



**RUJLARIN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Nur Ayşe GÜLER**

**Eskişehir 2024**

# RUJLARIN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

Nur Ayşe GÜLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yağmur TUNALI

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Mayıs 2024

*Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından kabul edilen 2304S032 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.*

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Nur Ayşe GÜLER'in "Rujların Mikrobiyolojik Analizi" başlıklı tezi .../05/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

| <u>Unvanı-Adı Soyadı</u> | <u>İmza</u> |
|--------------------------|-------------|
| Üye (Tez Danışmanı)      | .....       |
| Üye                      | .....       |
| Üye                      | .....       |
| Üye                      | .....       |
| Üye                      | .....       |

.....  
Prof. Dr. Saime ÖNCE  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### RUJLARIN MİKROBİYOLOJİK ANALİZİ

Nur Ayşe GÜLER

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Mayıs 2024

Danışman: Prof. Dr. Yağmur TUNALI

Kozmetik ürünler yapısal içeriklerinin uygunluğu sebebiyle mikrobiyal kontaminasyona elverişli ürünlerdendir. Kozmetik ürünlerden rujlar özellikle açıldıktan sonra dudağa temas, nefesle nemlenme ve çevresel etkileşim yolu ile kontaminasyona maruz kalmaktadır. Kişisel kullanım öncesinde hammadde, su, hazırlanma süreci, dağıtım vb. pek çok sebepten kaynaklı olarak farklı yollarla kontaminasyona maruziyet gerçekleştirebilmektedir. Kozmetik ürünlerin üretimleri Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından yayınlanan kılavuz esasları dikkate alınarak yapılır. Çalışmada TİTCK' nın 22.06.2020 tarihinde yayınladığı “Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0” te yer alan mikrobiyolojik analiz yöntemleri esas alınarak ilgili analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışma, çeşitli halk pazarlarından ve bijuterilerden temin edilen kullanılmamış 15 adet ruj örneğinin seri dilüsyonları hazırlanarak, mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Ruj örneklerinden mikrobiyal izolasyonlar yapılarak izolatlara kültürel morfolojik inceleme ve boyama yöntemleri uygulanmıştır. Bazı biyokimyasal test yöntemleri ile 3 numaralı örnekte Gram negatif bakteri, 2 numaralı örnekte Gram pozitif bakteri, 4 numaralı örnekte maya mantarı görünümü tespit edilmiştir. Kozmetik Yönetmeliğinin belirttiği mikrobiyolojik limitler ile ruj örneklerinde izole edilen mikroorganizmaların sayıca limit değerleri karşılaştırılmıştır. Karşılaştırılan ruj örneklerinden 2, 3 ve 4 numaralı örneklerin toplam mikroorganizma sayısı limit değerlerin üzerinde bulunmuştur. Çalışma piyasada satılan ve hiç kullanılmamış ruj örneklerinde rastlanılan mikrobiyal kontaminatlar sebebiyle oluşabilecek sağlık risklerine dikkat çekmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Mikrobiyal kontaminasyon, Ruj, Kozmetik ürün, Mikrobiyolojik analiz.

## ABSTRACT

### MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF LIPSTICKS

Nur Ayşe GÜLER

Department of Pharmaceutical Microbiology

Anadolu University, Graduate Education Institute, May 2024

Supervisor: Prof. Dr. Yağmur TUNALI

Cosmetic products are among the products that are susceptible to microbial contamination due to the suitability of their structural content. Lipsticks among cosmetic products are exposed to contamination through contact with lips, moisturizing with breath and environmental interaction, especially after opening. Before personal use, exposure to contamination can occur in different ways due to many reasons such as raw materials, water, preparation process, distribution, etc. The production of cosmetic products is carried out in accordance with the guidelines published by the Turkish Medicines and Medical Devices Agency. In the study, the relevant analyzes were carried out based on the microbiological analysis methods in the “Guideline on Safety Assessment in Cosmetic Products Version 3.0” published by the Turkish Medicines and Medical Devices Agency on 22.06.2020. Serial dilutions of 15 unused lipstick samples obtained from various public markets and bijouteries were prepared and microbiological analyzes were performed. Microbial isolations were made from the lipstick samples and cultural morphological examination and staining methods were applied to the isolates. By some biochemical test methods, Gram-negative bacteria in sample number 3, Gram-positive bacteria in sample number 2 and yeast fungi in sample number 4 were detected. The microbiological limits specified in the Cosmetic Regulation were compared with the limit values of the microorganisms isolated from lipstick samples. Of the lipstick samples compared, the total number of microorganisms in samples 2, 3 and 4 were found to be above the limit values. The study draws attention to the health risks that may occur due to microbial contaminants found in unused lipstick samples sold in the market.

**Keywords:** Microbial contamination, Lipstick, Cosmetic product, Microbiological analysis.

## TEŞEKKÜR

Tezim sürecimin her aşamasında yanımda olan desteğini, fikir ve görüşlerini esirgemeyen sevgili danışmanım Prof. Dr. Sayın Yağmur TUNALI'ya, laboratuvar çalışmalarımda bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam Öğretim Görevlisi Pervin SOYER'e, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen, her zaman bana güvendikleri için müteşekkir olduğum canım annem Seher GÜLER, canım babam Cemalettin GÜLER ve canım ablam Büşra GÜLER PARLAK' a ve son olarak sürecimin her anında bilgisinden ve motivasyonundan yararlandığım kıymetlim Canberk GÜRSES' e çok teşekkür ederim.

..../05/2024

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

.....  
Nur Ayşe GÜLER

|                                                                                                                                       |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>ÖZET.....</b>                                                                                                                      | <b>iii</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                                                                                                 | <b>iv</b>  |
| <b>TEŞEKKÜR.....</b>                                                                                                                  | <b>v</b>   |
| <b>ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....</b>                                                                               | <b>vi</b>  |
| <b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....</b>                                                                                           | <b>xi</b>  |
| <b>1. GİRİŞ .....</b>                                                                                                                 | <b>1</b>   |
| <b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>                                                                                                        | <b>3</b>   |
| 2.1.Kozmetik Ürünlerin Tanımı .....                                                                                                   | 3          |
| 2.2 Kozmetik Ürünlerin Tarihçesi .....                                                                                                | 3          |
| 2.2.1. Rujların Tarihi .....                                                                                                          | 4          |
| 2.3. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kalitesi .....                                                                                 | 5          |
| 2.4. Kozmetik Ürün Kategorileri.....                                                                                                  | 7          |
| 2.5. Kozmetik Ürünlerde Görülen Kontaminasyonlar.....                                                                                 | 10         |
| 2.6. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Koruyucu Maddeler.....                                                                             | 11         |
| 2.7. Kozmetik Ürünlerde Bulunmaması Gereken Mikroorganizmalar .....                                                                   | 13         |
| 2.7.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                                             | 13         |
| 2.7.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                                                                                            | 14         |
| 2.7.3. <i>Candida albicans</i> .....                                                                                                  | 16         |
| 2.7.4. <i>Escherichia coli</i> .....                                                                                                  | 17         |
| 2.8. Kozmetik Ürünlere Uygulanan Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri.....                                                                | 18         |
| 2.8.1. TSE EN ISO 21149 Kozmetikler–Mikrobiyoloji–Aerobik mezofilik mikroorganizmaların (bakteri, maya, küf) tespiti ve sayımı: ..... | 19         |
| 2.8.2. TSE EN ISO 18415 Kozmetikler–Mikrobiyoloji–Belirlenmiş ve belirlenmemiş mikroorganizmaların tespiti: .....                     | 19         |
| 2.8.3. Belirli mikroorganizmaların tespiti için ISO yöntemleri: .....                                                                 | 19         |
| 2.8.4. TSE EN ISO 16212 Kozmetikler–Mikrobiyoloji–Maya ve küfün sayılması:..                                                          | 20         |
| 2.8.5. TSE EN ISO 11930–Kozmetikler–Mikrobiyoloji–Bir kozmetik üründeki antimikrobiyal korumanın değerlendirilmesi: .....             | 20         |
| 2.8.6. Aerobik plak sayısı (Aerobic Plate Count (APC)): .....                                                                         | 20         |
| 2.8.7. Maya ve Küf Sayısı: .....                                                                                                      | 20         |
| 2.8.8. Spesifik Patojenlerin Görüntülenmesi İçin Zenginleştirme Yöntemi:.....                                                         | 20         |
| 2.8.9. Toplam Gram-negatif Testi (Gram-negatif bakteri tayini): .....                                                                 | 20         |

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.8.10. Toplam Gram-pozitif Testi (Gram pozitif bakteri tayini): .....             | 20 |
| 2.8.11. USP Yöntem 61 Mikrobiyal Limit Testi: .....                                | 20 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEMLER .....                                                     | 21 |
| 3.1. Materyal .....                                                                | 21 |
| 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kozmetik Ürünler .....                                 | 21 |
| 3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler, Boyalar, Çözeltiler ve Sarf Malzemeler .....  | 21 |
| 3.1.3. Kullanılan Cihazlar .....                                                   | 22 |
| 3.1.4. Kullanılan Besiyerleri .....                                                | 22 |
| 3.2. Yöntemler .....                                                               | 25 |
| 3.2.1. Örneklerin Hazırlanması .....                                               | 25 |
| 3.2.2. Örneklerden Dilüsyonların Hazırlanması .....                                | 25 |
| 3.2.3. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Belirlenmesi .....                  | 26 |
| 3.2.4. Toplam Mantar Sayısının Belirlenmesi .....                                  | 27 |
| 3.2.5. Kültürlerdeki Mikroorganizmaların İzolasyonu .....                          | 27 |
| 3.2.6. İzole Edilen Mikroorganizmaların İdentifikasyonu .....                      | 28 |
| 4. BULGULAR VE YORUM .....                                                         | 33 |
| 4.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı ve Toplam Mantar Sayısı Sonuçları ... | 33 |
| 4.3. Gram Boyama Sonuçları .....                                                   | 34 |
| 4.4. Lugol Çözeltilisi–Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama Sonuçları .....              | 35 |
| 4.5. Katalaz Testi Sonuçları .....                                                 | 36 |
| 4.6. Oksidaz Testi Sonuçları .....                                                 | 36 |
| 4.7. IMViC Test Sonuçları .....                                                    | 36 |
| 5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER .....                                               | 37 |
| KAYNAKÇA .....                                                                     | 41 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                           | <u>Sayfa</u> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Tablo 2.1.</b> Bulunmaması gereken mikroorganizmalar .....                             | 6            |
| <b>Tablo 2.2.</b> Kozmetik ürünlerin kategorileri .....                                   | 6            |
| <b>Tablo 2.3.</b> Kozmetik ürün kategorileri .....                                        | 7            |
| <b>Tablo 2.4.</b> Bazı koruyucu maddelerin antimikrobiyal aktivite durumları .....        | 12           |
| <b>Tablo 2.5.</b> Kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik limit değerleri .....                 | 18           |
| <b>Tablo 4.1.</b> Ruj örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri ve mantar sayıları .. | 33           |
| <b>Tablo 4.2.</b> Spesifik ekim yapılan mikroorganizmaların üreme sonuçları .....         | 34           |
| <b>Tablo 4.3.</b> IMViC test sonuçları .....                                              | 36           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> ' un elektron mikroskobu altındaki görüntüsü.....    | 14 |
| Şekil 2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ' nın elektron mikroskobu altındaki görüntüsü ..... | 15 |
| Şekil 2.3. <i>Candida albicans</i> ' ın elektron mikroskobu altındaki görüntüsü.....         | 16 |
| Şekil 2.4. <i>Escherichia coli</i> ' nin elektron mikroskobu altındaki görüntüsü .....       | 17 |
| Şekil 3.1. Ruj örneklerinin tartım kaplarına taksimi .....                                   | 25 |
| Şekil 3.2. Ruj örneklerinin homojenize edilerek hazırlanması.....                            | 25 |
| Şekil 3.3. Hazırlanan seri dilüsyon örnekleri .....                                          | 26 |
| Şekil 3.4. Triple Sugar Iron Agar' da kültürlerin yorumlanması.....                          | 32 |
| Şekil 4.1. Spesifik ekim yapılan bakterilerin Petri plak görüntüleri.....                    | 34 |
| Şekil 4.2. Spesifik ekim yapılan mantar Petri plağı görüntüsü .....                          | 34 |
| Şekil 4.3. Bakteri kolonisi mikroskop görüntüsü .....                                        | 35 |
| Şekil 4.4. Maya kolonisi mikroskop görüntüsü.....                                            | 35 |
| Şekil 4.5. Laktofenol pamuk mavisi ile mikroskop görüntüsü.....                              | 35 |
| Şekil 4.6. Lugol çözeltisi ile mikroskop görüntüsü .....                                     | 35 |
| Şekil 4.7. Katalaz test işlemi sonucu .....                                                  | 36 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

TİTCK : Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

GMP : Good Manufacturing Practices (İyi İmalat Uygulamaları)

FDA : Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)

ISO : International Organization for Standardization (Uluslararası Standart Organizasyonu)

APC : Aerobic Plate Count

FTS: Fizyolojik Tuzlu Su

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

cfu/ml : koloni oluşturuu birim(kob)/ mililitre

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

µL: mikrolitre

µm: mikrometre

NaCl: sodyum klorür

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : hidrojen peroksit

KOH : potasyum hidroksit

g/L: gram/litre

mm: milimetre

°C: derece santigrat

TSI : Triple Sugar Iron

PCA : Plate Count Agar

EMB: Eosin Methylene Blue Agar

NB: Nutrient Broth

NA: Nutrient Agar

SDB: Sabouraud Dextrose Broth

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

## 1. GİRİŞ

Kozmetik ürünler gündelik yaşamda özellikle hijyen ve güzellik gibi amaçlarla kullanılırlar. İnsanlığın varoluşundan bugüne kadar direkt olarak insan teniyle temas halinde olmalarından dolayı tüketici sağlığı için her zaman en uygun kalitede olması gereken ürünlerin başında gelmişlerdir (Steinberg, 2006).

Kozmetik kelimesi Eski Yunanca'da "süslenmekte usta" anlamına gelen kos-metikos kelimesinden gelmektedir (Çomoğlu, 2012). 32184 sayı ve 08/05/2023 tarihli mükerrer Kozmetik Ürünler Yönetmeliği'ne göre kozmetik ürün; deri, kıllar, saçlar, dudaklar , tırnaklar ve dış genital organlarına veya ağız mukozası gibi kısımlara uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, korumak, hoş koku vermek, görünümünü değiştirmek, iyi bir durumda tutmak olan tüm madde ya da karışımlara verilen genel bir isim olarak tanımlanmıştır (Kozmetik Yönetmeliği, 2005).

İnsanlık tarihinin başlangıcından itibaren insanlar için önemli bir konuma sahip kozmetik ürünler mikrobiyolojik olarak değerlendirildiğinde steril olmasına gerek bulunmayan ürünlerdir ancak bu ürünler tüketici sağlığı açısından uygun kalitede olması gereken malzemelerdir (Steinberg, 2006; Kozmetik Yönetmeliği, 2005).

Kozmetik Yönetmeliği 6. Maddesinde geçen; piyasaya sunulmuş olan kozmetik ürün, normal şartlarda ve üretici tarafından belirtilen standartlar altında uygulandığında ya da ürünün sunumu, etiketlenmesi, kullanım durumuna dair açıklamalara ya da üretici tarafından verilen bilgiler dikkate alındığında önerilen kullanım standartlarına göre uygulandığında, insan sağlığı açısından güven teşkil etmelidir(TİTCK Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Kılavuz Sürüm 1.0.).

Kozmetik ürün açıldığı andan itibaren çevreyle, kullanan kişinin cildiyle temasdan dolayı devamlı bir şekilde farklı mikrobiyolojik bulaşmalara maruz kalır. Ev şartlarında banyo gibi çok nemli ve sıcak alanlarda bulunabilen kozmetik malzemeler, kullanımları esnasında yapısını kaybetme ve ihtimal dahilinde olan zararlı mikroorganizma kaynaklı bulaşlara uğramaya açıktır. Kozmetik ürünlerin, kullanımları sırasında kontaminasyona maruz kalmaları beklenen bir durumdur ancak üretim koşullarının hijyenik şartlar altında ve Good Manufacture Practice (GMP) kurallarına uygun olarak üretimlerinin sağlanması gerekmektedir. Kontamine olmuş üretim alanları, ham maddeler, personelin hijyen ve çalışma kurallarına gerekli şekilde riayet etmemeleri gibi durumlar üretim esnasındaki kontaminasyonu arttırır (TİTCK Kozmetik

Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Kılavuz Sürüm 1.0.). Tüm bu koşulların standartlara uygun olarak sağlanması için Sağlık Bakanlığı; 30.03.2005 tarihinde yayınlanan ve 25771 sayılı Resmi Gazete’de paylaşılan 5324 sayılı Kozmetik Kanununu ve 23.05.2005 tarihinde yayınlanan ve 25823 sayılı Resmi Gazete’de ilan edilen Kozmetik Yönetmeliğini yürürlüğe koymuştur. Bu kanun ve yönetmeliğe dayanarak TİTCK tarafından Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0 yayımlamıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Kozmetik Ürünlerin Tanımı

Sağlık Bakanlığı teşkilatının 23.05.2005 tarihinde yayınladığı ve 25823 sayılı Resmi Gazete’ de ilan edilen Kozmetik Yönetmeliği’ne göre kozmetik ürün; epiderma, kıllar, saçlar, tırnaklar, dudaklar ve dış genital organlarına ya da dişler ile ağız mukozası gibi insan bedeninin dış bölgelerine uygulanması üzerine hazırlanmış, tek ya da temel amacı bu kısımları temizlemek, güzel koku katmak, görünümünü farklılaştırmak, korumak, iyi bir halde tutmak olan bütün madde ya da karışımlar olarak tanımlanmıştır (Kozmetik Yönetmeliği, 2005). Kozmetik ürünler Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi(FDA) tarafından kullanım hedeflerine göre; insan bedenini çekici hale getirmek, temizlemek, güzelleştirmek ya da görünümünü farklılaştırmak hedefiyle deri ve eklerine sürerek, sıkarak, ovalama yaparak ve serpererek uygulanan maddeler olarak belirlenmiştir (Aras ve Eryılmaz, 2022).

### 2.2 Kozmetik Ürünlerin Tarihçesi

Kozmetik maddelerin, ürünlerin kullanımı insanlığın tarihiyle eş olacak kadar eskiye dayanmaktadır. Bu kozmetik ürünler insanlık tarihinde insanların yaşamlarında çok çeşitli, önemli bir yere sahip olmuşlardır. Toplumların gelişmişlik seviyelerinin yükselmesiyle birlikte kozmetik ürünlere olan ihtiyaç artmış; kozmetik uzmanları, berberler, parfümeriler çağlar boyu gelişim gösteren kozmetik uygulamalarını sorumluluk alanlarına alarak bu hususta öncü bir rol oynamıştır. Arkeolojik çalışmalar sırasında ortaya konan kozmetik eserler eski medeniyetler hakkında birçok bulguyu da gün yüzüne çıkarmıştır (Sungur ve ark., 2018).

"Kozmetik" ile ilgili en eski kayıtlara M.Ö. 10 000 yıllarında Antik Mısır'da rastlanmaktadır. Kozmetikler günümüzde genel olarak insanların dış görünüşlerini güzelleştirme amacıyla kullanılıyor olsalar da eski dönemlerde hem erkekler hem de kadınlar için yalnızca hijyen iyileştirmek amacıyla kullanılmıştır. Örneğin Antik Mısırlılar kekik, papatya, lavanta ve nane gibi esansiyel yağları vücut kokularını maskelemek ve ciltlerini sert çöl koşullarından korumak için günlük rutinlerinde kullanmışlardır (Dallaire, 1951). Daha ileri zamanlarda ise siyah barut olan sürmeyi kullanmaya başlamışlardır. Sürme olarak kullanılan kurşun tuzunun aslında göz enfeksiyonlarından koruma konusunda etkin olan nitrik oksit olmasına rağmen maddenin bu işlevinden o dönemde bilgi sahibi olma durumu olmamıştır (Ravilious, 2015). Parlak kırmızı ruj olarak kullanılan karminik asid, alüminyum ve kalsiyum tuzu olan karminin keşfiyle popüler hale gelmiştir. Karmin; *Coccus cacti* (*Dactylopius coccus*) veya karmin (kaktüs) böceği olarak bilinen böcekten elde edilmektedir (Lucas, 1930). Sonraki bin yıl boyunca kozmetik kullanımı yalnızca özel günler için kullanılan bir hijyen ürünü olma

özelliğinden sıyrılarak zenginlik ve güzelliğin bir ifadesi haline gelmiştir. Kozmetik ürünlerin kullanımı Çin’de hanedan soylularının kullanmaya başladığı bölgelere kadar yayılarak zenginlik ve statünün bir temsili olmuştur. Alt sınıf vatandaşların tırnaklarına ve ciltlerine parlak renkler sürmeleri yasaklanmış ve kraliyet mensupları kadar solgun görünmek için yeterince pirinç tozu uygulamaları da mümkün olmamıştır. Aynı dönemde Yunanlı kadınlar allık ve dudak boyası olarak kullanmak amacıyla meyveleri ezmeye ve daha dolgun bir kaş görüntüsü yaratmak için öküz kılı kullanmışlardır. Dünyanın dört bir yanında, birçok kıtada kadın ve erkekler doğal ürünleri ve hayvansal ürünleri yüzyıllardır kozmetik olarak kullanmışlardır (Stewart, 2017). Farklı medeniyetlerde de kozmetik kullanımına dair örneklerle de rastlanmaktadır. Antik Mısır’da Hint yağının koruyucu balsam olarak kullanılması da dikkate değer bir husustur. Romalıların zeytinyağı ve gül suyu ile yaptıkları bir çeşit cilt kremi olan beeswax ürünü kozmetik kullanımına dair değerli bir örnektir.

Musevilerin kutsal kitabı Eski Ahit’te kozmetik kullanımı hakkında bilgiler bulunmaktadır. Eski Ahit’in Krallar bölümünde Jezebel’in göz kapaklarını boyamasından ve çeşitli kozmetik uygulamalarından bahsedilmektedir (Toköz, 2018). 20. yüzyılda Avrupa’da ve Amerika’da makyajla süslenmek modaya uyum sağlamanın bir göstergesi haline gelmiştir. Sahne sanatlarının yoğun yapıldığı bu dönemde oyuncular, bu eğilimin artmasına sebep olmuştur.. Ancak kozmetiğin bu kadar hızlı bir yayılım göstermesinin temel unsuru olarak film endüstrisi gösterilmektedir (Çomoğlu, 2012).

Geçmişten günümüze bakıldığında kozmetiklerin kullanıcılar üzerinde çeşitli sosyal ve psikolojik etkilere sebep olduğu ortaya görülmektedir. Her dönemde belirli bir sınıflandırmayı temsil etmek adına çeşitli kozmetik ürünler kullanılmıştır. Tüm bu kullanımların sonucu olarak çok çeşitli kozmetik ürünler hayatımıza girmiş bulunmaktadır.

### **2.2.1. Rujların Tarihi**

M.Ö. 3000 yıllarında erkekler, avlamak istedikleri hayvanları kendilerine çekmek ve süslenmek amacıyla renkleri kullanmaya başlamışlardır. Ruj ilk olarak antik Mezopotamya’da kaba bir tuğla parçasından keşfedilmiştir. Dudak boyamak tarih öncesi döneme kadar uzanan eski bir gelenektir. Ruj 1869 yılında Fransa’da hayvansal yağ ve balmumundan yapılan kozmetik bir ürün olarak tanıtılmıştır. Rujların silindirik metal tüp formunda kullanımı 1915 yılında olmuştur. Zaman içinde rujlar birçok tüketici için vazgeçilmez bir ürün haline gelmiş; artan talebi karşılamak için yüzlerce renk tonunda pazarlanması söz konusu olmuştur (Mawazi ve ark., 2022).

Rujlar en çok kullanılan kozmetik ürünlerdendir. Ruj kullanımından sosyal, psikolojik ve terapötik faydalar elde edilebilir. Rujların dudakları renklendirmesi ve dış ortamdan koruması sayesinde kişinin güzelliği ve çekiciliği artar. Mevcut dudak bakım ürünleri yalnızca estetik değeri vurgulamakla kalmayarak aynı zamanda tercihen tüketicilerin dudaklarına tıbbi değer de katmaktadır. Aktif tıbbi içeriğe sahip ilaçlı rujlar formülasyonda aktif bir tıbbi bileşen bulunması sebebiyle bakteriyel enfeksiyonlara karşı koruma sağlayabilmektedir. Bu işlev, dudakların çatlamasını önlemek için nem ve yumuşatıcı etki sağlayan rujların mevcut rolüne katkı sağlamaktadır (Munawiroh ve ark., 2017).

### **2.3. Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kalitesi**

Mikrobiyolojik kalite için temel prensip, uygun kontaminasyon sınırı ile mikroorganizmaların çoğalma durumunu belirlemektedir (TİTCK Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0, 2020). Kozmetik Yönetmeliğinin 6. Maddesinde belirtilen hususa göre; piyasaya sunulmuş olan bir kozmetik ürün, üretici tarafından, uygun görülen standartlar altında hazırlandığında ya da ürünün etiketlenmesi, sunumu, kullanım şekline ilişkin açıklamalara veya üretici tarafından sunulan argümanlar göz önüne alınarak tavsiye edilen kullanım koşullarına göre uygulandığında, kullanıcı açısından sağlıklı olması gerekmektedir (TİTCK Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Kılavuz Sürüm 1.0).

Kozmetik Ürünler, farmasötik ürün grupları arasında steril olma zorunluluğu bulunmayan grupta yer almaktadır. Bu sebeple mikroorganizmaların kontaminasyonuna daima açık bulunurlar. Tüketici açısından yeterli güveni sağlamak için kozmetik ürün üretiminde gerekli standartlar bulunmaktadır. Kozmetik ürünlerin üretimlerinde, kontrollerinde, depolanmalarında ve sevkiyat aşamalarında kalite şartlarının uygulanması adına İyi İmalat Uygulamalarına (GMP) bağlı kalınarak ürün sunumu gerçekleştirilmektedir. Aksi takdirde kozmetik ürüne bulaşan bu mikroorganizmaların patojenik özelliğe sahip olma olasılıkları mevcuttur. Aynı zamanda Mikrobiyolojik Kalite Yönetimine uyum sağlayarak, ekipman ile malzemelerin temiz ve ürünlerin hastalığa sebep olabilecek mikroorganizmalardan arınmış olması gerekmektedir (TİTCK Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0, 2020). Üretici tarafından, son kullanma tarihine kadar hiçbir mikrobiyolojik değişimin olmaması gerektiği ürün üzerinde gösterilmelidir. Kozmetik ürünlerin üretimleri esnasında ve üretim sağlandıktan sonra kullanım süresi boyunca mikrobiyolojik kontrollerinin sağlanması gerekmektedir. Bu mikrobiyolojik analizler neticesinde, kozmetik ürünlerde belirli bir kategorilendirme yapılmıştır. Kozmetik ürünlerde Tablo 2.1’ de belirtilen 4

mikroorganizmanın kesinlikle bulunmaması şarttır. Kozmetik ürünler, başka başka cilt bölgelerinde değişik hassasiyetlere sahip olabileceği için Tablo 2.2’deki gibi iki kategoriye ayrılmıştır.

**Tablo 2.1.** Bulunmaması gereken mikroorganizmalar (T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK)

|                      |
|----------------------|
| <i>E. coli</i>       |
| <i>P. aeruginosa</i> |
| <i>C.albicans</i>    |
| <i>S. aureus</i>     |

Mikrobiyal açıdan kalitenin devamlılığı için kullanılacak ham maddeler mikrobiyolojik saflıkta olmalıdırlar. Kozmetik ürün bileşiminde en çok kullanılan madde olan su, mikroorganizma üremesi açısından devamlı olarak kontrol edilmelidir. Kozmetik bir ürünün mikrobiyolojik olarak incelenmesi için uygun dilüsyonlarının hazırlanması gerekmektedir. Uygun yoğunluktaki mikroorganizma sayılarının hesaplanabilmesi dilüsyon hazırlama işlemi ardından gerçekleştirilebilir. Kozmetik ürünlerin antimikrobiyal özelliklerinin araştırılmasında kullanılan her yöntemin durumu kontrol ve valide edilmelidir. Validasyon işlemi ile bilinen miktardaki test suşları örnek ve kontrol grubu ile karşılaştırılır (TİTCK Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Kılavuz Sürüm 1.0).

**Tablo 2.2.** Kozmetik ürünlerin kategorileri (http-11)

| ÜRÜN KATEGORİLERİ                               | Kategori 1                                                                                                                                | Kategori 2                                                                                               |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kozmetik Ürün Türleri</b>                    | 3 yaş altı çocuklara yönelik ürünler,<br>Göz bölgesine uygulanan ürünler,<br>Mukoz membranlara uygulanan ürünler,<br>Durulanmayan ürünler | Diğer ürünler,<br>Durulanan ürünler                                                                      |
| <b>Kantitatif/Nicel Mikrobiyolojik Limitler</b> | Toplam canlı aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı (bakteri, maya ve küf) 10 <sup>2</sup> cfu/g veya ml’den fazla olmamalıdır.          | Toplam canlı aerobik mezofilik mikroorganizma sayısı 10 <sup>3</sup> cfu/g veya ml’den fazla olmamalıdır |
| <b>Kalitativ/Nitel Mikrobiyolojik Limitler</b>  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> <i>Staphylococcus aureus</i> , veya <i>Escherichia coli</i> bulunmamalıdır.       | <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i> bulunmamalıdır.            |

## 2.4. Kozmetik Ürün Kategorileri

Kozmetik ürünler günlük hayatta çeşitli ürün yelpazesi ile hemen hemen her yaş grubu tarafından kullanılmaktadırlar. T.C. Sağlık Bakanlığı TİTCK' nın 19.04.2021 tarihinde yayınladığı Kozmetik Ürünler Yönetmelik Değişikliği Taslak Metninde kozmetik ürünler aşağıda belirtilen Tablo 2.3'deki gibi kategorilere ayrılarak sıralanmıştır (Aras ve Eryılmaz, 2022).

**Tablo 2.3.** Kozmetik Ürün Kategorileri (*Kozmetik Ürünler Yönetmelik Değişikliği Taslak Metni, 2021*).

### **A.CİLT ÜRÜNLERİ**

#### **A.1.Cilt Bakım Malzemeleri**

- A.1.1. Dudak bakımında kullanılan ürünleri
- A.1.2. Ayak bakım ürünleri
- A.1.3.Göz çevresi ürünleri
- A.1.4. Yüz maskeleri dışındaki ürünler
- A.1.5.El bakım ürünleri
- A.1.6. Yüz maskesi
- A.1.7.Vücut bakım ürünleri
- A.1.8. Mekanik soyucu ürünleri
- A.1.9.Kimyasal soyucu ürünleri
- A.1.10. Dış genital bölge bakım ürünleri
- A.1.11.Cilt rengini açıcı ve aydınlatıcı ürünler
- A.1.12.Diğer cilt bakım ürünleri

#### **A.2.Cilt Temizleyici Malzemeler**

- A.2.1. Makyaj çıkarıcı ürünler
- A.2.2.Banyo ve duş ürünleri
- A.2.3. Sabunlar
- A.2.4.Dış genital bölge temizlik ürünleri
- A.2.5.Diğer cilt temizleyici ürünler

#### **A.3.Vücut Tüylerini Uzaklaştırıcı Malzemeler**

- A.3.1. Vücut tüylerini uzaklaştıran diğer ürünler
- A.3.2.Fiziksel epilasyon ürünleri
- A.3.3. Kimyasal depilatuvarlar

#### **A.4.Vücut Tüylerini Sarartıcı Malzemeler**

- A.4.1.Vücut tüylerini sarartıcı ürünler

## **A.5.Vücut Kokusunun ya/ya da Terlemenin Düzenlenmesi**

A.5.1.Ter önleyici etkisi olan ürünler

A.5.2.Ter önleyici etkisi olmayan ürünler

## **A.6.Tıraş ve Tıraş Öncesi, Tıraş Sonrası Malzemeler**

A.6.1.Tıraş ürünleri

A.6.2.Tıraş öncesi ve tıraş sonrası ürünler

A.6.3.Diğer tıraş ve tıraş öncesi/sonrası ürünler

## **A.7.Makyaj Malzemeleri**

A.7.1. Göz farı

A.7.2.Kapatıcı

A.7.3.Diğer, yüze uygulanan makyaj ürünleri

A.7.4.Maskara

A.7.5. Fondöten

A.7.6.Göz kalemi

A.7.7. Göz konturunu sağlayan ürünler (eyeliner)

A.7.8.Diğer göz makyaj ürünleri

A.7.9. Ruj, dudak parlaticısı

A.7.10.Ruj sabitleyici

A.7.11.Diğer dudak makyaj ürünleri

A.7.12.Vücut ya da yüz boyaları

A.7.13.Diğer makyaj ürünleri

## **A.8.Parfümler**

A.8.1. Hidroalkolik olmayan parfümler

A.8.2. Hidroalkolik parfümler

## **A.9.Güneş Ürünleri ve Güneşsiz Bronzlaştıran Malzemeler**

A.9.1.Güneş öncesi/Güneş sonrası kullanılan ürünler

A.9.2.Güneşten koruma sağlayan ürünleri

A.9.3.Güneşsiz bronzlaşma sağlayan ürünler

A.9.4.Diğer güneş ürünleri, güneşsiz bronzlaştıran ürünler

## **A.10.Diğer Cilt Ürünleri**

A.10.1. Cilde uygulanan diğer ürünler

## **B.SAÇ VE SAÇ DERİSİ ÜRÜNLERİ**

### **B.1.Saç ve Saç Derisi Bakım ve Temizleme Malzemeleri**

- B.1.1. Sa kaybını önlemek amacıyla kullanılan rnler
- B.1.2.Sa kremi
- B.1.3.Sa derisi, sa kökleri bakım rnleri
- B.1.4.Kepek nleyici rnler
- B.1.5. ampuan
- B.1.6.Diğer sa ve sa derisi bakımı ile temizleme rnleri

## **B.2.Sa Renklendirmede Kullanılan Malzemeler**

- B.2.1. Sa rengini aan ve boya çıkarıcı rnler
- B.2.2.Oksidatif etkili olmayan sa boyları
- B.2.3. Oksidatif etkili sa boyları
- B.2.4.Diğer sa boya rnleri

## **B.3.Sa ekillendirici Malzemeler**

- B.3.1.Geçici sa şekillendirme sağlayan rnler
- B.3.2.Kalıcı sa şekillendirme sağlayan rnler
- B.3.3.Sa yatıştırıcı ve sa düzleştirici rnler
- B.3.4.Diğer sa şekillendirici rnler

## **B.4.Diğer Sa ve Sa Derisi Malzemeleri**

- B.4.1.Saçı güneşten korumaya yardımcı rnler
- B.4.2.Diğer sa ile sa derisi rnleri

## **C.TIRNAK VE KÜTİKÜL ÜRÜNLERİ**

### **C.1.Tırnak Cılası ve Cila ıkarıcı Malzemeler**

- C.1.1.Tırnak cılası ile tırnak makyajı
- C.1.2.Tırnak cılası sökücü rnler
- C.1.3.Tırnak cılası inceltici rnler
- C.1.4.Tırnak rengini açıcı rnler
- C.1.5.Diğer tırnak cılası ve cila çıkarıcı rnler

### **C.2.Tırnak Bakım ve Tırnak Güçlendirici Malzemeler**

- C.2.1.Tırnak rnleri
- C.2.2.Tırnak güçlendirici rnler
- C.2.3.Diğer tırnak bakım ve tırnak güçlendirici rnler

### **C.3.Tırnak Yapıştırıcısı ıkarılan Malzemeler**

- C.3.1.Tırnak yapıştırıcısı çıkarıcı rnler

#### **C.4.Diğer Tırnak ve Kütikül Malzemeler**

- C.4.1.Kütikül çıkarıcılar ve yumuşatıcılar
- C.4.2.Tırnak yapılandırıcı ürünler
- C.4.3.Diğer tırnak ve tırnak kütikül ürünleri

#### **D.AĞIZ BAKIM VE TEMİZLİK ÜRÜNLERİ**

##### **D.1.Diş Bakım Malzemeleri**

- D.1.1.Diş macunu
- D.1.2.Diş temizleme tozu ve tuzu
- D.1.3.Diğer diş bakım malzemeleri

##### **D.2.Ağız Suları ve Spreyleri**

- D.2.1.Ağız çalkalama suları
- D.2.2.Nefes tazeleyici spreylere ve ağız spreylere
- D.2.3.Diğer ağız çalkalama suları, nefes tazeleyici spreylere ve ağız spreylere

##### **D.3.Diş Beyazlatıcılar**

- D.3.1.Diş beyazlatıcı ürünler

##### **D.4.Diğer Ağız Bakım ve Temizlik Malzemeleri**

- D.4.1.Diğer ağız bakım ve temizlik ürünleri

#### **2.5. Kozmetik Ürünlerde Görülen Kontaminasyonlar**

Kozmetik ürünlerin steril olma zorunluluğu bulunmamaktadır. Bu sebeple mikroorganizmalar tarafından kontaminasyona maruz kalma durumları mevcuttur. Kozmetik ürünlerde görülen gelişmiş formülasyonlar içerisinde; üreme faktörleri, uygun mineral miktarı ile nem ve ortamın asitlik düzeyi sebebi ile mikroorganizmaların çoğalması için uygun zemin oluşur. Kozmetik ürünlerin içerisinde, mikroorganizmalar için besin desteği oluşturacak birçok madde yer alır (Sivri, 2005). Kozmetik ürünlerin içerisinde yağ asitleri, karbohidratlar, şeker alkollere, mineraller, proteinler, steroidler, glikozidler, peptidler, yağ alkollere, vitaminler, aminoasitler, bitkisel hammaddeler ve su bulunmaktadır. Mikroorganizmaların gelişim gösterebilmesi için ürünlerdeki su miktarı önemlidir (Baird, 2004).

Sağlık bakanlığına bağlı TİTCK' nın kozmetik malzemelerin üretimlerinin insan sağlığını tehdit etmemesi amacıyla kılavuzları mevcuttur. Kozmetik ürünlerin bu kılavuzlar öncülüğünde hareket edilerek üretilmesi gerekmektedir.

Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik kontaminasyonuna sebep olan koşullar; üretim ve depolama aşamalarıdır. Bu aşamalara dikkat edilmediği takdirde kozmetik ürün çevreden bir kontaminasyona maruz kalabilmektedir. Aynı zamanda kozmetik ürünün tüketici tarafından kullanımı sırasında kontaminasyon artmaktadır (Aras ve Eryılmaz, 2022).

Kozmetik ürün üretiminde laboratuvar çalışmalarında çapraz kontaminasyon riskinin azaltılması gerekmektedir. Geri dönüş yok kuralına göre hareket edilmesi önemlidir. Laboratuvarda tüm örnek ve kültürler tek bir yöne doğru hareket ettirilmelidir (TİTCK Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Kılavuz Sürüm 1.0).

Kozmetik ürünlerin uygun saklama koşullarında stabilitelerinin analiz edilmesi ve sağlanan bu standartın tedarik zinciri boyunca devam etmesi gerekmektedir. Ürün son olarak tüketici kullanımına sunulduğunda ise ürün etiketinde ilgili bilgiler bulunmalıdır. Güvenlilik sisteminin teşkilinde; mikrobiyolojik kaliteyi oluşturan bilgiler, koruyucu sistemin etkinliğinin doğru bir zemine oturtulması ve standart koşullar altında depolanan ürünlerin belirlenen son kullanma tarihlerine kadar dayanması gerekir (TİTCK Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0, 2020).

Kullanılan ürünlerin tüketici sağlığı açısından zarar oluşturması üründe mevcut mikroorganizmanın çeşidi ve miktarına bağlıdır. Mikroorganizmaların oluşturduğu kontaminasyona maruz kalan kozmetik ürünler kullanıldığında patojenik etki gösterip ciddi sağlık sorunlarına (enfeksiyon, tahriş, alerji, toksisite vb.) sebep olabilmektedirler. Kozmetik ürünlerin steril olma zorunluluğu bulunmamasına rağmen GMP (İyi İmalat Uygulamaları) koşullarına uygun olmaları gerekmektedir (Onurdağ ve ark., 2010).

## **2.6. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Koruyucu Maddeler**

Aseptik şartlar altında GMP'ye bağlı kalınarak üretilen kozmetik ürünlerin mikrobiyal kontaminasyona maruziyetlerinin engellenmesi, üretim esnasında kullanılan hammaddeden başlanılarak kullanılacak suyun, yardımcı maddelerin mikrobiyal kontrolünün sağlanması gerekmektedir (Halla ve ark., 2018). Kozmetik ürünlerin mikrobiyal açıdan güvenilirliklerinin sağlanabilmesi ve kalitesini son kullanma tarihine kadar koruyabilmesi için koruyucu maddeler ilave kullanılır. Bu koruyucu maddeler, öncelikli olarak bakteriler ve mantarlarla kontamine olması durumunda, bitmiş ürünün stabilitesini korumak ve bozulmasını engellemek için kullanılan maddelerdir. Bu maddeler mikroorganizmaların üzerinde ya öldürücü ya da üremelerini durdurucu etki göstermektedir (Tan ve Tüysüz, 2013).

Kozmetik ürüne eklenecek koruyucu maddeler Kozmetik Yönetmeliğine uygun olarak seçilmelidir. Kullanılan koruyucu madde kozmetik ürünün formülasyonunda pH'ya uygun olarak stabil kalmalı, yapısı üretim koşullarına dayanıklı olmalı, hedeflenen koruma süresini sağlamalı ve ilgili kozmetik yönetmeliklerine uygun olarak eklenmelidir. Kullanılan koruyucu maddeler doğal kökenli veya sentetik kökenli olabilmektedir (Halla ve ark., 2018; Kozmetik Yönetmeliğinde Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik ve Kozmetik Ürünlerde Kullanılmasına İzin Verilen Koruyucu Maddelerin Listesi, 2015). Kozmetik ürünlerde koruyucu maddeler; kuaterner amonyum bileşikler, parabenler, asetilaseton ile tepkimeye giren koruyucu etki gösteren ürünler, asidik koruyucular, izotiyazolinonlar, organik alkoller, halojenlenmiş maddeler ve alkollerdir (Tan ve Tüysüz, 2013).

Tablo 2.4'te bazı koruyucu maddeler görülmektedir. Kozmetik ürüne dahil edilen koruyucu maddelerin geniş bir etki alanına sahip olmasının yanı sıra sinerjistik bir etki de göstermesi beklenmektedir. Bu etkilerin sağlanması adına çeşitli bir arada kullanımlar sağlanmaktadır. Tablodaki bazı koruyucu maddeler bu birlikte kullanım özelliğini taşımaktadır (Tan ve Tüysüz, 2013).

**Tablo 2.4.** Bazı koruyucu maddelerin antimikrobiyal aktivite durumları (Tan ve Tüysüz, 2013)

| <b>Koruyucu</b>         | <b>Gram pozitif bakteri</b> | <b>Gram negatif bakteri</b> | <b>Maya</b> | <b>Küf</b> |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|------------|
| Benzalkonyum klorür     | ✓✓                          | (✓✓)*                       | (✓✓)        | ✓          |
| Benzoik asit ve tuzları | ✓✓                          | (✓✓)                        | ✓           | ✓          |
| Benzil alkol            | ✓✓                          | ✓                           | ✓           | ✓          |
| Klorhekzidin            | ✓✓                          | ✓✓*                         | (✓✓)        | ✓          |
| Krezol                  | (✓✓)                        | ✓                           | ✓           | ✓          |
| Etanol                  | ✓✓                          | ✓✓                          | (✓✓)        | (✓✓)       |
| Parabenler              | (✓✓)                        | ✓*                          | (✓✓)        | (✓✓)       |
| Fenol                   | (✓✓)                        | ✓                           | ✓           | ✓          |
| Fenoksietanol           | (✓✓)                        | ✓✓                          | ✓           | ✓          |
| Sorbik asit             | (✓✓)                        | (✓✓)                        | ✓✓          | (✓✓)       |
| Tiomersal               | ✓✓                          | (✓✓)                        | (✓✓)        | ✓          |

✓✓ yüksek aktivite, (✓✓) orta derecede aktivite, ✓ zayıf aktivite, \* Pseudomonas spp. türlerine karşı zayıf aktivite gösterdiğini ifade eder

## 2.7. Kozmetik Ürünlerde Bulunmaması Gereken Mikroorganizmalar

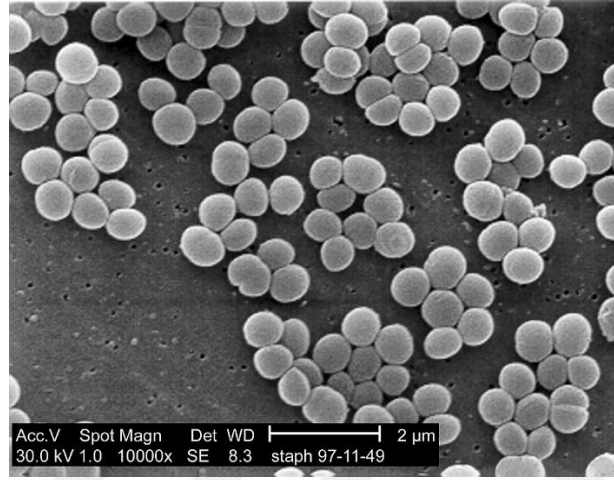
Kozmetik ürünlerde kontaminasyona maruziyet sonucu çeşitli mikroorganizmalar çoğalabilmektedir. Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'nun kılavuzunda da belirttiği gibi bitmiş üründe kesinlikle bulunmaması gereken mikroorganizma grupları ve hangi tür olumsuzluklara sebebiyet verebilecekleri aşağıda özetlenmiştir.

### 2.7.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcuslar* Micrococcaceae familyasına dahil olan bakteri türlerindendir (http-1). *Staphylococcus aureus*, kok şeklinde ve üzüm benzeri bir yapı oluşturarak kümelenme eğilimi gösteren Gram pozitif bir bakteridir (Şekil 2.1). Besiyeri ortamında %10'a kadar tuz ortamında gelişme gösterebilirler. Besiyerinde kolonileri genellikle altın sarısı bir renk oluşumu gösterir (Taylor ve Unakal, 2017). Bu bakteri, koloni oluşumunda gösterdiği altın renkli pigmentasyon ve koagülaz, mannitol fermentasyonu, deoksiribonükleaz testlerinde gösterdiği pozitif sonuçlar nedeniyle diğer türlerinden ayrılmaktadır (Lowy, 1998). Genel olarak kapsülsüz, fakültatif anaerobik, sporsuz ve 0,5 ile 1,5 µm çapına sahip bir bakteridir. 37°C'de Baird-Parker Agar ve Mannitol Salt Agar'da spesifik üreme gösterir. Mannitol salt agarda, mannitolü fermente edip oluşan kolonilerin çevresinde sarı renk bir halka oluşturur. Bu özelliği ayırıcı bir tanı olarak kullanılmaktadır (http-1). *Staphylococcus aureus*, patojenik özellik göstererek insanda çok önemli ve çok çeşitli enfeksiyonlara sebep olan bir bakteridir. Bu bakterinin sebep olduğu enfeksiyonlar toplum içerisinde ve hastane ortamında yaygın olarak bulunmaktadır (Taylor ve Unakal, 2017). Sebep olduğu enfeksiyonlar arasında osteomyelit, septik artrit, bakteriyemi, pnömoni, endokardit, apse, çıban ve farklı cilt hastalıkları bulunmaktadır. İncelendiğinde yumuşak dokuda, eklem, kemik ve endovasküler bozukluklarda önemli bir etkindir. *Staphylococcus aureus*, normal insan mikrobiyotasında az miktarda bulunur. *S. aureus* ile temasta olan kişiler enfeksiyonlara açık hale gelmektedir. Özellikle hastanede yatış işlemi gören Tip1 diyabetli hastalar, intravenöz ilaç kullanımı olan hastalar, hemodiyaliz hastaları, cerrahi operasyon geçirmiş hastalar, immün yetmezlik durumu olan hastalar risk altındadırlar. Enfekte bir hastaya temas eden sağlık çalışanı diğer bir hastaya bulaştırma riski taşımaktadır.

*Staphylococcus aureus*'un sebep olduğu patogeneze durumları içinde enterotoksin üretimi sonucu gıda zehirlenmesi önemlidir. Gıda kontaminasyonu sonucu oluşan bakteriler enterotoksin oluşturur. Bu gıdaların tüketilmesi sonucu da insanda enfeksiyon gelişimi olur. Kusma, mide bulantısı, ishal, karın ağrısı bu durumun eşlikçileridir. Enterokolit durumunda gıda zehirlenmesine benzer olarak ateş de gözlenir. Bakteri varlığı dışkı örneklerinin incelenmesiyle ortaya çıkmaktadır. Toksik şok sendromu; bakterilerin bir yara varlığında çok

hızlı bir gelişim göstermesi ile ortaya çıkmaktadır. Bu sendrom sonucu çoklu organ yetmezliği seyriyle beraber hipovolemik şok ve ölüm gözlenebilmektedir. Bakterinin bazı suşları eksfoliatif toksin A ve eksfoliatif toksin B üreterek özellikle bebek ve çocuklarda ve nadiren yetişkinlerde haşlanmış deri sendromuna ya da bülloz impetigoya sebep olabilmektedirler. Oral olan salgıların akciğere geçişi sonucu aspirasyon pnömonisi gelişebilmektedir. Bu bakteriler bölgesel olarak apseye veya infiltrasyona sebebiyet verebilmektedir. Eğer insanlara metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) bulaşımı olmuş ise ölüm oranı yüksek seyreden nekrotizan pnömoni gelişebilmektedir (Lowy, 1998).



Şekil 2.1. *Staphylococcus aureus*'un elektron mikroskobu altındaki görüntüsü (x10000 büyütme oranı)(<http-3>)

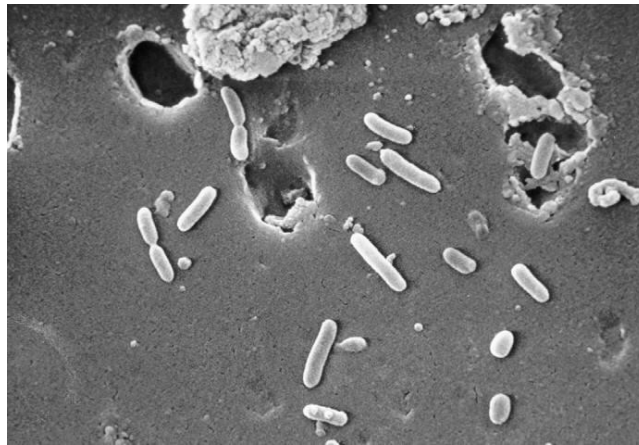
### 2.7.2. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* Gram negatif bir basildir (Şekil 2.2). Doğada tatlı sularda, deniz ortamında ve toprakta bol miktarda bulunmaktadır. Fırsatçı bir patojen olduğu için insanlarda hastalıklara sebebiyet vermektedir (Michel-Briand ve Baysse, 2002). Enterobakterlerin aksine *Pseudomonas*lar oksidaz pozitif özellik gösterirler. Diğer *Pseudomonas* türleri arasında insan bedeninde en çok enfeksiyona sebebiyet veren tür *Pseudomonas aeruginosa*'dır (<http-2>). *Pseudomonas aeruginosa*'nın uç kısmında tek (polar) bazen de 2-3 adet kamçı benzeri yapı mevcuttur. Bu bakteri türü çok hareketli bir yapıya sahip olup tek olarak veya ikili olarak bazen de kısa zincir halinde bulunabilir. Çok çeşitli besiyerinde üreme gösterebilmektedirler. Bunlara örnek olarak; %5 koyun kanı içeren Triptik Soy agar, çikolata agar, standart buyyon, Columbia agar, Mac Conkey agar gibi besiyerleri örnek gösterilebilir. Besiyerinde üreme sonucu yeşil floresan pigment oluşumu ve sabun veya meyve kokusu ile karakteristik bir özellik göstermektedirler. Zor hayatta kalma koşullarına ve

dezenfektan maddelere direnç gösterdiği için hastane ortamında hem de günlük toplumsal alanlarda uzun süreli aktif kalabilmektedir (Gürpınar ve Köseoğlu-Eser, 2022).

Bu bakterinin hastalık yapıcı etkilerinde konak hücre ve bakterinin virulans faktörleri etkili olmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa*'nın hastalık yapıcı etkisi hücresel ve hücrenin dışına verilen faktörler şeklinde 2 gruba ayrılır; etken yüzeye yapışır bölgesel olarak bulunduğu alanda çoğalma faaliyeti gerçekleşir. Çevre dokulara yayılma sonucunda sistemik enfeksiyon durumu gelişebilir (Siriken ve Veli, 2017). Bağışıklık sistemi baskılanmış, organ nakli olan, yanık tedavisi gören hastalarda bakteri ile enfekte olma durumu daha yüksektir. *P. aeruginosa*, hastane enfeksiyonuna neden olan bakteriler arasında yaygın olarak gözlenmektedir. Yoğun bakım ünitelerinde özellikle yaygın bir dağılım göstermektedir. Bu hastalarda titreme, nefes darlığı, balgamlı öksürük ve siyanoz gelişmesi ile mortalite ile sonuçlanan pnömoni hastalığına sebep olabilmektedir. *Pseudomonas*ların sebep olduğu hastalıklara bakıldığında, solunum yolu hastalıkları, bakteriyemi, endokardit, santral sinir sistemi hastalıkları, kulak ve göz hastalıkları, kemik ve eklem hastalıkları, gastrointestinal sistem ve idrar yollarında meydana gelen enfeksiyonları, deri ile yumuşak doku enfeksiyonları şeklindedir (http-2).

Hastane enfeksiyonları içinde *P. aeruginosa* ilk sırada yer almaktadır. Çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirme durumu çok yüksek seyrettiği için tedavi aşamasında zorlu koşullar oluşmaktadır. Bu sebeple yüksek oranda mortalite ve morbiditeye sebebiyet vermektedirler (Gül ve ark., 2004). *P. aeruginosa*'da tedavi protokolü olarak genellikle çoklu antibiyotik seçimi yapılarak ilerlemektedir.



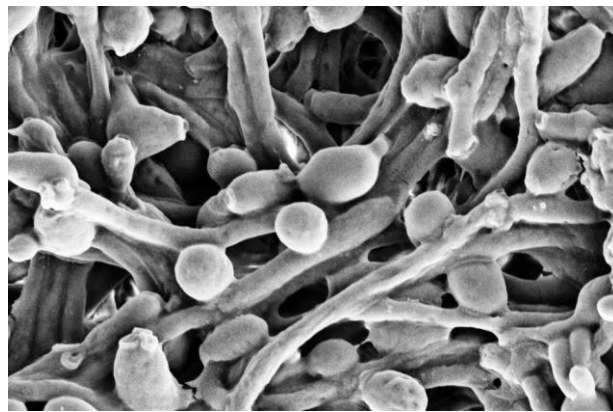
**Şekil 2.2.** *Pseudomonas aeruginosa*'nın elektron mikroskobu altındaki görüntüsü (x15000 büyütme oranı) (http-2)

### 2.7.3. *Candida albicans*

*Candida* türleri, aerop şartlar altında, 25°C ve 37°C arasında 24-72 saat arasında basit kültür ortamında üreme gösteren maya mantarıdır (Şekil 2.3). Özel kültür ortamında ise hif ya da uzamış yalancı hif oluşumu göstermektedir (Seyedmousavi ve ark., 2015). Eşeyli çoğalma özelliği gösterip, diploid yapıya sahip olan bir maya mantarıdır (Çelik ve ark., 2020). *Candida albicans* sıklıkla deri ve mukozal membranlarda hastalığa sebep olan fırsatçı patojenik bir türdür (Sudbery, 2011). *Candida* gastrointestinal sistem, kadın üreme sistemi, ağız boşluğu ve deride bulunarak vücudun çeşitli bölgelerinde asemptomatik olarak çoğalma göstermektedir. Sağlıklı insan mikrobiyotası içinde az miktarda bulunur. Sağlıklı bağışıklık sistemine sahip olan kişilerde *Candida albicans*, mikroorganizma florası içerisinde bulunan diğer gruplarla uyum içinde yaşayıp zararsız bir yapı oluşturmaktadır (Polke ve ark., 2015).

*Candida albicans*' in hücre duvarının %80 ve %90' ını karbonhidratlar ve %6-25' ini ise protein yapısı oluşturmaktadır. Lipit yapısı %1 ve %7 oranında, kitin yapısı ise %8.5 ve %9 oranındadır. Patojenite ve virulansla ilişkili biyolojik fonksiyonlar hücre duvarında bulunmaktadır (Kantarcıoğlu ve Yücel, 2004).

İnsanda önemli fırsatçı enfeksiyonlara sebep olan *Candida* türleri, son yıllarda enfeksiyon kaynağı olarak önemli ölçüde bir yükseliş göstermektedir. Yoğun bakım servislerinde yüksek mortalite oranına sahip olan hastanede gelişen enfeksiyon durumlarının %15'ini *Candida* türlerinin oluşturduğu gözlemlenmiş ve raporlanmıştır. Bu türler arasından ise en sık rastlanan türün *Candida albicans* olduğu belirtilmiştir (Tunç ve ark., 2021).

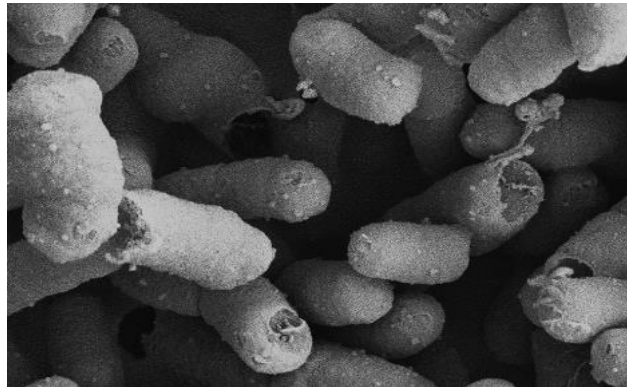


Şekil 2.3. *Candida albicans*' in elektron mikroskobu altındaki görüntüsü (x15000 büyütme oranı) (http-

4)

#### 2.7.4. *Escherichia coli*

*Escherichia coli*, Enterobacteriaceae familyasına dahil bir bakteri türüdür. Fakültatif anaerobik, Gram negatif özellikte olup; hareketli ve spor oluşturmeyan kokobasil görünümlü bir yapıya sahiptir (Şekil 2.4). *Escherichia coli* hücrelerinin yüzeyinde fimbriya ya da pilus adında yapılar bulunmaktadır. Bu yapılar bakterinin konak mukoza yüzeyine yapışmasından sorumlu olarak fonksiyon gösterir. Bakteri suşlarının bir kısmı hareketsiz bir kısmı da hareketli bir yapıya sahiptir. Bakteri suşlarının çoğu laktozu fermente edebilir; fermentasyon sonucunda asit ve gaz oluşumu gösterir. *E. coli* glukozu da fermente etmektedir. Sitokrom oksidaz olmadığı için oksidaz negatif olarak özellik taşır (Harvey ve ark., 2018). Sıvı besiyerinde hızlı bir üreme özelliği gösterir (Omerovic ve ark., 2017). *Escherichia coli*, sıcakkanlı hayvanların ve insanlarda gastrointestinal sistemde normal florada çok sık olarak bulunan bir bakteri türüdür (http-5). Normal bakteri florasının bir parçası olarak bulunabileceği gibi bazı farklı suşlarının ürettiği toksinlerle ciddi enfeksiyon durumlarına sebebiyet verebilmektedir (http-6). Dünya genelinde ishale sebep olan enfeksiyonun yaygın nedeni olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Bunun yanında komplike ve komplike olmayan idrar yolu enfeksiyonlarının sık rastlanan sebebi olarak görülebildiği gibi sepsis, yenidoğan menenjit ve bakteriyemisinin temel sebebi olarak görülmektedir. *Escherichia coli*'de artış gösteren antibiyotik direnci sebebi ile geçirilen enfeksiyonlar neticesinde morbidite, mortalite diğer ciddi rahatsızlıklar oluşabilmektedir. Antibiyotik direncinden kaynaklı olarak sağlık hizmetlerinde ve toplumsal olarak ciddi maliyet artışları gözlenmektedir (http-6). Hastalık yapıcı etkiye sahip olan *Escherichia coli* suşları neden olduğu hastalığın türüne ve sahip olduğu virulans özelliğe göre gruplandırılmaktadır. Patogen özellikte olan suşlar ile patojen özellikte olmayan suşların ayırt edici yanları sadece virulans genleri değildir. Bu genlerin dış görünüşleri ayırıcı özellikte daha ön planda olmaktadır (Omerovic ve ark., 2017).



Şekil 2.4. *Escherichia coli*'nin elektron mikroskobu altındaki görüntüsü ( $\times 20000$  büyütme oranı) (Wang ve ark., 2020)

## 2.8. Kozmetik Ürönlere Uygulanan Mikrobiyolojik Analiz Yöntemleri

Ölkemizde kozmetik ürün üretimi esnasında Sağlık Bakanlığına bağı TİTCK tarafından kılavuzlar yayınlanarak üretilen kozmetik ürünlerin güvenliik değeriendirilmeleri sağlanmaktadır. 22.06.2020 tarihinde “TİTCK Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değeriendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0’ü yayınlamıştır. Bu kılavuza göre üretilen kozmetik ürününün üretim yapan taraf tarafından uygun şartlar altında hazırlanması durumunda ya da ürünün sunulmasında, etiketlenmesinde ve kullanım aşamalarında ve üretici tarafından belirtilen bilgilere dayanarak kullanım sağlandığında, kişı açısından herhangi bir sağlık sorunu oluşturmaması gerektiğini öne sürölür. Kozmetik ürün üretiminde TİTCK “Kozmetik Ürün Güvenlilik Raporu” da istenmektedir. Kozmetik ürünlerin kalitatif ve kantitatif bileşimlerinin açıkça belirtilmesi gerekmektedir. Hammaddeden başlanılarak bitmiş ambalajlı ürüne kadar tüm detaylar belirtilmelidir.

TİTCK’nın ilgili kılavuzunda özellikle belirli bir popülasyonda ya da hassas vücut yüzeylerinde kullanımı hedeflenen kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik olarak analizlerinin sonuçlandırılmasına önem verilmektedir. Mikrobiyolojik spesifikasyon çalışmalarında özellikle riskli gruplar için analizler büyük önem arz etmektedir. Bu gruplar göz çevresi, genel mukoza zarları, hassas deri, üç yaş altı çocuklar, yaşlılar ya da riskli bağışıklık yanıtı gösteren kişilerdir. Kozmetik ürünlerde mikroorganizma yükü açısından değeriendirmeler yapılmaktadır. Mikrobiyolojik analizlerde ilk basamak olarak kozmetik ürünün farklı dilüsyonları hazırlanmalıdır. Toz formundaki ürünler süspande edilmelidir. Hazırlanan dilüsyonlar ile uygun konsantrasyonda mikroorganizma sayısı elde edilir. Analizi yapılacak ürün su ile karışmayan bir ürün ise dilüsyona belirli miktarlarda yüzey aktif madde eklemesi yapılmaktadır. Analizin yapıldığı her aşamada ve yöntemde antimikrobiyal özelliklerin değeriendirilmesi ve stabil tutulması amacı ile kontrol ve validasyon işlemlerinin yapılması gerekmektedir. Yapılan kalitatif testler ve mikroorganizma varlığı veya yokluğunun araştırılması için yapılan testler sonucunda üreme gerçekleşirse kolonilerin üreme ve karakteristik durumlarının incelenmesi gerekmektedir (TİTCK Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değeriendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0, 2020). Kozmetik ürünlerdeki mikrobiyolojik limit değerieleri belirlenmiştir (Tablo 2.5)

Kozmetik ürünler mikrobiyolojik duyarlılıkları göz önüne alındığında; düşük mikrobiyolojik riskli, tek kullanımlık ve açılmamış ürünler ile diğeri ürünler olarak üç grup altında toplanır. Düşük mikrobiyolojik riskli ürönlere bilimsel bir doğrulama sağlanması amacıyla tarama-zorlama (challenge test) testi ya da mikrobiyolojik kalite testlerinin yapılması

gerekir. Tek kullanımlık ürünler ve açılmayan ürünlerde de mikrobiyolojik kalite testlerinin uygulanması gerekmektedir. Diğer bitmiş ürünlerde challenge testi ve mikrobiyolojik olarak kalite testinin yapılmasının şart olduğu diğer bütün grupları içerisine almaktadır (TİTCK Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0, 2020).

**Tablo 2.5.** Kozmetik Ürünlerdeki Mikrobiyolojik Limit Değerleri (TİTCK Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirmesine İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0, 2020)\*.

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

\*Plak sayımıyla ilgili değişkenliğe bağlı olarak, USP-Amerikan Farmakopesin Bölüm 61 veya EP-Avrupa Farmakopesi Bölüm 2.6.12' ye göre,

Sonucun değerlendirilmesi, a> 200 CFU/g veya ml, b>2000 CFU/g veya ml ise sonuçlar sınırın dışında kalır.

Not: SDA'da bakteri kolonileri tespit edildiğinde, antibiyotik içeren SDA kullanılır.

**2.8.1. TSE EN ISO 21149 Kozmetikler/Mikrobiyoloji/Aerobik mezofilik mikroorganizmaların (bakteri, mantar) tespiti ve sayımı durumu:** Bu standarda göre kozmetik malzemelerdeki oksijenli ortamda yaşayan mezofilik bakteri sayılarının belirlenmesi için, aerobik inkübasyon ortamı sağlandıktan sonra agar ortamında oluşan kolonilerin sayımı ya da zenginleştirilmesi sonucu bakterilerin üremelerinin ve sayımının gerçekleştirilmesidir.

**2.8.2. TSE EN ISO 18415 Kozmetikler/Mikrobiyoloji/Belirlenmiş ve belirlenmemiş mikroorganizmaların tespiti durumu:** Mikrobiyal analiz için seçici olmayan sıvı ortam koşullarındaki zengin besiyerinde mikrobiyal çoğalmanın tespiti gerçekleştirilip daha sonra mikroorganizmaların seçici agar ortamında izolasyonunu esas almaktadır.

**2.8.3. Belirli mikroorganizma tespiti için ISO yöntemleri:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Echerichia coli* ' nin seçici olmayan sıvı ortamda zenginleştirilmiş besiyerinde tespiti gerçekleştirildikten sonra seçici agar ortamında ayrıştırılmasını esas almaktadır.

**2.8.4. TSE EN ISO 16212 Kozmetikler/Mikrobiyoloji/Maya ve küfün sayılması durumu:**

Kozmetik ürünlerde olan mantarların aerobik ortamda inkübasyonu gerçekleştirildikten sonra selektif agar ortamında oluşan kolonilerin sayılmasını esas almaktadır.

**2.8.5. TSE EN ISO 11930–Kozmetikler/Mikrobiyoloji/Bir kozmetik malzemedeki antimikrobiyal koruyuculuğun değerlendirilmesi durumu:** Koruyucu etkinlik testini veya mikrobiyolojik olarak risk değerlendirmesini veya bu ikisinden alınan verilerin anlamlandırılmasını esas almaktadır.

**2.8.6. Aerobik plak sayısı hesabı (Aerobic Plate Count (APC)):** Kozmetik malzemenin bir mililitresindeki veya bir gramındaki toplam aerobik mezofilik bakteri sayısının hesaplanmasını esas almaktadır.

**2.8.7. Maya ve Küf Sayısı hesabı:** Kozmetik ürünün bir mililitresindeki veya bir gramındaki toplam mantar sayısını esas almaktadır.

**2.8.8. Spesifik Patojenlerin Görüntülenmesi İçin Zenginleştirme Yöntemi:** Kozmetik ürünlerdeki zararlı olan mikrobiyal popülasyonun çok az sayıda olmuş olsa da varlığının analizini esas almaktadır.

**2.8.9. Toplam Gram negatif Testi Tayini (Gram negatif bakterilerin bulunması):** , *Enterobacter*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Salmonella*, *Serratia*, *Klebsiella pneumoniae* vb. Gram negatif bakterilerinin varlığının araştırılmasını esas almaktadır.

**2.8.10. Toplam Gram pozitif Testi Tayini(Gram pozitif bakterilerin bulunması):** , *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* vb. Gram pozitif bakterilerinin varlığının araştırılmasını esas almaktadır.

**2.8.11. USP Yöntem 61 Mikrobiyal Limit Testi:** Kozmetik ürünlerdeki bakteri veya mantarla kontaminasyona maruziyetinin araştırılmasını esas almaktadır (TİTCK Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kontrolüne İlişkin Kılavuz Sürüm 1.0).

### **3. MATERİYAL VE YÖNTEMLER**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Çalışmada Kullanılan Kozmetik Ürünler**

Çalışmamızda çeşitli halk pazarlarından ve bijuterilerden alınan 15 adet ruj örneği kullanılmıştır.

##### **3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler, Boyalar, Çözeltiler ve Sarf Malzemeler**

Boyalar;

- Gram boyama seti (Gram iyodin, kristal viyole, etil alkol (%95), safranin) (Norateks Gram Boyama Seti)
- Laktofenol pamuk mavisi (Tekkim)

Çözeltiler;

- İndol ayırıcı Kovacs (Norateks)
- %3'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi (Sigma)
- Tween 80 (Merck)
- Fosfat tamponu (pH:7) (Merck)
- Fizyolojik tuzlu su (FTS)
- pH ayarı için 1 N NaCl çözeltisi ve 1 M HCl

Kimyasal maddeler;

- Agar (Condalab)
- Glikoz (Sigma)

Sarf malzemeler

- Steril cam tüp (16 ml)
- Steril öze
- Pipet (1 ml 100 µl)
- Tek kullanımlık T Drigalski spatülü
- Mavi pipet ucu (1000 µl)
- Sarı pipet ucu ( 200 µl)
- 90 ml steril petri plağı
- Alüminyum folyo
- Otoklav bandı

- Filtre kağıdı
- Mezür
- Erlen Mayer
- Beher
- Lam
- Lamel

### 3.1.3. Kullanılan Cihazlar

- Steril Kabin (Heraeus Hera Safe-Almanya)
- Mikrobiyolojik olarak kullanılan Etüv (FD53, WTC Binder-Hollanda)
- Ben Mari (11370, TERMAL-Türkiye)
- Sterilizatör (FN500, Nüve-Türkiye)
- Buzdolabı (27050EB, Arçelik-Türkiye)
- pH metre (PH211, Hanna-İngiltere)
- Hassas Tartım Cihazı (CP2250, Sartorius-Türkiye)
- Otoklav (HV 50L-Hirayama-Hindistan)
- Vorteks Cihazı (TTS 2- Yellowline Jeitech-Kore)
- Koloni Sayacı (Funke Gerber-Almanya)
- Binoküler Işık Mikroskobu (3144002045, CARL ZEISS-Almanya)

### 3.1.4. Kullanılan Besiyerleri

#### 3.1.4.1. Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Sabouraud Liquid Medium)(HiMedia)

Pepton 10 g/L

Dekstroz 20 g/L

Agar 20 g/L

30 g besiyeri hassas terazide tartılıp Erlen Mayer'e aktarıldıktan sonra üzerine distile su eklenerek 1 L' ye tamamlanmıştır. Katı besiyeri için 20 g agar tartılıp Erlen Mayer'e eklenmiştir. Karıştırıldıktan sonra besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 5,5 olarak ayarlanmıştır. Erlen Mayerdeki besiyeri ağzı tamponla kapalı şekilde otoklavda 121 °C, 1 Atm basınç uygulaması altında 15 dakika süresince sterilizasyon işlemi sağlanmıştır. Steril ortam, steril kabin içinde Petri plaklarına 20 ml olarak taksim edilmiş yayılarak hazırlanmış ve donması beklenerek kullanılmıştır.

#### **3.1.4.2. Plate Count Agar (Merck)**

|                           |         |
|---------------------------|---------|
| Peptone                   | 5 g/L   |
| Yeast extract(maya özütü) | 2,5 g/L |
| Glikoz                    | 1 g/L   |
| Agar                      | 15 g/L  |

Besiyeri hassas terazide 13 g olarak tartılıp Erlen mayer'e aktarıldıktan sonra üzerine distile su eklenerek 1 L' ye tamamlanmıştır. Besiyerine 20 g/L glikoz ilavesi yapılmıştır. Karıştırılarak besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7'ye ayarlanmıştır. Besiyeri ağzı tamponla kapalı şekilde otoklavda 121 °C 1 Atm basınç uygulaması altında 15 dakika süresince sterilizasyon işlemi sağlanmıştır. Steril ortam, steril kabin altında yaklaşık 20 ml olarak taksim edilmiş ve agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

#### **3.1.4.3. Eosin Methylene Blue Agar (EMB, Eozin Metilen Mavisi)(Difco)**

|                       |          |
|-----------------------|----------|
| Bakteriyolojik pepton | 10 g/L   |
| Bakteriyolojik laktoz | 5 g/L    |
| Bakteriyolojik sukroz | 5 g/L    |
| Dipotasyum fosfat     | 2 g/L    |
| Bakteriyolojik agar   | 13,5 g/L |
| Eosin Y               | 0,4 g/L  |
| Metilen mavisi        | 0,06 g/L |

36 g besiyeri hassas terazide tartılıp Erlen Mayer'e aktarıldıktan sonra üzerine distile su eklenerek 1 L' ye tamamlanmıştır. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7'ye ayarlanmıştır. Besiyeri ağzı kapalı şekilde otoklavda 121 °C, 1 Atm basınç uygulaması altında 15 dakika süresince sterilizasyon işlemi sağlanmıştır. Steril ortam, steril kabin altında Petri plaklarına 20 ml olarak taksim edilerek agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

#### **3.1.4.4. Cetrimide Agar (Merck)**

|                               |         |
|-------------------------------|---------|
| Jelatinden elde edilen pepton | 20 g/L  |
| Magnezyum klorid              | 1,4 g/L |

|                 |         |
|-----------------|---------|
| Potasyum sülfat | 10 g/L  |
| Setrimid        | 0,3 g/L |
| Agar            | 13 g/L  |

44,5 g besiyeri hassas terazide tartılıp erlene aktarıldıktan sonra üzerine distile su eklenerek 1 L' ye tamamlanmıştır. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7'ye ayarlanmıştır. Karıştırıldıktan sonra ağzı tamponla kapalı şekilde otoklavda 121 °C, 1 Atm basınç uygulaması altında 15 dakika süresince sterilizasyon işlemi sağlanmıştır. Steril ortam, steril kabin altında Petri plaklarına 20 ml olarak taksim edilerek agarın donması beklenilerek kullanılmıştır.

#### **3.1.4.5. Chapman Agar (Merck)**

|                               |         |
|-------------------------------|---------|
| Kazerinden elde edilen pepton | 10 g/L  |
| Yeast extract (maya özütü)    | 2,5 g/L |
| Dipotasyum hidrojen fosfat    | 5 g/L   |
| Jelatin                       | 30 g/L  |
| Laktoz                        | 2 g/L   |
| D(-)mannitol                  | 10 g/L  |
| Sodyum klorid                 | 75 g/L  |
| Agar                          | 12 g/L  |

146,5 g besiyeri hassas terazide tartılıp Erlen Mayer'e aktarıldıktan sonra üzerine distile su eklenerek 1 L' ye tamamlanmıştır. Besiyerinin pH'sı pH metre ile ölçülerek 7'ye ayarlanmıştır. Karıştırıldıktan sonra ağzı tamponla kapalı şekilde otoklavda 121 °C, 1 Atm basınç uygulaması altında 15 dakika süresince sterilizasyon işlemi sağlanmıştır. Steril medyum, steril kabin altında Petri plaklarına 20 ml olarak taksim edilerek agarın donması beklenilerek kullanıma hazırlanmıştır.

### 3.2. Yöntemler

#### 3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Her bir ruj örneğinden 1 g tartılarak (Şekil 3.1) ardından steril tüplere aktarılmıştır. Şekil 3.2.' deki dilüsyon işleminin sağlanabilmesi için her tüpe 0,5 g Tween 80 ve 8,5 ml fosfat tamponu ilave edilerek homojen karışım sağlanana dek vorteks cihazında karıştırılmıştır.



Şekil 3.1. Ruj örneklerinin tartım kaplarına taksimi



Şekil 3.2. Ruj örneklerinin homojenize edilerek hazırlanması

#### 3.2.2. Örneklerden Dilüsyonların Hazırlanması

Hazırlanan ruj materyallerinden 1'er ml alınıp üzerine 9 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) eklenmesi ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır. 1/10, 1/100 ve 1/1000 olarak hazırlanan seri dilüsyonlar her dilüsyon öncesinde vorteksenerek homojenizasyon sağlanmıştır (Şekil 3.3).



**Şekil 3.3.** Hazırlanan seri dilüsyon örnekleri

### **3.2.3. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı Belirlenmesi**

Örneklerden yayma plak yöntemi ile Plate Count Agar besiyerine ekim yapılmıştır. Hazırlanan seri dilüsyonların her birinden 100 mikrolitre alınıp besiyeri üzerine eklendikten sonra T drigalski spatülü aracılığıyla yayma ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Petri plaklarının üzerine örnek adı, sulandırım oranı ve tarih bilgisi işlenmiştir. Ekim işlemi gerçekleştirilen Petri plakları aerob şartlar altında 37°C’de 2 gün kadar inkübasyona bırakılmıştır. Tüm örnekler üç paralel şeklinde çalışılmıştır. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra oluşan kolonilerin sayım işlemi yapılmıştır. Sayım işlemi yapılırken seyreltme faktörü de hesaplanarak tartılan örneklerin g/ml’inde mevcut olan toplam aerobik mezofilik bakteri miktarı belirlenmiştir.

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

n: 1 ml’deki bakteri sayısı

K: Petri plağı yüzeyinde sayılan koloni sayısı

d: sulandırım oranı

s: Petri plağına yayılan örnek miktarı

### 3.2.4. Toplam Mantar Sayısının Belirlenmesi

Yayma plak yöntemi ile Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerine ekim yapılmıştır. Hazırlanan seri dilüsyonların her birinden 100 mikrolitre alınıp besiyeri üzerine eklendikten sonra T drigalski spatülü aracılığıyla yayma ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi gerçekleştirilen Petri plakları 25°C civarında ve 5-7 gün kadar inkübasyona bırakılmıştır. Tüm örnekler 3 paralel şeklinde çalışılmıştır. Petri plaklarının üzerine örnek adı, sulandırım oranı ve tarih bilgisi işlenmiştir. Petri her gün üreme açısından kontrol edilmiştir.

İnkübasyon işlemi tamamlandıktan oluşan koloni sayacı altında kolonilerin sayım işlemi yapılmıştır. Sayım işlemi yapılırken seyreltme faktörü de hesaplanarak tartılan örneklerin g/ml' sinde mevcut olan toplam mantar sayısı belirlenmiştir.

### 3.2.5. Kültürlerdeki Mikroorganizmaların İzolasyonu

Ruj örneklerinden bakteri ve mantar izolasyon ve identifikasyonları çalışmaları için besiyerlerine ekim ve spesifik ajan besiyerlerine ekim aynı anda yapılmıştır. Herbir sulandırım tüpünden 3 paralel çalışma gerçekleştirilmiştir. Aynı çalışmanın tekrarı da 3 kez yapılmıştır. Bakteri üretim besiyerine 3 µg/ml antifungal ajan (ketakonazol); mantar üretim besiyerine 6 µg/ml antibakteriyel ajan (kloramfenikol) ilavesi yapılmıştır. Oluşabilecek kontaminasyon riskinin önüne geçmek için bütün çalışmalar steril koşullarda ve standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

İnkübasyon sonrasında besiyerlerinde üreyen morfolojik olarak farklılık gösteren kolonilerden steril öze ile alınarak farklı bakterilerin varlığının araştırılması amacıyla bazı seçici besiyerlerine yeniden paralel ekimler yapılmıştır. *Escherichia coli* araştırması amacıyla Eosin metile blue agar, *P. aeruginosa* için Cetrimide agar, *S. aureus* için Chapman agar spesifik besiyerlerine ekim gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.5.1. *Staphylococcus aureus* Varlığının Araştırılması

Yayma plak yöntemi ile Champan Agar besiyerine spesifik ekim yapılmıştır. Hazırlanan seri dilüsyonların her birinden 100 mikrolitre alınıp besiyeri üzerine eklendikten sonra T drigalski spatülü aracılığıyla yayma ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi gerçekleştirilen Petri plakları aerobik koşullarda 37°C'de 2 gün kadar inkübasyon için bekletilmiştir.

### **3.2.5.2. *Escherichia coli* Varlığının Araştırılması**

Yayma plak yöntemi ile EMB Agar besiyerine spesifik ekim yapılmıştır. Hazırlanan seri dilüsyonların her birinden 100 mikrolitre alınıp besiyeri üzerine eklendikten sonra T drigalski spatülü aracılığıyla yayma ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi gerçekleştirilen Petri plakları aerob koşullarda 37°C'de 2 gün süresince inkübasyon için bekletilmiştir.

### **3.2.5.3 *Pseudomonas aeruginosa* Varlığının Araştırılması**

Yayma plak yöntemi ile Cetrimide Agar besiyerine spesifik ekim yapılmıştır. Hazırlanan seri dilüsyonların her birinden 100 mikrolitre alınıp besiyeri üzerine eklendikten sonra T drigalski spatülü aracılığıyla yayma ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi gerçekleştirilen Petri plakları aerob koşullarda 37°C'de 2 gün kadar inkübasyon için bekletilmiştir.

### **3.2.5.4. *Candida albicans* Varlığının Araştırılması**

Yayma plak yöntemi ile Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerine ekim yapılmıştır. Hazırlanan seri dilüsyonların her birinden 100 mikrolitre alınıp besiyeri üzerine eklendikten sonra T drigalski spatülü aracılığıyla yayma ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi gerçekleştirilen Petri plakları 25°C'de 5-7 gün boyunca inkübasyon için bekletilmiştir.

## **3.2.6. İzole Edilen Mikroorganizmaların İdentifikasyonu**

Saf kültür olarak oluşan mikroorganizmaların koloni morfolojilerinin incelenmesinin ardından Gram boyama ve bazı biyokimyasal test yöntemleri uygulanmıştır. Yapılan bu testler neticesinde kontaminasyona maruziyet durumlarının değerlendirilmesi yapılmıştır.

### **3.2.6.1. Gram Boyama**

Bakterilerin hücre duvarındaki yapısal farklılıklardan yararlanılarak yapılan bir işlemdir. Kliniklerde de hızlı, kolay ve ucuz bir işlem olduğu için tanı konulmasında çok sık tercih edilen bir yöntemdir (Harvey ve ark., 2013).

Preparat hazırlarken lam üzerine 1 damla distile su damlatılmıştır. Üreme gözlenen besiyerlerindeki kolonilerden steril öze yardımı ile alınarak lam üzerinde homojen şekilde dağıtılmıştır. Preparat, kurumasının ardından lam üzerinde fiksasyonun sağlanması için alevden geçirilmiştir. Sırası ile önce preparat üzerinde kristal viyole boyası dökülüp ve 60 saniye beklenerek lam, distile suyla yıkanmıştır. Ardından örnek üzerinde lugol (Gram iyodin) dökülerek ve 1 dakikak beklenip yine distile su ile yıkanma yapılmıştır. Preparat üzerine etil alkol (%95) eklenip 15 saniye beklenerek distile suyla yıkanmıştır. En son aşamada preparat

üzerine safranin boyası eklenip 30 saniye tutulup distile suyla yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan lamlara immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobu altında x10, x40 ve x100 objektiflerle görüntülenerek morfolojik yapılar incelenmiştir. Hücrelerin boyanma özelliğine ve hücre morfolojisine bakılarak mevcut özellikleri belirlenmiştir. Mikroskopta mor-mavi renk oluşumu gösteren bakteriler Gram pozitif olarak, pembe renk oluşumu gösteren bakteriler Gram negatif olarak kaydedilmiştir (Tunalı, 2021).

#### **3.2.6.2. Metilen Mavisi İle Boyama**

Genel olarak saf ya da karışık kültür oluşumu gösteren bakteri ya da maya hücrelerine uygulanan bir yöntemdir (Tunalı, 2021). Preparat hazırlarken lam üzerine 1 damla distile su damlatılmıştır. Üreme gözlenen besiyerlerindeki kolonilerden steril öze yardımı ile alınarak lam üzerinde homojen şekilde dağıtılmıştır. Preparat, kurumasının ardından lam üzerinde fiksasyonun sağlanması için alevden geçirilmiştir. Lam üzerine metilen mavisi damlatıldıktan sonra 2-3 dakika beklenip boyanın akması için distile su ile yıkanıp kurumaya bırakılmıştır. Işık mikroskobu altında x10, x40 ve x100 objektiflerle görüntüleme sağlanarak morfolojik yapıları incelenmiştir.

#### **3.2.6.3. Laktofenol Pamuk Mavisi İle Boyama**

SDA besiyerinde üreme gözlenen kolonilerden steril öze yardımı ile alındıktan sonra lam üzerinde su ile homojenizasyon gerçekleştirilmiştir. Mantar kolonilerinin üzerine laktofenol pamuk mavisi damlatıldıktan sonra lamel ile kapatılıp ışık mikroskobu altında görüntülenmiştir. Işık mikroskobu altında x10 ve x40 objektiflerle görüntülenerek morfolojik yapıları incelenmiştir.

#### **3.2.6.4. Lugol Çözeltisi İle Boyama**

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

#### **3.2.6.5. Biyokimyasal Testler**

##### **3.2.6.5.1. Katalaz Testi**

Katalaz enzimi ile hidrojen peroksit, su ve moleküler oksijene parçalanır. Katalaz deneyi ile Gram pozitif bakteriler arasında ayırıcı bir tanı oluşturmaktadır (Harvey ve ark., 2013). Test bakteriler arasında ayırıcı bir tanı kriteri olarak kullanılmaktadır.

Besiyerlerinde üreyen kolonilerde katalaz enziminin varlığının veya yokluğunun araştırılması için %3' lük hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) kullanılarak katalaz testi yapılmıştır. Bakteri kolonilerinden steril öze yardımı ile alınarak lam üzerine konulmuştur. Lam üzerindeki örnek üzerine de %3' lük hidrojen peroksit damlatılmıştır. İşlem sonucunda kava kabarcığı gözlenen örnekler katalaz pozitif, hava kabarcığı gözlenmeyen örnekler katalaz olumsuz olarak değerlendirilmiştir (Akçelik vd., 2000).

#### 3.2.6.5.2. Oksidaz Testi

Bakteriler arasında ayırıcı bir tanı kriteri olarak kullanılmaktadır. Oksidaz testi, bakteriler tarafından sentezlenen oksidaz enziminin (sitokrom C oksidaz) varlığını saptamak amacıyla kullanılır. Oksidaz tepkimesinin oluşması aerobik bakterilerde bulunan sitokrom oksidaz enzim sisteminin varlığını göstermektedir. (Tunalı, 2021). Bazı bakterilerde elektron taşınması ile nitrat metabolizmasında Sitokrom C oksidaz enzimi aktif rol oynamaktadır. Bu enzim ile test yapıldığında pozitif sonucu mavi-siyah oksitlenmiş bir hal almaktadır (Harvey ve ark., 2013).

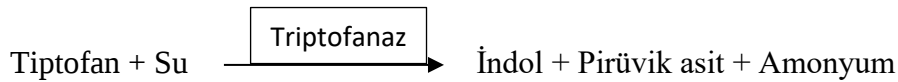
Oksidaz testinin araştırılması için %1' lik Kovac's ayırıcı kullanılmıştır. Filtre kağıdına emdirilmiş Kovac's ayırıcı üzerine bakteri kolonilerinden temas ettirilerek birkaç dakika beklenmiştir. Test sonucunda pembe veya mor rengin oluşması oksidaz pozitif, renk değişiminin olmaması ise oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Akçelik vd., 2000).

#### 3.2.6.5.3. IMViC (İndol, Metil Red, Voges Proskauer, Sitrat) Testleri

IMViC testleri Enterobacteriaceae familyasında bulunan bakteri türlerinin sınıflandırılması amacıyla yapılan standart biyokimyasal testlerdir (Dolapçı, 2016).

##### 3.2.6.5.3.1. İndol Deneyi

Triptofanaz enzimi, triptofanı indol, pirüvik asit ve amonyuma hidrolize eder. Analizi gerçekleştirecek mikroorganizmanın kolonisi triptofan sıvı medyuma inoküle edilerek 37°C civarında 2 gün inkübasyona tabi tutulmuştur. Bu süre tamamlandıktan sonra tüp duvarından sızdırılarak Kovac's ayırıcı damlatılmıştır. Yüzeydeki renklenme durumu incelenip değerlendirilmiştir (Dolapçı, 2016).



##### 3.2.6.5.3.2. Metil Kırmızısı Testi (MR)

Glikozun karışık asit fermentasyonu sonucunda ortaya organik asitler çıkmaktadır. Metil Red testinde ortam pH değeri 4,4' ün altına düşmesi durumunda metil kırmızısı ayırıcı

ile kırmızı renk oluşumu reaksiyonun pozitif olduğunu göstermektedir. Ayıraç pH değeri 6'nın üzerinde sarı renk gösterip negatif sonuç vermektedir (Dolapçı, 2016).

Öze ile bir miktar bakteri kolonisinden alındıktan sonra Glukoz Fosfat Broth besiyerine ekim yapılmıştır. 37°C'de 2 gün boyunca inkübasyon için bekletilmiştir. İnkübasyon süreci tamamlandığında metil kırmızısı ayırıcı eklenip renk oluşumu incelenmiştir (http-10).



#### **3.2.6.5.3.3. Voges-Proskauer Testi**

Bazı bakterin glikozu fermente ederek asetil metil karbinol gibi nötral maddeler oluşturmasını esas almaktadır. Asetil metil karbinol, potasyum hidroksit (KOH) varlığında oksidasyona uğrayarak diasetil oluşturur. Oluşan diasetil ise, alfa naftol ile reaksiyona girerek kırmızı renk almaktadır.

Öze ile bakteri kolonisinden alınarak tüp içindeki Glukoz Fosfat Broth besiyerine inoküle edildikten sonra 37°C civarında 2 gün süresince inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin bitiminde kültür tüpüne %40' lık KOH ardından %5' lik alfa naftol ilave edilip karıştırılmıştır. Bir süre beklendikten sonra kırmızı renk oluşumu (pozitif reaksiyon) durumu incelenmiştir (Dolapçı, 2016).

#### **3.2.6.5.3.4. Sitrat Testi**

Bazı bakterin sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığını analiz etme prensibine dayanmaktadır. Sitrat ve pH indikatörü olarak brom timol mavisi kullanılmaktadır. Sitrat metabolizasyonu sonucu oluşan alkali sonucu besiyeri rengi yeşilden maviye (pozitif reaksiyon) dönmektedir.

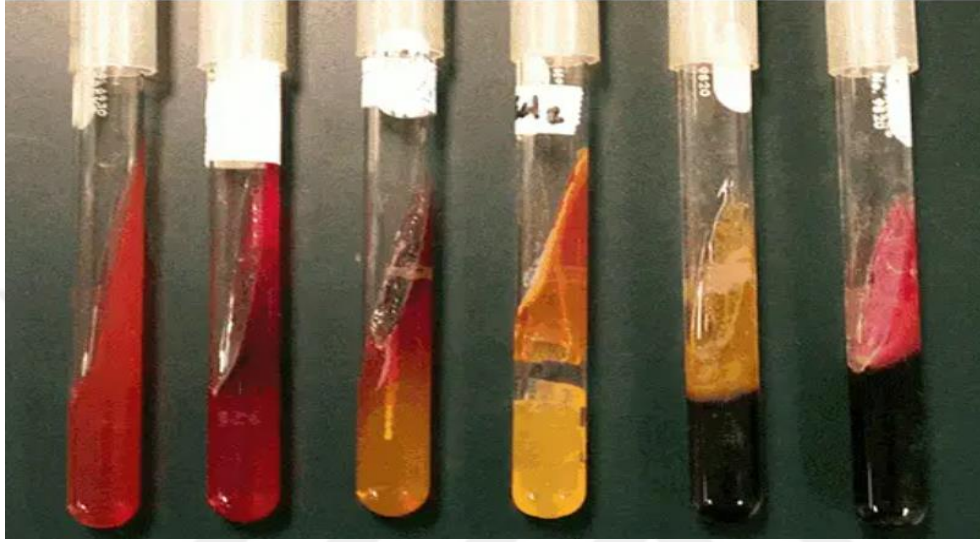
Öze ile bakteri kolonisinden bir miktar alındıktan sonra tüp içindeki Simon's Sitrat yatık agar besiyerine inoküle edildikten sonra 37°C'de 1 gün inkübasyon için bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda üreme ve renkteki değişim durumu incelenmiştir (Dolapçı, 2016).

#### **3.2.6.5.4. Triple Sugar Iron Testi**

Enterobacteriaceae familyasına ait olan Gram negatif (H<sub>2</sub>S pozitif) bakterileri tanımlamada ayırıcı bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Besiyeri içerisinde bulunan 3 karbonhidratın (glukoz, laktoz, sükroz) fermentasyonu sonucunda renk değiştirmesi ve gaz oluşturmasına bağlı olarak yorumlama yapılmaktadır (http-12). Öze ile bakteri kolonisinden

alınıp, hazırlanan besiyeri yüzeyine yayıldıktan sonra dik şekilde tüpün dibine kadar öze batırılıp ve 37°C’de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. Renk değişimleri incelenmiştir. Şekil 3.4’de TSI agarda karbonhidrat fermentasyonları ve H<sub>2</sub>S oluşumuna dair farklı örneklerin görseli bulunmaktadır.

**Şekil 3.4.** Triple Sugar Iron Agar’ da kültürlerin yorumlanması (Tunalı, 2021).



- a. Ekim işlemi gerçekleşmemiş TSI agar besiyeri
- b. Şeker fermentasyonu negatif sonuç
- c. Glukoz fermentasyonu pozitif sonuç
- d. Tüm şekerler fermente edilmiş ve asit,gaz oluşumu pozitif sonuç
- e. Tüm şekerler fermente edilmiş, asit oluşumu ve H<sub>2</sub>S oluşumu pozitif sonuç
- f. Glukoz fermentasyonu pozitif, H<sub>2</sub>S oluşumu pozitif sonuç

## 4. BULGULAR VE YORUM

### 4.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı ve Toplam Mantar Sayısı Sonuçları

İncelemesi yapılan 15 adet ruj örneğinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları hesaplanmış ve tablo olarak sunulmuştur (Tablo 4.1). İncelenen ruj örneklerinden 2 ve 3 numaralı örneklerin toplam bakteri koloni sayısı mikrobiyolojik limit değeri olan  $10^3$  cfu/g' nin üzerinde hesaplanmıştır. Yine incelenen ruj örneklerinden 4 numaralı örneğin mantar koloni sayısı mikrobiyolojik limit değeri olan  $10^3$  cfu/g' nin üzerinde olup;  $1,4 \times 10^3$  olarak hesaplanmıştır.

**Tablo 4.1.** Ruj örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayıları–Toplam mantar sayıları

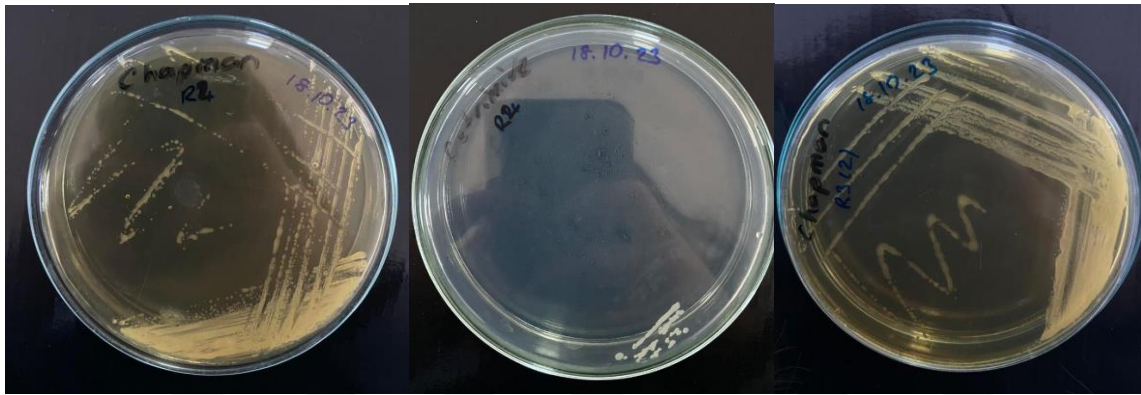
| Örnek Numarası | Bakteri Koloni Sayısı (cfu/g) | Mantar Koloni Sayısı |
|----------------|-------------------------------|----------------------|
| R1(likit)      | -                             | -                    |
| R2(likit)      | $1,6 \times 10^3$             | -                    |
| R3(likit)      | $3,8 \times 10^3$             | -                    |
| R4(likit)      | -                             | $1,4 \times 10^3$    |
| R5(likit)      | -                             | -                    |
| R6(likit)      | -                             | -                    |
| R7(likit)      | -                             | -                    |
| R8(likit)      | -                             | -                    |
| R9(katı)       | -                             | -                    |
| R10(katı)      | -                             | -                    |
| R11(likit)     | -                             | -                    |
| R12(katı)      | -                             | -                    |
| R13(likit)     | -                             | -                    |
| R14(katı)      | -                             | -                    |
| R15(likit)     | -                             | -                    |

### 4.2. Spesifik Ekim Yapılan Mikroorganizmaların Sonuçları

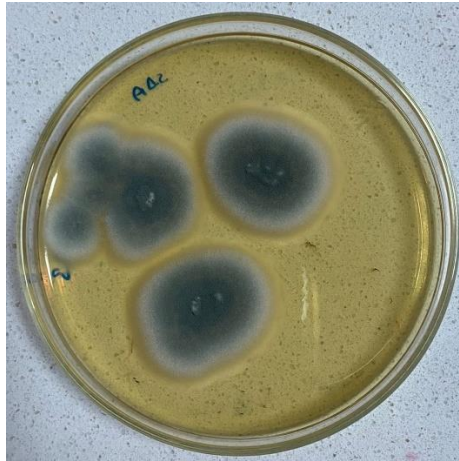
Seçici besiyerlerine yapılan koloni ekimleri neticesinde; 2 numaralı ruj örneğinde Chapman agar ve Cetrinide agarda koloni oluşumu, 3 numaralı ruj örneğinde Chapman agarda koloni oluşumu gözlenmiştir. 4 numaralı ruj örneğinde SDA besiyerinde mantar koloni oluşumu gözlenmiştir. Oluşan kolonilerin mikroskopik özelliklerinin incelenmesi için boyama yöntemleri uygulanmıştır.

**Tablo 4.2.** Spesifik ekim yapılan mikroorganizmaların üreme sonuçları

| Örnek Numarası | Chapman Agar | EMB Agar | Cetrimide Agar | SDA |
|----------------|--------------|----------|----------------|-----|
| R2             | +            | -        | +              | -   |
| R3             | +            | -        | -              | -   |
| R4             | -            | -        | -              | +   |
| R13            | -            | -        | -              | +   |



**Şekil 4.1.** Spesifik ekim yapılan bakterilerin Petri plak görüntüleri (sırası ile R2, R2, R3)

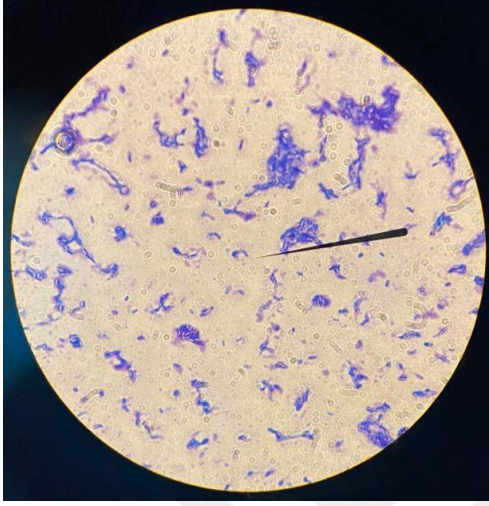


**Şekil 4.2.** Spesifik ekim yapılan mantar Petri plağı görüntüsü (R13)

#### 4.3. Gram Boyama Sonuçları

Morfolojik incelemesi yapılan mikroorganizma kolonilerinin incelemesi not edildikten sonra Gram boyama metodu ile mikroskop altında boyanma özellikleri ve hücresel morfolojileri incelenmiştir. 2 ve 3 numaralı ruj numunelerinin x100 büyütme ile mikroskop görüntüsü

verilmiştir (Şekil 4.3, 4.4) İnceleme sonucunda 3 numaralı örneğin Gram negatif özellikte, kümelenme şeklinde basil oluşumu gözlenmiştir. 2 numaralı ruj örneğinin Gram pozitif basil oluşumu gözlenmiştir. 4 numaralı ruj numunesinin x40 büyütme ile mikroskop görüntüsü incelenmiştir. İnceleme sonucunda maya mantarı görüntüsüne benzer hücreler gözlenmiştir.



**Şekil 4.3.** Bakteri kolonisi mikroskop görüntüsü (R3)  
(Büyütme oranı x100)



**Şekil 4.4.** Maya kolonisi mikroskop görüntüsü (R4)  
(Büyütme oranı x40)

#### 4.4. Lugol Çözeltisi–Laktofenol Pamuk Mavisi Boyama Sonuçları

Lugol çözeltisi ve laktofenol pamuk mavisi ile 13 numaralı ruj numunesinin x40 büyütme ile mikroskop görüntüsü incelenmiştir.



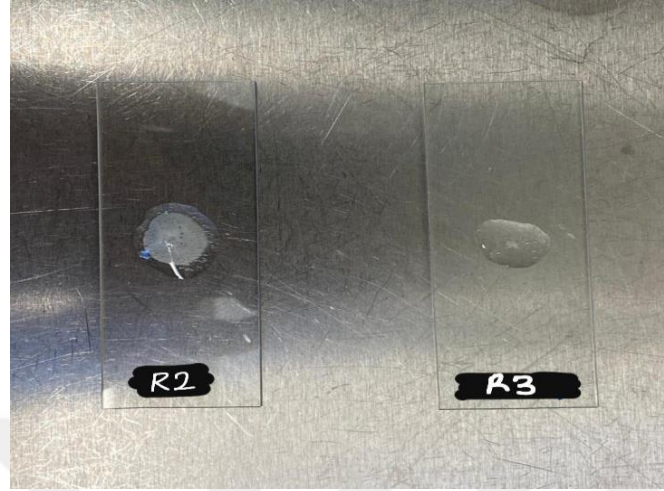
**Şekil 4.5.** Laktofenol pamuk mavisi ile mikroskop görüntüsü



**Şekil 4.6.** Lugol çözeltisi ile mikroskop görüntüsü  
(R13) (Büyütme oranı x40)

#### 4.5. Katalaz Testi Sonuçları

Spesifik ekim sonucu izole edilen bakterilerin katalaz testi sonucunda; 2 numaralı örnek pozitif sonuç, 3 numaralı örnek negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Katalaz test işlemi sonucu (sırası ile R2, R3)

#### 4.6. Oksidaz Testi Sonuçları

Spesifik ekim yapılan bakteri kolonilerinden gerçekleştirilen oksidaz testi sonucunda hepsi negatif sonuç vermiştir.

#### 4.7. IMViC Test Sonuçları

Gram boyama sonucu negatif olduğu gözlenen bakteri kolonileri üzerine IMViC test işlemleri gerçekleştirilmiştir. 3 numaralı ruj örneği üzerinden gerçekleştirilen IMViC testinin sonuçları gösterilmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. IMViC Test Sonuçları

| IMViC TESTİ | POZİTİF | NEGATİF |
|-------------|---------|---------|
| İndol       | +       | -       |
| MR          | +       | -       |
| VP          | -       | -       |
| C           | -       | -       |
| TSI         | +       |         |

#### 4.8. Triple Sugar Iron Test Sonuçları

3 numaralı ruj örneği için Triple Sugar Iron besiyerine yapılan ekim sonucunda, besiyerinin tümünde sarı renk oluşmuştur. Glukoz, laktoz ve sukroz bakteri tarafından kullanılmıştır.

## 5. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Kozmetik ürünler formülasyonlarında bulundurdıkları su, azot ve karbon kaynakları ile mikroorganizmaların çoğalması için uygun ortam sağlarlar (Tan ve Tüysüz, 2013). Kozmetik ürünlerin steril olma zorunluluğu bulunmamaktadır fakat GMP koşullarına uygun olarak üretilmeleri gerekmektedir. Uygun şartlar altında üretilmeyen kozmetik ürünlerde kontaminasyona maruziyet sonucunda çeşitli mikroorganizmaların üremesi gözlenebilmektedir. Bu sebeple kozmetik ürün üretimlerinde kanun ve yönetmeliklere bağlı kalınarak üretim gerçekleştirilmelidir. TİTCK tarafından yayımlanan yönetmelikler ile hammadde temininden başlanılarak ürün geliştirilmesinde ve bitmiş üründe gerçekleştirilmesi gereken tüm analizler için standart bir şema oluşturulmuştur. Bu standartlara uygun olarak üretilmeyen kozmetik ürünler kullanıcılar açısından enfeksiyon, tahriş, toksisite, alerji gibi sağlık riskleri oluşturmaktadır.

Halk pazarlarında açık tezgahlarda satılan orijinal olmayan ve genellikle gerekli mikrobiyolojik test ve kontrollerden yeterince geçmeyen ürünlerde mikrobiyal kontaminasyon riskinin daha fazla olduğu göz önünde bulundurularak tez çalışmamızda bu ürünler seçilmiştir. Çeşitli halk pazarlarından ve bijuterilerden satın alınan 15 adet kullanılmamış ruj numunesi kullanılmıştır. Çalışmamızda gerçekleştirilen mikrobiyolojik analiz işlemleri sonucunda R2 ve R3 ruj örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı TİTCK tarafından yayımlanan kılavuzda belirtilen limit değerlerin üzerinde saptanmıştır. 2 numaralı ruj örneğinin bakteri koloni sayısı  $1,6 \times 10^3$ , 3 numaralı ruj örneğinin bakteri koloni sayısı  $3,8 \times 10^3$  olarak hesaplanmıştır. Yine analiz sonucunda 4 numaralı ruj örneğinin toplam mantar sayısı limit değerlerin üzerinde ve  $1,4 \times 10^3$  olarak hesaplanmıştır. Gerçekleştirilen spesifik besiyerlerine ekim sonucunda 2 numaralı ruj örneği Chapman Agar besiyeri ve Cetrinide Agar besiyerinde koloni oluşumu göstermiştir. 3 numaralı ruj örneği yalnızca Chapman Agar besiyerinde koloni oluşumu göstermiştir. 4 ve 13 numaralı ruj örnekleri SDA besiyerinde koloni oluşumu göstermiştir. Bu oluşumlardan 4 numaralı örneğin Petri plağındaki kolonileri incelendiğinde maya mantarına benzer bir görüntüye sahip olmuştur. 4 numaralı örnekte gerçekleştirilen Gram boyama işlemi sonucu mikroskop görüntülemesi yapılarak x40 büyütme ile inceleme sağlandığında maya mantarı bulgusu güçlenmiştir. 13 numaralı örneğin Petri plağı koloni morfolojisi incelendiğinde kenarları beyaz yapıda olup ortaya doğru siyahlaşan bir özellik gözlenmiştir. Bu koloni laktofenol pamuk mavisi ve lugol çözeltisi ile hazırlandıktan sonra mikroskop altında incelendiğinde küf mantarı olduğu belirlenmiştir. 2 numaralı örneğin Gram boyama işlemi sonucu mikroskop altında incelenmesi ile Gram pozitif özelliğe sahip olduğu

belirlenmiştir. Katalaz testi pozitif, oksidaz testi negatif olarak saptanmıştır. 3 numaralı örneğin Gram boyama işlemi sonucu mikroskop altında incelenmesi ile Gram negatif basil özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Katalaz testi ve oksidaz testi sonuçları negatif olarak saptanmıştır. Gram negatif olmasından yola çıkılarak IMViC testi ve TSI besiyerine ekim işlemi gerçekleştirilmiş olup; İndol deneyi pozitif, Metil Kırmızısı deneyi pozitif, Voges-Proskauer deneyi negatif, Sitrat deneyi negatif, TSI besiyerinde tüpün tamamı sarı olarak saptanmıştır. Bu durum bize Enterobacteriaceae familyasına ait olabileceği fikrini oluşturmuştur. Ruj örneklerinde bulunan mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanmaları için ileri identifikasyon testlerinin (ileri biyokimyasal testler, serolojik testler, DNA analizleri) yapılması gerekmektedir.

Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik olarak kontaminasyona maruziyetleri ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. 2014 yılında Aydın'da 5 adet tester olarak kullanılan ruj, 5 adet aynı ürünlerin hiç kullanılmamış örnekleri ile bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucu değerlendirildiğinde tester olan rujlarda yoğun bir kontaminasyona maruziyetin söz konusu olduğu görülmüştür. Hiç kullanılmayan rujların ise bir tanesinde kontaminasyon tespit edilmiştir. Tester olan rujlarda tespit edilen bakterinin Gram pozitif özellikte, katalaz pozitif, DNA'ase ve koagülaz negatif olan *Staphylococcus spp.* olduğu tespit edilmiştir (Çelik ve ark., 2014).

2019 yılında kullanılmış kozmetik ürünleri üzerine bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 107 dudak parlaticısı, 96 ruj, 93 rimel ve 92 eyeliner ile çalışılmıştır. Birleşik Krallık'ta gerçekleştirilen çalışma sonucunda ruj örneklerinde *Pseudomonas fulva*, *Pseudomonas monteilii*, *Citrobacter freundii*; dudak parlaticılarında, *S. haemolyticus*, *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. capitis*, *S. pasteurii*, *Bacillus litoralis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas monteilii*, *Pseudomonas fulva*, *Lactobacillus*, *Citrobacter freundii*, *Candida glabrata* türlerine rastlanmıştır (Bashir ve Lambert, 2019).

2021 yılında ülkemizde kullanılmış 40 adet kozmetik ürün üzerinde fungus araştırması yapılmıştır. Çalışmada pudra, allık, göz farı, göz kalemi, ruj, rimel, göz makyajını temizleme için malzemeler ve sürülebilir deodorantlar ürünleri kullanılmıştır. Çalışmada ürünlerde %57,9 oranı ile en çok *Penicillium* cinsi, %23.5 oranı ile *Aspergillus* cinsi, %10.3 oranı ile *Cladosporium* cinsi ve %8.3 oranı ile *Alternaria* cinsi gözlenmiştir. Çalışmamızda 13 numaralı ruj örneğinin SDA besiyerinde 5-7 gün inkübasyonu sonucu oluşan koloninin morfolojik olarak değerlendirilmesi ve mikroskop altında görüntüsü incelendiğinde küf mantarı olabileceği

düşünülmüştür. Küf mantarı türleri çeşitli alerjik hastalıklara, akciğer hastalıklarına neden olabileceği gibi daha ileri sistemik boyutta hastalıklara da sebep olabilmektedir (Elbasan ve ark., 2021).

1997 yılında yapılan diğer bir çalışmada 45 kullanılmamış, 56 adet kullanılmış şampuan, rimel, krem ve ruj numuneleri ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda kullanılmış ürünlerde daha çok mikroorganizma yoğunluğuna rastlanmıştır. İzole edilen bakteri türleri incelendiğinde en sık olarak koagülaz negatif özellik gösteren *Staphylococcus sp.* *Pseudomonas sp.* olmuştur. Mantar türleri incelendiğinde ise *Penicillium sp.* ve *Aspergillus sp.* türleri ile karşılaşmıştır (Anar, 1997).

2010 yılında kullanılmış 73 adet kozmetik ürün için mikrobiyolojik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda 3 rimelde, 3 göz farında, 2 rujda, 2 fondöte mikrobiyal bir kontaminasyon varlığı tespit edilmiştir. Ruj örneğinde *S. aureus*, *Candida spp.* tespit edilmiştir (Onurdağ ve ark, 2010).

Ülkemizde 2021 yılında 500 adet kullanılmış kozmetik ürün üzerinde mikrobiyolojik analiz işlemi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda identifikasyon işlemi ile 47 üründe %46,5 oran ile *S. epidermidis*; 17 üründe %16,8 oran ile *S. hominis*; 6 üründe %5,9 oran ile *S. aureus*; 16 üründe %15,8 oran ile *E. coli*; 11 üründe %10,9 oran ile *K. pneumoniae*; 4 üründe %4,1 oran ile *P. aeruginosa* saptanmıştır (Akgül ve Bakan, 2021).

Günümüzde kozmetik piyasasında orijinal olmayan ve üretimi, ambalajlanması, dağıtımı standartlara uygun şekilde yapılmamış çok fazla kozmetik ürün bulunabilmektedir. Bu ürünler ekonomik açıdan çok daha uygun fiyata temin edilebilmelerinden dolayı tüketiciler tarafından sıklıkla tercih edilebilmektedir. Kullanılmış kozmetik ürünlerde özellikle kullanımdan kaynaklı (çevresel temas, nem, sıcaklık, cilde temas, nefesle kontaminasyon vb.) çok sık kontaminasyon gelişmektedir. Kozmetik ürünlerde kontaminasyona en sık sebep olan mikroorganizmalar arasında; *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Aspergillus* türleri dikkat çekmektedir. Ancak kullanılmamış kozmetik ürünlerde kontaminasyona rastlanması ürünün hammadde temini aşamasından başlanılarak rafa konulma sürecine kadar her türlü riski barındırmaktadır. Kontaminasyon sonucu oluşan bu mikroorganizmalar patojen özellik göstererek deri, mukozada ve çeşitli organlarda farklı hastalıklara sebebiyet verebilmektedirler. Uygun standart koşullara sahip olmayan ürünlerin özellikle immün direnci düşük kişiler, yaşlı, hamile ve çocuk tüketici gruplar tarafından mümkün olduğunca kullanılmaması ve bu konuda

dikkatli davranması önem taşımaktadır. Zira vücut direncinin normal bireylere göre daha düşük olduğu bu popülasyonlarda patojen olmayan mikroorganizmaların da enfeksiyon riski taşıdığı bilinmektedir.

Çalışmada mikrobiyolojik inceleme sonucunda R1 ve R10 sayılı ruj örneklerinde herhangi bir mikroorganizmaya rastlanmamıştır. Bu örneklerin istenilen standartlarda üretilmiş olabileceği ve ürün içeriğinde kullanılan antimikrobiyal koruyucu etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Çalışma sonucunda edinilen veriler ışığında, kozmetik ürünler satın alınırken dış ambalajının bütünlüğünün korunduğundan emin olunarak, güvenilir satıcılardan ve güvenilir firmalardan temin edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu sebeple TİTCK tarafından yayımlanan kılavuzlara uygun, her aşamasında GMP koşullarına bağlılık göstererek ve bu belgeleri ilgili kurumlarla yasal olarak paylaşan firmaların ürettiği ürünlerin kullanılması önem arz etmektedir.

## KAYNAKÇA

- AKÇELİK, M., AYHAN, K. ve ÇAKIR, İ. (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Ankara: Sim Matbaacılık.
- AKGUL Ö., BAKAN K. (2021). The Aerobic Bacteria Isolated From Used Cosmetic Products and Evaluation of Antibiotic Resistance. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 45(2): 156-168.
- ANAR, D. (1997). *Bazı kozmetiklerin mikrobiyolojik yönden incelenmesi* (Master's thesis, Ege Üniversitesi).
- AYŞE, A. R. A. S., & ERYILMAZ, M. (2022). Kozmetik Ürünlerde Görülen Mikrobiyolojik Kontaminasyonlar. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 46(1), 262-276.
- BASHIR A., LAMBERT P. (2019). Microbiological Study of Used Cosmetic Products: Highlighting Possible Impact on Consumer Health. *Journal of Applied Microbiology*, 128: 598-605.
- BAIRD R.M. (1977). Microbial contamination of cosmetic products. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 28,17-20.
- ÇELİK, M. A., DÖĞEN, A., AKTAŞ, D., POLAT, S. H., & İLKİT, M. *C. albicans'* ın Eşey Tipi Gen Bölgesinin Belirlenmesi
- ÇELİK, T. A., ASLANTURK, Ö. S., GUNAY, N., & YAVUZ, B. Tester Olarak Kullanılan Ve Kullanılmamış Rujlarda Bakteriyel Kontaminasyonun Araştırılması.
- ÇOMOGLU T. Kozmetikler. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2012;16:1-6.
- DALLAIRE, V. J. (1951). From an idea to \$20,000,000 The American Perfumer & Essential Oil Review, February, 115-118.
- DOLAPÇI, I. (2016). Bakterilerde İzolasyon Tanı Ve İdentifikasyon Yöntemleri.
- ELBASAN, D. G., AHMET, A. S. A. N., & OKTEN, S. (2021). Bazı Kullanılmış Kozmetik Ürünlerinde Fungal Çeşitlilik. *Mantar Dergisi*, 12, 172-179.
- GUL, M., ŞENSOY, A., ÇETİN, B., KORKMAZ, F., & SEBER, E. (2004). Hastane enfeksiyonu etkeni *P. aeruginosa* suşlarında seftazidime duyarlılığın E-test ve disk diffüzyon yöntemleri ile araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, 34(1), 33-6.

- GÜRPINAR, Ö., & KÖSEOĞLU-ESER, Ö. (2022). *P. aeruginosa* Rezistomu ve Epidemik Yüksek Riskli Klonları. *Klimik Journal/Klimik Derg.*, 35(2).
- HARVEY, A.R., CORNELISSEN, C.N., FISHER, B.D., (2018), Lippincott' un Şekillerle Açıklamalı Derleme Ders Kitapları: Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitabevi. (2013) 19-21.
- HALLAN, FERNANDES IP, HELENO SA, et al. Cosmetics preservation: A review on present strategies. *Molecules*. 2018;23:1- 41.
- KANTARCIOĞLU, S., & YUCEL, A. (2004). *C. Albicans' da Mannan: Çeşitli Özellikleri Ve Önemi*. *Journal Med*, 35, 1-8.
- KOZMETİK KANUNU, Resmî Gazete Tarihi: 30.03.2005, Sayı: 25771, Kanun Numarası: 5324.
- KOZMETİK YÖNETMELİĞİ, Resmî Gazete Yayın Tarihi: 23.05.2005, Resmî Gazetede Sayısı: 25823.
- LOWY, F. D. (1998). *S. aureus* infections. *New England journal of medicine*, 339, 520-532.
- LUCAS, A. (1930). Cosmetics, Perfumes and Incense in Ancient Egypt. *The Journal of Egyptian Archaeology*, 16, 41–53.
- MAWAZI, S. M., AZREEN REDZAL, N. A. B., OTHMAN, N., (2022). Lipsticks history, formulations, and production: a narrative review. *Cosmetics*, 9, 25.
- MICHEL-BRIAND, Y., & BAYSSE, C. (2002). The pyocins of *P. aeruginosa*. *Biochimie*, 84(5-6), 499-510
- MUNAWIROH, S. Z., NABILA, A. N., & CHABIB, L. (2017). Development of water in olive oil (W/O) Nanoemulsions as lipstick base formulation. *Int J Pharmacy Medical Biology Science*, 6, 37-42.
- OMEROVIC, M., MUŞTAK, H. K., & KAYA, İ.,(2017). *E. coli* Patotiplerinin Virülens Faktörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Derg.*, 28(1), 1-6.)
- ONURDAG, F. K., OZGEN, S., & ABBASOĞLU, D. (2010). Microbiological investigation of used cosmetic samples. *Hacettepe University Journ. of the Faculty of Phar*, (1), 1-16.

- POLKE, M., HUBE, B., & JACOBSEN, I. D. (2015). *C. survival strategies. Advances in Applied Microbiology*, 91, 139-235.
- RAVILIOUS, K. (2015). "Cleopatra's Eye Makeup Warded Off Infections?" National Geographic, National Geographic Society, 16.07.2015.
- SEYEDMOUSAVI, S., ILKIT, M., DURDU, M., ERGIN, Ç., POLAT, S. H., MELCHERS, W., (2015). Candida ve kandidoz: epidemiyoloji, tanı, tedavi, antifungal ilaç direnci ve konağın genetik yatkınlığında güncel durumu
- SIRIKEN, B., & VELİ, Ö. Z. (2017). *P. aeruginosa*: özellikleri ve quorum sensing mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Derg.*, (18), 42-50.
- SİVRİ, N. (2005). Türkiye piyasasında mevcut bazı kozmetiklerin gama radyasyonla dekontaminasyonu. *Ulusal Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kong.*, 4, 230-249.
- STEINBERG D. Preservatives for Cosmetics, 91 s.1-129, Allured Publishing Co., Illinois, USA (2006)
- STEWART, S. 2017. Painted Faces: A Colourful History of Cosmetics. United Kingdom: Amberley Publishing.
- SUDBERY, P. E. (2011). Growth of *C. albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*, 9, 737-748.
- SUNGUR, S. A., ŞAHNE, B. S., & YEĞENOĞLU, S. (2018). Kozmetik ürünlerin tarihçesi, ürün tanımlarının yasal durumu ve tüketici davranışı açısından değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakl. Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Derg.*, 8, 191-197.
- TOKOZ, Ahmet Burak. «Kozmetiklerin Kullanımının Dünya Tarihi Boyunca Bilimsel, Psikolojik, Sosyolojik ve Ekonomik Açıdan Değerlendirilmesi., İstanbul, 2018.
- TAYLOR, T. A., & UNAKAL, C. G. (2017). *S. aureus*
- TAN, A. S. B., & TUYSUZ, M. (2013). Kozmetik Ürünlerde Koruyucu Madde Kullanımı ve Koruyucu Etkinlik Testleri. *ANKEM Dergisi* 27, 83-91.
- TUNALI, Y. (2021). *Farmasötik Mikrobiyoloji ve İmmünoloji Uygulamaları*. (Birinci Baskı). Bursa: Dora Basım Yayın.

TUNÇ, B., GURBUZ, E. D., & DERELI, M. D. (2021). Kan ve Oral Kavite Örneklerinden Soyutlanan *C. albicans* Suşlarının Fosfolipaz Aktivitelerinin Araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 51(1), 50-60.

TİTCK KOZMETİK ÜRÜNLERİN MİKROBİYOLOJİK KONTROLÜNE İLİŞKİN KILAVUZ SÜRÜM 1.0. [<https://titck.gov.tr/storage/legislation/n7ItGxxZ.pdf>]. Erişim tarihi: 14/11/2023

TİTCK KOZMETİK ÜRÜNLER YÖNETMELİĞİ

WANG, H., XIE, Y., ZHANG, H., JIN, J., (2020). Quantitative proteomic analysis reveals the influence of plantaricin BM-1 on metabolic pathways and peptidoglycan synthesis in *E. coli* K12. *PloS one*, 15(4), e0231975.

**http-1:**

<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFFAAF6AA849816B2EF5F0C38A962B939A9> (Erişim tarihi: 10/12/2023)

**http-2:** <https://www.microbiologybook.org/Turkish-bact/bactchapter15turk.htm> (Erişim tarihi: 3/11/2023)

**http-3:** [https://tr.wikipedia.org/wiki/Stafilokok#/media/Dosya:Staphylococcus\\_aureus\\_01.jpg](https://tr.wikipedia.org/wiki/Stafilokok#/media/Dosya:Staphylococcus_aureus_01.jpg) (Erişim tarihi: 26/02/2024)

**http-4:** [https://en.wikipedia.org/wiki/Candida\\_albicans#/media/File:SEM\\_of\\_C\\_albicans.tif](https://en.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans#/media/File:SEM_of_C_albicans.tif) (Erişim tarihi: 26/02/2024)

**http-5:** <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> (Erişim tarihi: 5/11/2023)

**http-6:** <https://www.ecdc.europa.eu/en/escherichia-coli-ecoli> (Erişim tarihi: 5/11/2023)

**http-7:** <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/escherichia-coli> (Erişim tarihi: 18/11/2023)

**http-8:** <https://www.microbiologybook.org/fox/enterobact.htm> (Erişim tarihi: 13/11/2023)

**http-9:** [https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/KL%C4%B0MUD%20E-B%C3%9CLTEN%20MART%2023\\_compressed.pdf](https://www.klimud.org/public/uploads/content/files/KL%C4%B0MUD%20E-B%C3%9CLTEN%20MART%2023_compressed.pdf) (Erişim tarihi: 10/12/2023)

**http-10:** <https://www.molekulce.com/imvic-testi/> (Erişim tarihi: 7/12/2023)

**http-11:** <https://titck.gov.tr/storage/announcement/5nua34hD.pdf> (Erişim tarihi: 8/12/2023)

**http-12:** <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9358> (Erişim tarihi: 28/2/2024)



## ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı :

Yabancı Dil :

Doğum Yeri ve Yılı :

E-Posta :

Eğitim ve Mesleki Geçmişi: