4,40 \times 10^8$	$0,9 \times 10^5$	$3,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^4$
	6	$3,22 \times 10^8$	5×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,22 \times 10^8$	1×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Kremleri	1	$3,24 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,24 \times 10^8$	1×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$11,8 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$11,8 \times 10^8$	$6,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	8×10^8	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$11,8 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	8×10^8	$1,05 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yağlar	1	$11,8 \times 10^8$	$2,1 \times 10^3$	5×10^1	$< 1 \times 10^1$
	2	$11,8 \times 10^8$	$3,7 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$11,8 \times 10^8$	$3,4 \times 10^4$	$3,9 \times 10^2$	8×10^2
	4	$11,8 \times 10^8$	3×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$11,8 \times 10^8$	$4,1 \times 10^4$	2×10^2	$< 1 \times 10^1$
	6	$11,8 \times 10^8$	6×10^3	$1,4 \times 10^2$	$2,7 \times 10^3$
	7	$11,8 \times 10^8$	$6,7 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Islak Mendiller	1	$18,7 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$18,7 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$18,7 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$18,7 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$18,7 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$18,7 \times 10^8$	$\sim 1,28 \times 10^5$	3×10^1	$< 1 \times 10^1$
	7	$4,40 \times 10^8$	$2,4 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

Tablo 4-5 (devam): *P. aeruginosa*^ya karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Losyonlar	1	$11,8 \times 10^8$	$2,8 \times 10^4$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
	2	$18,7 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,24 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,24 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$11,8 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$18,7 \times 10^8$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$11,8 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Güneş Kremleri	1	$3,22 \times 10^8$	$4,7 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,24 \times 10^8$	2×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	8×10^8	$5,5 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$\sim 1 \times 10^5$
	4	8×10^8	9×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,24 \times 10^8$	2×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	8×10^8	$\sim 8,7 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Diş Macunları	1	8×10^8	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$11,8 \times 10^8$	$1,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,24 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	8×10^8	$3,1 \times 10^4$	$\sim 6 \times 10^4$	$\sim 1,5 \times 10^5$
	5	$11,8 \times 10^8$	$2,22 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,24 \times 10^8$	4×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	8×10^8	6×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Önleyici Kremler	1	$11,8 \times 10^8$	$\sim 4,22 \times 10^5$	1×10^3	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,24 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$11,8 \times 10^8$	1×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,24 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$11,8 \times 10^8$	$\sim 1 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	8×10^8	$2,8 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	8×10^8	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

4.2.2.2. *E. coli*'ye karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Çalıştığımız ürün gruplarından şampuanlarda yer alan bir ürünün 28. gün sayım sonuçları 14. güne yakın bulunmuş olmasına rağmen 14. gün sayım sonuçlarının 0. güne göre en az bir logluk azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Şampuanlardan diğer bir ürünün 14. gün sayım sonuçları 0. güne göre iki logluk azalma gösterirken 28. gün sonuçlarında 14. güne göre bir artış gözlemlenmiştir. Bir güneş kreminde 14. gün sonuçlarında 0. güne göre en az dört logluk azalış görülmesine rağmen 28. günde 14. güne göre dört logluk artış tespit edilmiştir. Bir adet diş macununda ise 14. günde 0. Ve 28. günlerle birbirine yakın değerler bulunmuştur. Bir bebe yağı ürününde 28. günde 14. güne göre azalış görülmesine rağmen 14. günde 0 güne göre azalış tespit edilmemiş birbirine yakın değerler bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, incelediğimiz 55 kozmetik üründen beş tanesinde bulunan koruyucuların *E. coli*'ye karşı etkisiz olduğu belirlenmiş olup, yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular Tablo 4.6'da özetlenmiştir.

Tablo 4-6: *E. coli*'ye karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Şampuanlar	1	20×10^8	1×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	20×10^8	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	20×10^8	$4,08 \times 10^5$	$7,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$
	4	$3,36 \times 10^8$	$0,2 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,36 \times 10^8$	$0,4 \times 10^5$	$3,7 \times 10^3$	$5,5 \times 10^4$
	6	20×10^8	3×10^1	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	7	20×10^8	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Kremleri	1	$2,46 \times 10^8$	$1,9 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$2,46 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,47 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$1,47 \times 10^8$	3×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$2,65 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$1,47 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$2,65 \times 10^8$	2×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yağlar	1	$4,61 \times 10^8$	$1,5 \times 10^3$	4×10^1	1×10^1
	2	$4,61 \times 10^8$	$4,9 \times 10^4$	3×10^1	$< 1 \times 10^1$
	3	$4,61 \times 10^8$	2×10^2	$1,1 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$
	4	$4,61 \times 10^8$	3×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$4,61 \times 10^8$	$3,3 \times 10^4$	$\sim 9 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$
	6	$4,61 \times 10^8$	$\sim 4,68 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$4,61 \times 10^8$	$1,3 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Islak Mendiller	1	$3,92 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,92 \times 10^8$	$7,6 \times 10^4$	6×10^2	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,92 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,92 \times 10^8$	$5,9 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,92 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,92 \times 10^8$	$\sim 3,90 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,36 \times 10^8$	$1,4 \times 10^6$	$1,2 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$

Tablo 4-6 (devam): *E. coli*'ye karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Losyonlar	1	$4,61 \times 10^8$	$2,24 \times 10^5$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,92 \times 10^8$	$\sim 2,65 \times 10^5$	3×10^1	$< 1 \times 10^1$
	3	$2,46 \times 10^8$	$\sim 5,64 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$2,46 \times 10^8$	$2,02 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,47 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,92 \times 10^8$	3×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$1,47 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Güneş Kremeleri	1	20×10^8	$\sim 7,32 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$2,46 \times 10^8$	$\sim 2,94 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$2,65 \times 10^8$	1×10^5	$< 1 \times 10^1$	$\sim 1,01 \times 10^5$
	4	$2,65 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$2,46 \times 10^8$	$1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$2,65 \times 10^8$	$1,1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Diş Macunları	1	$2,65 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$1,47 \times 10^8$	$1,93 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$2,46 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$2,65 \times 10^8$	1×10^5	$\sim 8 \times 10^4$	$\sim 6 \times 10^4$
	5	$1,47 \times 10^8$	$\sim 1,156 \times 10^6$	$\sim 3 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$
	6	$2,46 \times 10^8$	$1,8 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$2,65 \times 10^8$	$7,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Önleyici Kremeler	1	$1,47 \times 10^8$	$\sim 2,34 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$2,46 \times 10^8$	$\sim 2 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,47 \times 10^8$	8×10^3	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
	4	$2,46 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,47 \times 10^8$	1×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$2,65 \times 10^8$	$4,9 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$2,65 \times 10^8$	1×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

4.2.2.3. *S. aureus*'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Ürün gruplarımızdan şampuanlardan bir ürünün 28. gün sayım sonuçları 14. güne yakın bulunmuş olmasına rağmen 14. gün sayım sonuçlarının 0. güne göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bir diğer şampuan ürününün 14. gün sayım sonuçları 0. güne göre iki logluk azalma gösterirken 28. gün sonuçlarında 14. güne göre bir artış gözlemlenmiştir. Bir diş macunu ürününde ise 14. gün ve 0. gün sayım sonuçları birbirine yakın bulunurken 28. günde ise 14. güne artış görülmüştür. Bir adet güneş kremi ürününde ise 14. gün sonuçlarında 0. güne göre en az iki logluk azalış görülmesine rağmen 28. günde 14. güne göre üç logluk artış tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, incelediğimiz 55 kozmetik üründen dört tanesinde bulunan koruyucuların *S. aureus*'a karşı etkisiz olduğu belirlenmiş olup, koruyucu etkinlik testine ait bulgular Tablo 4.7'de özetlenmiştir.

Tablo 4-7: *S. aureus*'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Şampuanlar	1	$8,3 \times 10^7$	$3,8 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	2	$8,3 \times 10^7$	$6,5 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$8,3 \times 10^7$	$3,4 \times 10^4$	9×10^4	$7,4 \times 10^4$
	4	$1,62 \times 10^8$	$0,5 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,62 \times 10^8$	$0,1 \times 10^5$	$5,7 \times 10^3$	$5,9 \times 10^4$
	6	$8,3 \times 10^7$	5×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$8,3 \times 10^7$	1×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Kremleri	1	$1,54 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$1,54 \times 10^8$	1×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,52 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$1,52 \times 10^8$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,72 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$1,52 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$1,72 \times 10^8$	1×10^5	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Yağlar	1	$4,81 \times 10^8$	3×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$4,81 \times 10^8$	4×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$4,81 \times 10^8$	2×10^3	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
	4	$4,81 \times 10^8$	1×10^3	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	5	$4,81 \times 10^8$	$1,2 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	6	$4,81 \times 10^8$	6×10^3	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	7	$4,81 \times 10^8$	$1,8 \times 10^4$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
Islak Mendiller	1	$1,83 \times 10^8$	6×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$1,83 \times 10^8$	$1,18 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,83 \times 10^8$	$1,8 \times 10^3$	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
	4	$1,83 \times 10^8$	1×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,83 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$1,83 \times 10^8$	$\sim 1,66 \times 10^5$	1×10^1	1×10^1
	7	$1,62 \times 10^8$	$0,4 \times 10^6$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

Tablo 4-7 (devam): *S. aureus*'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Losyonlar	1	$4,81 \times 10^8$	6×10^4	4×10^1	$< 1 \times 10^1$
	2	$1,83 \times 10^8$	$4,3 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,54 \times 10^8$	$\sim 3,14 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$1,54 \times 10^8$	$1,85 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,52 \times 10^8$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$1,83 \times 10^8$	$\sim 1,65 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$1,52 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Güneş Kremeleri	1	$8,3 \times 10^7$	$\sim 4,32 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$1,54 \times 10^8$	$7,1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,72 \times 10^8$	5×10^3	$< 1 \times 10^1$	$\sim 6 \times 10^4$
	4	$1,72 \times 10^8$	5×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,54 \times 10^8$	$7,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$1,72 \times 10^8$	6×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Diş Macunları	1	$1,72 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$1,52 \times 10^8$	$2,12 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,54 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$1,72 \times 10^8$	$2,5 \times 10^4$	$\sim 6 \times 10^4$	$\sim 7 \times 10^4$
	5	$1,52 \times 10^8$	$2,25 \times 10^4$	$3,4 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$
	6	$1,54 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$1,72 \times 10^8$	$2,9 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Önleyici Kremeler	1	$1,52 \times 10^8$	$\sim 3,54 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$1,54 \times 10^8$	$1,2 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$1,52 \times 10^8$	$4,7 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$1,54 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$1,52 \times 10^8$	1×10^3	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
	6	$1,72 \times 10^8$	$4,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$1,72 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

4.2.2.4. *C. albicans*'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Çalışılan ürün gruplarımızdan Şampuanlarda yer alan iki adet ürünün 14. gün ve 28. gün sayım sonuçlarının 0. güne göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bebe yağları grubunda yer alan bir ürünün 14. gündeki sayımları 0. güne göre bir log azalırken 28. gün sayımları ise 0. güne göre bir logluk artış göstermiştir. Bir adet diş macunu ürününde de 14. gündeki sayımlar 0. güne göre yaklaşık dört log azalırken 28. gün sayımları 0. güne göre bir logluk artma göstermiştir. Son olarak pişik önleyici bir ürünün 14. ve 28. gün sayım sonuçlarında 0. güne göre artış olduğu tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, incelediğimiz 55 kozmetik üründen beş tanesinde bulunan koruyucuların *C. albicans*'a karşı etkisiz olduğu belirlenmiş olup, yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular Tablo 4.8'de özetlenmiştir.

Tablo 4-8: *C. albicans*'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Şampuanlar	1	8×10^6	4×10^3	2×10^1	$< 1 \times 10^1$
	2	8×10^6	2×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	8×10^6	$3,9 \times 10^4$	$2,66 \times 10^5$	$5,6 \times 10^4$
	4	8×10^6	$1,15 \times 10^3$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	5	8×10^6	3×10^3	5×10^3	$3,7 \times 10^4$
	6	8×10^6	2×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	8×10^6	$1,6 \times 10^3$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
Pişik Kremleri	1	3×10^6	$2,2 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	3×10^6	1×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	7×10^6	5×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	7×10^6	9×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	4×10^6	$3,8 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	7×10^6	7×10^2	8×10^1	$< 1 \times 10^1$
	7	4×10^6	5×10^3	$\sim 1,63 \times 10^3$	$1,01 \times 10^3$
Yağlar	1	$4,4 \times 10^7$	6×10^1	4×10^1	$< 1 \times 10^1$
	2	$4,4 \times 10^7$	$3,4 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$4,4 \times 10^7$	1×10^2	1×10^2	$\sim 1 \times 10^2$
	4	$4,4 \times 10^7$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$4,4 \times 10^7$	9×10^3	1×10^2	$< 1 \times 10^1$
	6	$4,4 \times 10^7$	1×10^3	1×10^2	$1,5 \times 10^4$
	7	$4,4 \times 10^7$	$1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Islak Mendiller	1	$3,9 \times 10^7$	$2,7 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,9 \times 10^7$	$3,2 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,9 \times 10^7$	$\sim 3,52 \times 10^4$	1×10^2	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,9 \times 10^7$	$3,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,9 \times 10^7$	$1,13 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,9 \times 10^7$	$2,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	8×10^6	$0,4 \times 10^5$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

Tablo 4-8 (devam): *C. albicans*'a karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Losyonlar	1	$4,4 \times 10^7$	$\sim 2,25 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,9 \times 10^7$	$6,5 \times 10^4$	1×10^1	$< 1 \times 10^1$
	3	3×10^6	$1,7 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	3×10^6	$\sim 3,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	7×10^6	$1,1 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,9 \times 10^7$	$\sim 4,76 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	7×10^6	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Güneş Kremleri	1	8×10^6	$1,9 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	3×10^6	$1,4 \times 10^4$	1×10^1	1×10^1
	3	4×10^6	$2,5 \times 10^4$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$\sim 5,1 \times 10^3$
	4	4×10^6	5×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	3×10^6	4×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	4×10^6	2×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Diş Macunları	1	4×10^6	2×10^1	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	7×10^6	1×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	3×10^6	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	4×10^6	4×10^4	$< 1 \times 10^1$	$\sim 1 \times 10^5$
	5	7×10^6	$3,4 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	3×10^6	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	4×10^6	2×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Önleyici Kremeler	1	7×10^6	8×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	3×10^6	$2,3 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	7×10^6	6×10^3	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	3×10^6	$2,7 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	7×10^6	3×10^3	$6,3 \times 10^3$	$8,5 \times 10^3$
	6	4×10^6	1×10^4	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	4×10^6	1×10^2	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

4.2.2.5. *A. niger*'e karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Çalışılan ürün gruplarından bebe yağlarında yer alan iki adet ürünün 14. gün ve 28. gün sayım sonuçlarının 0. güne göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak, incelediğimiz 55 kozmetik üründen iki tanesinde bulunan koruyucuların *A. niger*'e karşı etkisiz olduğu belirlenmiş olup, yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular Tablo 4.9'da özetlenmiştir.



Tablo 4-9: *A. niger*'e karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Şampuanlar	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 6 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,4 \times 10^8$	$\sim 6 \times 10^3$	$\sim 5 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,4 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,4 \times 10^8$	$\sim 5 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Kremeleri	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 3 \times 10^3$	$\sim 1,8 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,4 \times 10^8$	$\sim 9 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$\sim 4,5 \times 10^3$	$\sim 1,8 \times 10^2$
	5	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 3 \times 10^3$	5×10^1	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$\sim 4,36 \times 10^3$	$\sim 1 \times 10^3$
Yağlar	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$\sim 1 \times 10^4$	$\sim 4 \times 10^2$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 2 \times 10^4$	$\sim 1 \times 10^4$	$\sim 2,05 \times 10^3$
	3	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$\sim 1,25 \times 10^3$	$\sim 7 \times 10^2$
	4	$3,4 \times 10^8$	1×10^2	$\sim 5,12 \times 10^3$	$\sim 5 \times 10^3$
	5	$3,4 \times 10^8$	$\sim 7,8 \times 10^2$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$\sim 1 \times 10^4$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 8 \times 10^3$	$\sim 7 \times 10^3$	$\sim 6 \times 10^3$
	7	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$\sim 3,4 \times 10^2$
Islak Mendiller	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 2 \times 10^4$	$\sim 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,4 \times 10^8$	$\sim 2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

Tablo 4-9 (devam): A. niger'e karşı yapılan koruyucu etkinlik testine ait bulgular

Kozmetik Grupları	Örnek Numarası	İnokulum Miktarı (cfu/g-cfu/ml)	Canlı kalan bakteri sayısı (cfu/g-cfu/ml)		
			0.gün	14.gün	28.gün
Losyonlar	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,4 \times 10^8$	$\sim 6 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
Güneş Kremeleri	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,8 \times 10^4$	$\sim 5 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$\sim 6 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,4 \times 10^8$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$\sim 8,5 \times 10^2$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,3 \times 10^4$	8×10^1	$< 1 \times 10^1$
Diş Macunları	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,2 \times 10^4$	$\sim 1 \times 10^4$	$\sim 9 \times 10^3$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 4 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$\sim 2,6 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$
Pişik Önleyici Kremeler	1	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$\sim 8 \times 10^3$	$\sim 2,7 \times 10^3$
	2	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	3	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1 \times 10^4$	$\sim 4 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$
	4	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	5	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,5 \times 10^4$	$\sim 1,4 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$
	6	$3,4 \times 10^8$	$\sim 6 \times 10^3$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	7	$3,4 \times 10^8$	$\sim 1,6 \times 10^4$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$

5. TARTIŞMA

Kozmetik ürünler gerek formülasyonlarına giren maddeler gerekse yapısal özelliklerinden dolayı mikroorganizmaların üremeyip çoğalması için uygun ortamlardır. Daha önce yapılmış olan çalışmalar, kozmetik ürünlerde bulunabilen mikrobiyal kontaminasyonların arasında *Clostridium perfringens*, *C. tetani*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *C. albicans*, *Moraxella*, *Enterobacter* ve *Aspergillus* türlerine rastlandığı tespit edilmiştir (1). Kozmetik ürünlerde bulunabilecek mikroorganizmalar, ürünün bozulmasına sebep olabileceğinden bunu önlemek için üretim sürecinde GMP kurallarının sıkı bir şekilde uygulanmasının yanısıra, ürünü raf ömrü boyunca koruyacak etkili ve tüketici için toksik olmayan koruyucu maddeler belirlenerek kullanılabilir. Bunun için, kozmetik ürünlerin kanun ve yönetmeliklere uygun koşullarda üretiminin sağlanması gerekmektedir. Aksi takdirde piyasada var olan kalitesiz bir kozmetik ürün, tüketici sağlığını riske atabileceği için bakanlık tarafından toplatılıp imha edilmek suretiyle üretici firmaya da maddi yükümlülük getirebilmektedir. Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik açıdan değerlendirmesi yapılırken, üründe kontaminant olarak bulunabilen bakteri, maya ve küf sayımları esas alınmaktadır. TİTCK'nın kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kontrolüne ilişkin kılavuzuna göre; bebekler için kullanılan kozmetik ürünlerin 1 gr ya da 1 ml'sinde en fazla 10^2 kob/ml patojen olmayan mikroorganizma bulunabilir. *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* ya da *E. coli* gibi patojen mikroorganizmalar ise bulunmamalıdır (4).

Çalışmamızda, piyasada bulunan çok sayıdaki kozmetik ürününden bebekler için kullanılanlar seçilmiş ve piyasadan temin ettiğimiz bebek şampuanları, pişik kremleri, pudralar, yağlar, ıslak mendiller, losyonlar, güneş kremleri, diş macunları ve pişik önleyici kremlere ait toplamda 63 adet kozmetik ürün incelenmiştir. Bu bebek ürünlerinde USP 24'de bildirilen yöntemler esas alınarak mikrobiyolojik limit testleri ve koruyucuların etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. İncelediğimiz 63 adet kozmetik ürünün dört tanesinin izin verilen toplam bakteri sayısından bir tanesinin ise izin verilen toplam mantar sayısından fazla kontaminant içerdiği belirlenmiştir.

Yaptığımız mikrobiyolojik limit testine göre sayısal olarak gerekli limitlerin üzerinde mikroorganizma içeren ürünlerin yanısıra birer adet güneş kremi ile pudranın

S. aureus ile kontaminasyona uğradığı, bir adet şampuanda maya şeklinde bir mantar olan *Candida parapsilosis*, diğer bir şampuanda Gram negatif bir bakteri olan *Photobacterium damsela* ve bir adet diş macununda ise *Enterobacter amnigenus* izole edilmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlara göre, içerisinde maya mantarı, Gram negatif çomak şeklinde bakteri yada *S. aureus* bulunan bu ürünler, bebeklerin sağlığı için bir tehdit oluşturmaktadır.

Maya mantarlarından Candida türleri arasında yer alan *C. parapsilosis* insan patojeni olarak tanımlanmaktadır. *Candida* türlerinin patojenitesi genellikle biyofilm oluşturma yetenekleri ile proteaz, fosfolipaz, hemolizin gibi hidrolitik enzimlerden oluşan virülans faktörlerine bağlıdır. Toplumda gitgide artan sıklıkta görülen *Candida* türlerinin sebep olduğu enfeksiyonların yaygınlaşmasında HIV+ vaka sayılarındaki artış, nüfusta var olan yaşlı bireylerin oranının artması, çok sayıda bağışıklık sistemi zayıflamış hasta bulunması gibi nedenler rol oynamaktadır (46). Anerlich ve Korsten (47) tarafından 1996 yılında yapılan bir çalışmada değerlendirilen yüz, el kremlerinin ve vücut losyonlarının % 69 oranında mikroorganizmalarla kontaminasyona uğradığı ve bu ürünlerin *P. aeruginosa*, *C. parapsilosis*, *Enterobacter gergoviae* ve *A. flavus* içerdiği belirlenmiştir. Gerek çalışmamızda gerekse diğer çalışmalarda kullanılan ürünlerden izole edilen *C. parapsilosis* gibi mikroorganizmalar, bu ürünlerin hedef kitlesi olan bebeklerin bağışıklık sistemlerinin yetişkinlere kıyasla daha zayıf olmasından dolayı ciddi bir tehlike yaratabilmektedir.

Çalışmamızda bir üründe saptadığımız *P. damsela*, balıklar, yumuşakçalar, kabuklular ve deniz memelilerinin içinde bulunduğu çeşitli deniz hayvanlarında bulunabilen bir patojen olup, insanlarda da ciddi seyreden yara enfeksiyonlarına sebep olabildiği bildirilmiştir. Çalışmamızda izole edilen diğer bir gram negatif tür olan *Enterobacter*'ler, insanlarda gastrointestinal sistemde bulunabilen bakterilerdir ve genellikle bağışıklık sistemi düşük veya bozulmuş olan hastalarda potansiyel patojen olarak enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalara göre bu bakteri enfeksiyonlarının görüldüğü hastaların daha çok altta yatan kronik hastalığı olan ve sistemik enfeksiyonlara yatkın kişiler oldukları bildirilmiş olup *Enterobacter* türlerinin özellikle de *E. amnigenus*'un insanlarda enfeksiyon oluşturmaları sık rastlanan bir durum değildir (48).

Piyasada bulunan kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kalitelerini belirlemek amacıyla yapılmış çok sayıda çalışma bulunmakta olup bir çoğunda elde edilen sonuçların çalışmamızla benzerlikler içerdikleri görülmüştür. Campana ve ark. (49) tarafından 91 adet ürünün incelendiği bir çalışmada, banyo köpüklerinin % 13.5 sıvı sabunların % 10 şampuanların ise % 6.7 oranlarında *Staphylococcus warneri*, *Pseudomonas putida* ve *S. epidermidis* ile kontaminasyona uğradığı tespit edilmiştir. Okeke ve Lamikanra'nın (50) yaptıkları çalışmada ise piyasadan temin edilen 49 adet kozmetik üründen sekiz adet vücut nemlendiricisinin gram veya mililitresinde 10^3 'den fazla kontaminant bulunduğu ve bunların arasında *E. coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinslerine ait türlerin de yer aldığı belirlenmiştir. Hugbo ve ark.'nın (51) yaptıkları bir başka çalışmada piyasadan satın alınan on adet krem ve losyon incelenmiş ve çoğu üründe 10^3 'den fazla bakteri ve mantar sayısı tespit edildiği ve bu kontaminantlar arasında *S. aureus*, diğer *Staphylococcus* türleri, *Aspergillus fumigatus*, *Microsporium canis* gibi türlere rastlandığı bildirilmiştir. Benzer şekilde kozmetik ürünlerle yapılmış olan çeşitli çalışmalarda da patojen yada fırsatçı patojen sınıfında yer alan bakteri ve mantarlar saptanmıştır (52,53,54).

Mikroorganizmalarla kontamine olmuş kozmetik ürünlerin genellikle üretim aşamasında her bakımdan kaliteli ve sağlıklı ürün üretilmesi için gereken kurallar bütünü olan GMP yani iyi imalat uygulamaları kurallarına uyulmadan üretilmiş ürünler oldukları görülmektedir. GMP'ye uyulmaksızın üretilen ürünlerde bulunan kontaminasyonlar sıklıkla ürünlerin formülasyonlarında ve üretiminde oldukça fazla kullandığımız sudan kaynaklı olabileceği gibi hava, hammadde ve yardımcı maddeler, ambalaj materyali, tesis, depolama, kullanım ve özellikle de personelden de kaynaklanabilmektedir (14). Buna engel olmak üzere yapılabilecek işlemlerin ilk sıralarında yer alan temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerinin en doğru şekilde yürütülebilmesi için uygun temizlik ve sanitizasyon yöntemleri belirlenmeli, alanlara ve ekipmana uygun olarak kullanılacak temizlik ve dezenfeksiyon ajanları tanımlanmalı, yapılan temizlik faaliyetlerine ilişkin açık ve net talimatlar hazırlanmalı ve yapılan tüm işlemlere ait kayıtlar saklanmalıdır (14). Ayrıca kozmetik ürünlerde tüketicilerin kullanımından kaynaklı kontaminasyon görülmesi de oldukça yaygındır. Bunun önüne geçmenin en etkili yolu ise tüketicilerin gerekli hijyen kurallarına ve kullanım talimatlarına uyarak hareket etmeleridir. Kısacası GMP kurallarına uyarak üretim yapılması hem toplum sağlığı hem de firmanın güvenilirliği açısından oldukça önemlidir.

Kozmetik ürünleri kontaminasyondan korumanın GMP kurallarına uymak dışındaki en önemli yollarından bir diğeri ise koruyuculardır. Kozmetiklerin formülasyonlarına eklenen koruyucuların gerek ürünün ve dolayısıyla üreticinin gerekse tüketici sağlığının korunması konularında önemli kullanım amaçları vardır. Bitmiş ürün açısından bakıldığında amaç, kontaminasyon nedeniyle ürünün dış görünüşünde fark edilecek düzeyde koku, renk ve yoğunluk değişimi görülmesinin önüne geçilmesi ve bu nedenle firmanın para ve itibar kaybının engellenmesidir. Tüketiciler açısından bakıldığında ise, kontaminasyona neden olan mikroorganizmanın kendisi yada ürettiği çeşitli toksik maddeler nedeniyle meydana gelebilecek alerji yada enfeksiyon gibi ciddi sağlık sorunlarının engellenmesi amaçlanmaktadır. Örneğin; gözler için kullandığımız kozmetik ürünün kontaminasyonundan kaynaklı bir enfeksiyon körlüğe, açık yarayla temas eden üründen kaynaklı kontaminasyon septisemiye, bağışıklık sistemi zayıf olan tüketicilerin kontamine ürünleri kullanması ise ölümlere dahi sebep olabilmektedir. Bu nedenle kozmetik ürünlerin kullanım amacına ve formülüne en uygun olan koruyucu maddeler ve konsantrasyonları belirlenerek gerekli miktarda kullanılmalıdır.

Kozmetiklerde kullanılabilecek koruyucu maddelerin aktivitelerinin belirlenmesinde en önemli yöntem koruyucu etkinlik testidir. Bu çalışmamızda incelediğimiz 63 adet kozmetik üründen toz haldeki pudralar ve güneş kremi grubundaki bir ürün dışındaki 55 tanesine koruyucu etkinlik testi uygulanmış ve elde edilen sonuçlara göre dokuz ürünün koruyucusunun etkisiz olduğu tespit edilmiştir. Koruyucu etkinlik testlerine göre kontaminasyona karşı etkisiz/korunmasız olarak tespit edilen ürünlerin içerikleri incelendiğinde beş tanesinde koruyucu bulunmadığı, iki tanesinin potasyum sorbat ve sodyum benzoat içerdiği, bir tanesinin fenoksietanol, bir tanesinin de dehidroasetik asit, benzil alkol ve sodyum benzoat içerdiği belirlenmiştir.

Koruyucu bulunmayan beş üründen biri olan şampuanda *C. parapsilosis* ürettiği, üç tane koruyucusuz bebe yağından da birinde toplam bakteri sayısının izin verilen değerden yüksek olduğu, ikisinin ise *A. niger*'e karşı etkisiz olduğu görülmüştür. Ayrıca toz/katı ürün karakteristiği nedeniyle koruyucu etkinlik testi uygulanamayan iki adet pudradan birinde *S. aureus* izole edilmiş, diğesinde ise toplam bakteri sayısının izin verilen limitten fazla olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda, formülünde koruyucu bulunduğu halde koruyucu etkinlik testinde etkisiz olduğu tespit edilen ürünlerden koruyucu olarak sadece fenoksietanol

bulunan güneş kremlerinden birindeki toplam bakteri sayısının limitlerden yüksek olduğu, diğer bir güneş kreminde ise *S. aureus* ürediği tespit edilmiştir. Bu da bize kozmetik ürünlerin formülasyonlarında fenoksietanolün tek başına değil de, bir başka uygun ve etkili koruyucunun daha eklenerek kombinasyon oluşturulması ve sinerjist etki sağlanması gerektiğini göstermiştir. Yapılmış olan bir çalışmada fenoksietanolün metil paraben, bronopol, propil paraben ile kombinasyonunun ve benzoik asit, dehidroasetik asit ile kombinasyonunun etkili olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmanın potasyum sorbat ve sodyum benzoat koruyucularına da diazolinidil üre eklenmesinde daha iyi sonuç vereceği gösterilmiştir (55).

Çalışmamızda incelenen ve formülünde koruyucu olarak potasyum sorbat ve sodyum benzoat içeriğine sahip olan şampuanda *P. damsela*, diş macununda ise *E. amnigenus* izole edilmiştir. Özdemir ve ark. (56) tarafından, koruyucu olarak kullanılan potasyum sorbatın etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada 6,51 g/l'lik konsantrasyonda kullanılan potasyum sorbatın *C. albicans*'ın üremesini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada da benzer şekilde % 9-11 potasyum sorbat, % 18-22 diazolinidil üre ve % 18-22 sodyum benzoattan oluşan üçlü koruyucu kombinasyonunun % 0.20, % 0.60 ve % 1.00'lik konsantrasyonlarda *C. albicans*'ın üremesini durdurduğu belirlenmiştir (55). Gerek bu çalışmalar ve gerekse çalışmamızda elde edilen sonuçlara bakıldığında potasyum sorbatın mayalara karşı iyi aktivite göstermekle birlikte bakterilere karşı aktivitesinin farklı olabileceği tespit edilmiştir.

Kozmetik ürünler ve bunlarda kullanılan çeşitli koruyucuların etkinliklerinin araştırıldığı çalışmalardan birinde doğal kaynaklı ve standart koruyucu olarak kullanılan 13 antimikrobiyal maddenin etkinliği incelenmiş ve propilparaben, metilparaben ve fenoksietanol kombinasyonunun düşük konsantrasyonlarda etkisiz olduğu gözlenmiştir (57). Ayrıca bazı çalışmalarda koruyucu madde miktarının kozmetik kullanımına bağlı alerjik kontakt dermatiti tetikleyebildiği tespit edilmiş olup ülkemizde yapılmış olan bir çalışmada özellikle tiomersal, formaldehit ve benzalkonyum klorürün kontakt dermatit etkeni olduğu belirlenmiştir (58, 59).

Bu bilgiler ve çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında kozmetik ürünlerde kullanılan koruyucunun hem kimyasal yapısının hem de uygulandığı miktarın çok önemli olduğu ve sağlıklı sonuçlar elde etmek için tüm parametrelere dikkat edilmesi gerektiği görülmektedir. Buna karşılık Rastogi'nin (60) 2000 yılında yapmış olduğu bir

çalışmada kozmetik ürünlerin içerisinde bulunması gereken koruyucu madde miktarları HPLC yöntemi ile araştırılmış ve birçok üründeki koruyucu madde miktarlarının maksimum veya minimum limitlerin dışında olduğu hatta bazı ürünlerin belirtilen koruyucu maddeleri içermediği tespit edilmiştir.

Gerek kozmetik gerekse gıda yada ilaç gibi diğer ürün gruplarında koruyucu olarak kullanılması düşünülen bir antimikrobiyal ajanın bakterisidal aktivitesi, belirli bir süre içinde belirli sayıda mikroorganizmayı öldürme/üremesini durdurma kapasitesi ile belirlenir. Bu prensibe dayanarak uygulanmakta olan koruyucu etkinlik testlerinde dikkat edilmesi gereken noktalardan biri de uygun nötralizanın belirlenmesidir. Kullanılan koruyucunun test organizmaları üzerindeki gerçek etkisinin belirlenmesi için reaksiyonun belli zamanlarda durdurulması ve canlı kalan mikroorganizmaların net sayısının belirlenmesi son derece önemlidir. Bu amaçla, farklı koşullar ve farklı amaçlar için kullanılan değişik kimyasal yapılar ve konsantrasyonlardaki koruyucuların etkinliklerinin belirlenmesi sürecinde, her ürün için koruyucuya en uygun olan nötralizanlar seçilmeli ve kullanılmalılardır (61).

Çalışmamızda kullandığımız toplam 63 adet ürünün her biri kendine has formülasyonlara sahip olup bu ürünlerin çoğunda formülasyona uygun koruyucu bulunmaktadır. Koruyucu etkinlik testine başlamadan önce incelenen tüm kozmetik ürünlerin formülasyonlarındaki koruyucular belirlenmiş ve tüm maddelere uygun olan nötralizan çözeltisi ve konsantrasyonu belirlemek üzere gerekli validasyonlar yapılmıştır. Buna göre klavuzda önerilen nötralizanlardan lesitin, tween 80, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, L-histidin, proteaz pepton, sodyum klorür ve tamponlayıcı maddelerden oluşan karışım en uygun nötralizan olarak seçildikten sonra, içerisinde bulunan maddelerin konsantrasyonunun beş kat artırılması gerekmiş ve bu şekilde çalışılan mikroorganizmalara toksik etki göstermeksizin tüm ürünlerimizdeki koruyucuları nötralize eden çözelti hazırlanmıştır. Ayrıca, koruyucu etkinlik testinde canlı kalan mikroorganizmaların sayımı için içerisinde nötralize edici maddeler bulunan, buna karşılık mikroorganizmaların üremesine olumsuz bir etki göstermeyen D/E agar besiyeri kullanılarak ilave nötralizasyon da sağlanmıştır (61, 62).

Yenidoğan bebeklerin ve küçük çocukların ciltleri, henüz tam olarak olgunlaşmamış olmalarından dolayı yetişkinlerin cilt bariyerine kıyasla ince ve narindir. Bu durum bebekleri, vücutlarına temas eden herhangi bir kontamine üründen dolayı

oluşabilecek enfeksiyonlara karşı daha savunmasız yapmaktadır. Özellikle de yenidoğan olarak adlandırılan ve doğum gerçekleştikten sonraki ilk birkaç aylık zaman dilimini kapsayan dönemde, bebeğin dünyaya uyum sağlayabilmesi için vücudu da değişmeye başlar. Bu değişimlerin başında da cilt bariyeri olan derinin tamamlanması gelir ve yaklaşık olarak bu değişim bir yıl kadar devam etmektedir (63). Bu süreçte yenidoğan derisinin yetişkinlere kıyasla kuruluğu daha fazladır ve sıvı-elektrolit düzeyi ile vücut ısısının ayarlanmasında sorunlar yaşanabilmektedir. Bu dönemde epidermis ve dermis tabakalarının uyumunun çok kuvvetli olmaması ve elastik lif sayısının henüz yeterince artmamış olmasından dolayı cilt bariyeri oldukça incedir. Ayrıca Stratum corneum'un geçirgenliği daha fazla olup, epidermal bariyer gelişmemiş ve deriye rengini veren melanin üretimi ile ter bezlerinin işlevinin yoğunluğu oldukça düşüktür (64).

Tüm bu sebeplerden dolayı bebekler için kullanılacak ürünlerin hem içerikleri ve üretim teknikleri, hem de satın alındıktan sonra kullanımları konusunda çok daha fazla özen gösterilmesi gereklidir. Bu bilgilerden yola çıkılarak kozmetik sektöründe de bebeklerin kullanımına sunulan ürünler ayrı bir kategori olarak diğer kozmetiklerden ayrılmakta ve bu ürünlerin hem içerikleri hem de üretimlerinde azami dikkat gösterilmektedir. Bu bağlamda, özellikle de son yıllarda giderek artan şekilde, doğal hammaddelerden üretilen ürünler birçok diğer sektörde olduğu gibi kozmetik sektöründe de pozitif ayrılarak ön plana çıkmaktadır.

Çalışmamızı tasarlarken doğal ürünlere gösterilen bu rağbet de göz önünde bulundurularak belirlediğimiz kategorilerinden satın alacağımız kozmetikleri seçerken piyasada bulunan ikişer adet ulusal/tanınmış markalı ürün, ikişer adet yerel/az bilinen markalı ürün ve üçer adet bitkisel/doğal içerikli ürün tercih edilmiştir. Bu şekilde piyasada bulunan farklı sınıf ve içerikteki ürünlerin mikrobiyolojik kaliteleri konusunda tüketicilere yardımcı olabilmek amaçlanmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre ulusal/tanınmış markalı hiçbir üründe mikrobiyolojik kontaminasyon tespit edilmemiştir. Buna karşılık kontamine olduklarını tespit ettiğimiz ürünlerden beş tanesinin yerel/az bilinen markalı, üç tanesinin ise bitkisel/doğal içerikli ürünler olduğu belirlenmiştir. Ayrıca koruyucu etkinlik testi yapılan ulusal/tanınmış markalı ürünlerin tümünde bulunan koruyucuların tüm test mikroorganizmalarına karşı etkili bulunduğu, buna karşılık yerel/az bilinen markalı ürünlerden beş tanesinin, bitkisel/doğal içerikli

ürünlerden ise dört tanesinin içinde bulunan koruyucularının minimum bir mikroorganizmaya karşı etkisiz oldukları tespit edilmiştir.

Sonuç olarak piyasadan temin ettiğimiz ve oldukça hassas bir grup olan bebekler için kullanılan kozmetik ürünlerden özellikle yerel/az bilinen markalı ve bitkisel/doğal içerikli olan bazılarında izin verilen limitlerin üzerinde mikrobiyal kontaminasyon saptanmıştır. Bunun sebebinin de özellikle içerik ve üretim şartlarının olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle de tüketicilerin sağlığının her zaman için en ön planda tutulması ve her açıdan kaliteli ve güvenilir üretim yapılması konusunda firmaların gerekli olan tüm şartları sağlamasının gerekliliği ve önemi bir kez daha ortaya konulmuştur. Bu şartların sağlanması ise ancak GMP kurallarının tavizsiz şekilde uygulanması ile mümkündür.

Çalışmamızda üzerinde durduğumuz diğer önemli bir parametre de ürünleri mikrobiyolojik kontaminasyondan koruyarak raf ömrünü uzatmak amacıyla formülasyonlara eklenen koruyucuların etkinliklerinin belirlenmesidir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre yine özellikle yerel/az bilinen markalar ve bitkisel/doğal içerikli ürünlerden bazılarında koruyucu bulunmadığı, mevcut olan koruyucuların ise bir kısmının etkinliklerinde en az bir mikroorganizmaya karşı yetersizlikler bulunduğu tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında, tüketici sağlığını riske atmayacak şekilde güçlü bir koruma sağlayabilmek için ürün tipine ve içeriğine en uygun koruyucu maddelerin belirlenmesi ve toksik etki göstermeksizin etkili oldukları en uygun konsantrasyon belirlenerek ürünlere eklenmeleri gerektiği ortaya konulmaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada elde ettiğimiz bulguların hem tüketicilere kozmetik tercihlerini yaparken yardımcı olacağı, hem üretici firmalar için tarafsız ve doğru bilgi kaynağı olabileceği, hem de konu ile ilgili yapılacak bilimsel çalışmalara yön gösterici katkılar sağlayabileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Kıvanç M. Kozmetik ürünlerde mikrobiyal kontaminasyon, 2. Kozmetik Kongresi 2012: Erişim <http://kimyakongreleri.org/K2012/K2012-011.pdf>
2. T.C. Sağlık Bakanlığı. Kozmetik Yönetmeliği. Resmi Gazete, 23 Mayıs 2005, Sayı 25823
3. TC Milli Eğitim Bakanlığı. Güzellik ve Saç Bakım Hizmetleri, Temel Kozmetik. Erişim Tarihi: 07.10.2020. Available from: http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Temel%20Kozmetik.pdf
4. Türkiye ilaç ve tıbbi cihaz kurumu kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kontrolüne ilişkin kılavuz sürüm 1.0
5. Bloomfield SF. Microbial contamination: spoilage and hazard. In: Denyer S, Baird R, eds. The Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals and Medical Devices. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2007, p:23-50.
6. Reid F.R., Wood T.O., 1979, Pseudomonas corneal ulser the causative role of contaminated eye cosmetics, Arch. Ophtalmol. 97,1640-1641.
7. Dawson N.L. and Reinhardt D.J., 1981 Microbial flora of inuse, display eye shadow testers and bacterial challenges of unused eye shadows. Appl. and Environ. Microbiol., 42,297-302.
8. Baird R. Microbial spoilage, infection risk and contamination control. İçinde Hugo WB, Russell AD, editör. Pharmaceutical Microbiology. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 263-284.
9. Baird R.M. 2004 Microbial spoilage, infection risk and contamination control In: Denyer SP, Hodges AN, Gorman SP. Eds. Hugo's and Russell's pharmaceutical microbiology. 7th Ed. UK: Blackwell Publishing company.
10. Flores M., Morillo M., Crespo M.L.1997. Deterioration of raw materials and cosmetic products by preservative resistant microorganisms. Dnt. Biodeterioration and Biodegradation, 40,157-160.
11. Russell M. 1996. Microbiological control of raw materials. In. Baird R.M., Bloomfield S.F Microbial Quality Assurance in Cosmetics. Toiletries and Non-Sterile Pharmaceuticals Second Ed. Taylor and Francis Lt. UK.
12. Spooner D.F.1996. Hazards associated with the microbiological contamination of cosmetics, toiletries and nonsterile pharmaceuticals. In. Baird R.M., Bloomfield S.F Microbial Quality Assurance in Cosmetics. Toiletries and Non-Sterile Pharmaceuticals Second Ed. Taylor and Francis Lt. UK.

13. Ostrosky EA, Marcondes EM, Nishikawa Sde O, et al. Rubus rosaefolius extract as a natural preservative candidate in topical formulations. AAPS PharmSciTech. 2011;12(2):732-737. doi:10.1208/s12249-011-9635-9.
14. Kozmetik iyi üretim uygulamaları kılavuzu, T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Erişim <https://titck.gov.tr/storage/legislation/90bT8er1.pdf>
15. Güler Ç., Su kalitesi. Ankara 1997, T.C. Sağlık Bakanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No:43, Erişim <https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/css43.pdf>
16. Çekani M.I., Mankolli H., Hava Kirliliği Unsurları ve Çevresel Mikroorganizmalar Arasında İlişki: Durres, Albania Örneği, 28, 1, 145-150, 2013, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gazimmfd/issue/6702/89068>
17. Payne DN. Microbial Ecology of the Production Process. In: Denyer SP, Baird RM, eds. The Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals and Medical Devices. 2nd ed. Broken Sound Parkway NW: Taylor & Francis Group; 2007, p:324-344.
18. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* enfeksiyonları. N. Engl. J. Med. 1998 20 Ağu; 339 (8): 520-32. [PubMed]
19. Kozmetik İyi İmalat Uygulamaları Kılavuz. TS_EN_ISO_22716. Ankara. Türk Standartları Enstitüsü. Mayıs 2008. Erişim <https://intweb.tse.org.tr/standard/standard/Standard.aspx>
20. Robbins, C.A., Swenson, L.J., Nealley, M.L., Gots, R.E., Kelman, B.J., (2000), Health Effects of Mycotoxins in Indoor Air, Applied Occupational and Environmental Hygiene, 15(10): 773-784
21. Kuhn, D.M., Ghannoum, M.A., (2003) Indoor Mold, Toxigenic Fungi, and *Stachybotrys chartarum*: Infectious Disease Perspective, Clinical Microbiology Reviews 16: 144-172.
22. Spooner D.F.1996. Hazards associated with the microbiological contamination of cosmetics, toiletries and nonsterile pharmaceuticals. In. Baird R.M., Bloomfield S.F Microbial Quality Assurance in Cosmetics. Toiletries and Non-Sterile Pharmaceuticals Second Ed. Taylor and Francis Lt. UK
23. Türkiye ilaç ve tıbbi cihaz kurumu kozmetik ürünlerde güvenlik değerlendirilmesine ilişkin kılavuz sürüm 2.0
24. Sasseville D. Hypersensitivity to preservatives. Dermatol Ther 2004; 17: 251-263.
25. Fransway, A.F., 1991. The problem of preservation in the 1990s: I. Statement of the problem, solution (s) of the industry, and the current use of formaldehyde and formaldehyde-releasing biocides. Dermatitis, 2(1).
26. Burnett CL, Bergfeld WF, Belsito DV, et al. Final report of the safety assessment of methylisothiazolinone. Int J Toxicol. 2010; 29(4 Suppl):187S-213S.

27. Steven DW, Alaghband P., Lim KS Glokom ilaçlarında koruyucu maddeler. Br. J. Ophthalmol. 2018; 102: 1497–1503. doi: 10.1136 / bjophthalmol-2017-311544.
28. Halla N, Fernandes IP, Heleno SA, et al. Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. Molecules. 2018; 23(7):1571.
29. 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.
30. AB Çağlar, S Saral. Kozmetolojide Toksisite Sorunu. Turk Dermatoloji Dergisi, 2014; 4: 248-51.
31. Deza G, Giménez-Arnau AM. Allergic contact dermatitis in preservatives: current standing and future options. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2017; 17(4):263-268
32. Goldenberg A, Mousdicas N, Silverberg N et al. Pediatric Contact Dermatitis Registry inaugural case data. Dermatitis 2016; 27: 293–302.
33. Beattie PE, Green C, Lowe G, Lewis-Jones MS. Which children should we patch test? Clin Exp Dermatol 2007; 32:6-11.
34. Simonsen AB, Johansen JD, Deleuran M et al. Children with atopic dermatitis may have unacknowledged contact allergies contributing to their skin symptoms. J Eur Acad Dermatol Venereol 2017; 32: 428–36.
35. Geis PA. Preservation Strategies. İçinde Geis PA, editör. Cosmetic Microbiology. 2nd ed. New York: Taylor&Francis Group; 2006. pp. 163-180.
36. Siquet F. Devleeschouwer JM. Antibacterial agents and preservatives. In: Barel AO, Paye M, Maibach HI, eds. Handbook of Cosmtic Science and Technology.1 st ed. USA: Eastern Hemisphere Distribution; 2001.
37. Denyer SP. Antimicrobial preservatives and their properties. In: Denyer SP, Baird RM, eds. The Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals and Medical Devices. 2nd ed. Broken Sound Parkway NW: Taylor & Francis Group; 2007,p:324-344.
38. 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.
39. Akers MJ, Walcott VK. Official Methods of Preservative Evaluation and Testing. In: Denyer SP, Baird RM, eds. The Guide to Microbiological Control in Pharmaceuticals and Medical Devices. 2nd ed. Broken Sound Parkway NW: Taylor & Francis Group; 2007, p:384-394.
40. Smith JMB. Laboratory evaluation of antimicrobial agents. İçinde Hugo WB, Russell AD, editörler. Pharmaceutical Microbiology. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. pp. 187-201.
41. USP 24, NF 19. Microbial Limit Tests. The United States Pharmacopeia 2000.

42. Tüysüz M. Piyasada Bulunan Bazı Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İçeriğinin Ve Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2010, İstanbul (Danışman: Yard. Doç. Dr. AS Birteksöz Tan).
43. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı. Tıbbi Laboratuvar. Mikroorganizmaları Kültür ve Doğrulama Testleri -2 725TTT105. Ankara, 2011. Erişim http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Mikroorganizmalar%C4%B1n%20K%C3%BClt%C3%BCr%20Ve%20Do%C4%9Frulama%20Testleri%20.pdf
44. USP 24, NF 19. Antimicrobial Effectiveness Testing. The United States Pharmacopeia 2000.
45. USP 29, NF 24. Validation of Microbial Recovery from Pharmacopeial Articles. The United States Pharmacopeia (İnternette) Erişim 07.10.2020, http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1227.html.
46. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiol Rev. 2012 Mar;36(2):288-305.
47. 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.
48. Westerfeld C, Papaliodis GN, Behlau I, Durand ML, Sobrin L. *Enterobacter amnigenus* endophthalmitis. Retina Vakaları Kısa Raporlar. 2009; 3 (4): 409-411.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. Behravan J, Bazzaz F, Malaekheh P. Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000). Int J Dermatol 2005; 44: 482-485.
53. Pack LD, Wickham MG, Enloe RA, Hill DN. Microbial contamination associated with mascara use. Optometry 2008; 79: 587-593.
54. 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.
55. Yalçın, P. (2010). Kozmetik preparatlarda kullanılan bazı koruyucuların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması.

56. Özdemir H. (1998). Ege Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde Üretilen Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik İncelenmesi ve Koruyucu Maddelerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Saptanması. E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
57. Kočevar Glavač N, Lunder M. (2018). Preservative efficacy of selected antimicrobials of natural origin in a cosmetic emulsion.
58. 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.
59. Boyvat A, Akyol A, Gürgey E. Contact sensitivity to preservatives in Turkey. *Contact Dermatitis* 2005; 52: 329-332.
60. Rastogi SC. Analytical control of preservative labelling on skin creams. *Contact Dermatitis* 2000; 43: 339-343.
61. Dey BP, Engley FB. Methodology for recovery of chemically treated *Staphylococcus aureus* with neutralizing medium. *Appl Environ Microb* 1983; 45: 1533-1537.
62. 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.
63. Akpınar, F. ve Göçmen, İ. (2014). Yenidoğanlarda deri bakımı / Skin care in newborns. *Maltepe Tıp Dergisi*. 6(2), s. 1-3.
64. Sarkar R, Basu S, Agrawal RK, Gupta P. Skin care for the newborn. *Indian Pediatr* 2010;47:593-598.

HAM VERİLER

FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

BEBEKLER İÇİN KULLANILAN VE PİYASADA BULUNAN ÇEŞİTLİ KOZMETİK ÜRÜNLERİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ_SON

ORIJINALLIK RAPORU

% 18	%	% 18	%
BENZERLİK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	The Biology of Acinetobacter, 1991. Yayın	% 12
2	Jenny Becker-Birck. "Bakterienzahl und bakterielle Aktivität in Wasserkörpern unterschiedlicher Belastung", Zentralblatt für Bakteriologie: I. Abt. Originale C: Allgemeine, angewandte und ökologische Mikrobiologie, 1980 Yayın	% 3
3	Shin Masuda. "Environmentally stable, simple passively mode-locked fiber ring laser using a four-port circulator", Optics Express, 04/13/2009 Yayın	% 1
4	Z Donkó. "On the reliability of low-pressure dc glow discharge modelling", Plasma Sources Science and Technology, 05/01/2006 Yayın	% 1

"Hugo and Russell's Pharmaceutical

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ruhiye	Soyadı	Koç
Doğ.Yeri	Bulgaristan	Doğ.Tar.	16.08.1988
Email	Rukiye_koc88@hotmail.com	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2020
Lisans	Dumlupınar Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2011
Lise	Çakmaklı Cumhuriyet Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Mikrobiyoloji Bölüm Sorumlusu	Aksan Kozmetik	2017-2018
2.	Mikrobiyoloji Bölüm Sorumlusu	Fulya Kozmetik	2014-2017
3.	Laborant	Rumeli Hastanesi	2012-2014
4.	Laborant	Esencan Cerrahi Tıp Merkezi	2011-2012

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Orta	Orta	Orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	61,943	61,492	63,865
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Word	Çok İyi
Microsoft Powerpoint	Çok İyi
Microsoft Excel	Çok İyi

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Müzik dinlemek, seyahat etmek, sinemaya gitmek.