

# **Farmasötik Mikrobiyoloji'nin Diğer Uygulama Alanları:**

**Kozmetik Ürünler**  
**Antiseptik ve Dezenfektan Maddeler**



Doç. Dr. A. Seher BİRTEKSÖZ TAN

İ.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

[seher.tan@Istanbul.edu.tr](mailto:seher.tan@Istanbul.edu.tr)

# KOZMETİK ÜRÜNLER



## **Kozmetik Ürün Nedir ?**

Sağlık Bakanlığı'nın 23.05.2005 tarihli ve 5324 sayılı Kozmetik Kanunu

**Kozmetik ürün:** İnsan vücudunun dış kısımlarına; epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlarına veya dişler ile ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek, bunları korumak, iyi bir durumda tutmak veya vücut kokularını düzeltmek olan bütün madde veya karışımları olarak tanımlanmaktadır



## Kozmetik ürünler

- Cilt için kremler, emülsiyonlar, losyonlar, jeller ve yağlar (el, yüz, ayak vb. için)
- Yüz maskeleri (cilt yüzeyini aşındıranlar/ soyanlar hariç)
- Fondötenler (sıvı, pat, toz)
- Makyaj pudraları, banyo sonrası kullanılacak pudralar, hijyenik pudralar vb.
- Kozmetik ürün tanımı kapsamındaki tuvalet sabunları, deodorant sabunlar vb.
- Parfümler, tuvalet suları (eau de toilette), ve kolonyalar (eau de Cologne)
- Banyo ve duş ürünleri (tuzlar, köpükler, yağlar, jeller vb.)
- Depilatuvarlar (kıl dökücü ve kıl sökücüler)
- Deodorantlar ve ter önleyiciler
- Saç bakım ürünleri saç boyaları ve açıcılar dalgalandırma, düzleştirme ve sabitleştirme amacıyla kullanılanlar şekillendirme ürünleri temizleyiciler (losyonlar, pudralar, şampuanlar) bakım ve şartlandırma ürünleri (losyonlar, kremler, yağlar) taranıp şekillendirilmesi için ürünler (losyonlar, saç spreyleri, briyantınlar)
- Tıraş için kullanılan ürünler (kremler, köpükler, losyonlar vb.)
- Yüz ve göz makyajında ve makyajın temizlenmesinde kullanılan ürünler
- Dudaklara uygulanmak üzere hazırlanmış ürünler
- Ağız ve diş bakım ürünleri
- Tırnak bakımı ve süsü için kullanılan ürünler
- Dış genital organlara haricen uygulanmak amacıyla üretilmiş kişisel hijyen ürünleri
- Güneş banyosu için ürünler,
- Güneş olmaksızın cilde yanık ten görünümü vermek üzere kullanılan ürünler
- Cilt rengini açmak için kullanılan ürünler
- Cilt kırıksıklıklarına karşı kullanılan ürünler



Kozmetik ürünler, mikrobiyolojik açıdan steril olma zorunluluğu olmayan ancak tüketici sağlığı açısından uygun kalitede olması gerekli olan ürünlerdir.



## Kozmetiklerde Mikrobiyal kontaminasyon (1)

- ★ *Clostridium tetani* ile kontamine talk pudrası kullanımını (1946)
- ★ Salmonella ile kontamine tiroid tozu tablet kullanımını (1963)
- ★ *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp. ile kontamine olan kozmetik ürünlerin kullanımına bağlı nazokomiyal enfeksiyonlar ve epidemiler (1979)



# Kontamine kozmetik ürünlerde görülebilen mikroorganizmalar

## Gram negatif

### nonfermentatif bakteriler

- *Acinetobacter*
- *Alcaligenes*
- *Burkholderia cepacia*
- *P. putida*
- *P. paucimobilis*
- *P. aeruginosa*
- *S. maltophilia*

## Gram negatif

### fermentatif bakteriler

- Citrobacter freundii*
- Enterobacter cloacae*
- E. agglomerans*
- E. gergoviae*
- Klebsiella oxytoca*
- K. pneumoniae*
- Proteus*
- Serratia liquefaciens*
- S. marescens*
- S. odorifera*
- S. rubidaea*

### Gram pozitif bakteriler

- Bacillus*
- S. aureus*
- S. epidermis*
- Enterococcus
- Micrococcus*
- Sarcina*
- Streptococcus*
- Propionibacterium*

### Mayalar

- Candida*
- Saccharomyces*
- Torula*

### Küfler

- Absidia*
- Alternaria*
- Aspergillus*
- Cladosporium*
- Dematium*
- Fusarium*
- Helminthosporium*
- Hormodendrum*
- Mucor*
- Geotrichum*
- Paecilomyces*
- Penicillium*
- Phoma*
- Auerobasidium*
- Rhizopus*
- Thamnidium*
- Trichothecium*
- Verticillium*



# Investigation of preservative efficacy and microbiological content of some cosmetics found on the market

**Ayşe Seher Birteksöz Tan, Mayram Tüysüz and Gülten Ötük**

Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Istanbul University

Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Istanbul University, Beyazıt-Istanbul Turkey

---

**Abstract:** In this study, microbial content and preservative efficacy of various cosmetic products, which are produced and sold in markets of our country, were investigated. Microbial content and preservative efficacies of products were investigated according to United States Pharmacopeia (USP) method. Microorganism counts of out 14 of 93 cosmetic products were recovered in the range between  $1.5 \times 10^2$ - $5.5 \times 10^5$  cfu/ml. *Staphylococcus aureus* was the most common contaminant identified in samples (from six different products) and was followed by *Burkholderia cepacia* (from four different products). Gram negative organisms, including *Pseudomonas aeruginosa* and a yeast *Candida krusei*, were also isolated from samples. *Escherichia coli* and *Salmonella sp.* were not recovered from any of samples. Preservative efficacies of fourteen out of ninety-three products did not meet the general efficacy of antimicrobial preservation criteria of the USP. Among these fourteen products, degradation and color change by *Aspergillus niger* was observed in one of samples. According to results, it was observed that pathogen and potential pathogen microorganisms can be found in unused cosmetic products and also preservatives may be ineffective in preventing them. Thus, in order to prevent the contamination that can occur during production, manufacturers are required to manufacture products in compliance with wholesome manufacturing practices and, considering consumer health, it is necessary to add an effective preservative as determined by regulations.

**Keywords:** Cosmetic, microbial contamination, preservative, preservative efficacy.





## Kozmetiklerde Mikrobiyal kontaminasyon (2)

- Kozmetik ürün formülasyonları içerdikleri mineraller, üreme faktörleri, uygun ortam asitliği ve nemi ile mikroorganizma üremesi için uygun ortamlardır.
- Bütünlüğü bozulmuş deri infekte olduğunda mikroorganizmalar tarafından üretilen endotoksin ve metabolitler ciltte aşınma, irritasyon veya alerjiye neden olabilmektedir.



## Kozmetiklerde Mikrobiyal Kontaminasyon Kaynakları

- Kozmetik ürünlerde görülen ve ürünün bozulmasına neden olan mikrobiyal kontaminasyon,
  - \* Üretim aşamasında
    - Su,
    - Hammadde,
    - Yardımcı maddeler,
    - Paketleme materyali,
    - Personel, Üretim tesis ve donanımı,
    - Çevre ve depolama kaynaklı olabilmektedir
  - \* Ürünün tüketici tarafından kullanımı sırasında



## Kullanılmış ürün

## Mikroorganizma

Sampuan

*C. freundii, Enterobacter spp. Klebsiella spp.*

*Pseudomonas spp. Serratia spp.*

Losyon

*Enterobacter spp. Klebsiella spp. Pseudomonas spp.*

*Serratia spp., Bacillus sp., S. epidermidis,*

*Propionibacterium sp., Sarcina sp., Maya ve küf*

Nemlendirici

Gram pozitif basil, *S. aureus, E. coli, E. coli* dışındaki

Gram negatif bakteriler

El ve yüz kremleri

Gram pozitif basil, *S. aureus, E. coli*

Banyo sabunu

*S. warneri, P. putida, S. epidermidis*

Sıvı sabun

*S. warneri*

Maskara

*S. epidermidis, Bacillus spp. E. coli, S. aureus, Candida spp.*

Ruj

*S. aureus, Candida spp.*

Far

*Streptococcus spp., Bacillus spp.*

Fondoten

*Streptococcus spp., Bacillus spp., Candida spp.*



## Kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik standardizasyonu ile ilgili kurallar

- Cosmetic Toiletry and Fragrance Association (CTFA),
- The Food and Drug Administration (FDA)
- Avrupa Komisyonu
- Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanan raporlarla düzenlenmiştir.



- Kozmetik Yönetmeliğinin 12 nci maddesi gereğince piyasaya sunulan tüm kozmetik ürünlerin güvenlik değerlendirilmesinin, kullanımına sunuldukları hedef kitlenin sağlığı açısından yapılması zorunlu kabul edilmektedir.



## Mikrobiyolojik incelemelerin yapılacağı laboratuvarlar

- ★ TSE EN ISO 9000 Kalite yönetimi standartları
- ★ TSE EN ISO 17025 test ve kalibrasyon laboratuvarlarınının yeterliliği için genel gerekliliklere uygun olmalıdır.



# Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kalitesi

Kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesinde amaç bitmiş ürün ve hammaddelerin (maddeler veya karışımlar) kabul edilebilir mikrobiyolojik spesifikasyonlarının mikrobiyolojik açıdan tespit edilmesidir.

Ana parametreler orijinal kontaminasyon düzeyi ve mikrobiyal üreme olasılığıdır

## Ana Parametreler

- ★ Kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi
- ★ Koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi



## Kontaminasyon düzeyinin belirlenmesi

Kozmetik ürünlerde kontaminasyon düzeyinin belirlenmesinde kullanılan yöntem **mikrobiyolojik limit testi**dir.

### Mikrobiyolojik Limit Testi

- ★ Bu test, örnekte mevcut bulunan toplam aerobik bakteri, toplam maya ve küf sayısını tespit edilmesi,
- ★ Spesifik mikroorganizmaların varlığının belirlenmesi amacı ile kullanılan kantitatif bir analiz yöntemidir.





## Test

- Amerikan Farmakopesi (United States Pharmacopeia, USP),
- İngiliz Farmakopesi (British Pharmacopeia, BP),
- Avrupa Farmakopesi (European Pharmacopeia, EP) gibi çeşitli ülkelere ait farmakopeler
- CTFA
- FDA
- TS EN ISO 21149, TS EN ISO 16212, TSE EN ISO 22717, TS EN ISO 18416, TS EN ISO 22718, TS EN ISO 21150 standartları kullanılarak yapılabilmektedir.



# Kozmetik ürünler

Mikrobiyolojik kontrole ilişkin kılavuza göre yapılacak testler açısından 2 kategoriye ayrılarak incelenirler.

## Kategori 1

3 yaş altı çocuklara,  
Göz bölgesine,  
Mukoz membranlara  
Durulanmayan ürünler,

## Kategori 2

Diğer ürünler ve durulanan ürünler yer almaktadır.



## Kategori 1

Kozmetiklerde izin verilen maksimum toplam bakteri ve mantar sayımı  $10^2$  cfu/g veya  $10^2$  cfu/ml

## Kategori 2

Kozmetiklerde izin verilen maksimum toplam bakteri ve mantar sayımı  $10^3$  cfu/g veya  $10^3$  cfu/ml olarak tespit edilmiştir.

Ayrıca her iki kategoride yer alan kozmetiklerin *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ya da *Escherichia coli* gibi patojenleri kesinlikle içermemesi gerekmektedir



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



Mikrop mu,  
Hani nerede

## **Kozmetik Ürünlerin Mikrobiyolojik Kalitesi**

**Koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi**

**Koruyucu madde nedir?**

Kozmetik ürünlerde ham madde kaynaklı, üretim aşamasında ya da ürünün tüketici tarafından kullanımını sırasında oluşabilecek mikrobiyal kontaminasyona karşı genellikle bitmiş ürüne mikroorganizmaları öldürücü veya üremelerini durdurucu özellikte ilave edilen kimyasal maddelerdir.



- Biyolojik olarak aktif kimyasallar olan koruyucuların mikroorganizmaları öldürürken kullanıcıya zarar verebildikleri bilindiğinden bu durum yönetmelik ve yasalarla düzenlenmiştir.

(Sağlık Bakanlığı tarafından 24/3/2005 tarihli ve 5324 sayılı Kozmetik Kanunu nun yedinci maddesine dayanılarak hazırlanan yönetmelik)



## Koruyucu etkinliğinin değerlendirilmesi

Bu değerlendirme tarama-zorlama (challenge) testi aracılığı ile yapılır.

Bu test, ürünün formülde yer alan koruyucular tarafından korunabileceği konusunda güvence vermesi nedeniyle, bütün kozmetiklere uygulanması zorunlu bir testtir.



## Tarama testi,

Bitmiş ürün formülünün yapay kontaminasyona maruz bırakılarak mikrobiyal kontaminasyon riskinin değerlendirilmesi prensibine dayanır.

## Kullanılan tüm yöntemlerde esas,

Test örneğinin farklı mikroorganizmalar ile bir araya getirilmesinden sonra, farklı zamanlarda alınan test örneklerinde canlı kalan mikroorganizma sayısının belirlenmesidir.





## Test

- ★ Amerikan Farmakopesi (United States Pharmacopeia, USP),
  - ★ İngiliz Farmakopesi (British Pharmacopeia, BP),
  - ★ Avrupa Farmakopesi (European Pharmacopeia, EP),
  - ★ Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association (CTFA)
  - ★ American Society for Testing and Materials (ASTM)
  - ★ TSE EN ISO 11930
- standardları kullanılarak yapılabilmektedir.



- Yöntemler deney mikroorganizmaları, kullanılan besiyerleri, örneklerin saklanma koşulları ve testin uygulanışı açısından farklılık göstermektedir.

## Kullanılan mikroorganizmalar

*P. aeruginosa* ATCC 9027

*E. coli* ATCC 8739

*S. aureus* ATCC 6538

*C. albicans* ATCC 10231

*Aspergillus niger* ATCC 16404



## Testte

- Ürünlerin mikroorganizmalar ile iyice karışması sağlandıktan sonra, mikroorganizmaların ilave edildiği an ve bunu takip eden 14. ve 28. günlerde mikroorganizma sayımları yapılır.
- Mikroorganizma sayısının belirlenmesinden önce etkisi incelenen koruyucu maddelerin uygun nötralizan maddelerle muamele edilerek nötralize edilmesi gerekmektedir.



## Değerlendirmede bakteriler için,

14. günde bakteri sayılarının başlangıç sayısına göre en az iki log azalmış olması,

28. günde belirlenen bakteri sayısının 14. günde belirlenmiş olan bakteri sayısına göre artış göstermemesi

## Değerlendirmede mantarlar için,

14. ve 28. günlerdeki sayılarda başlangıç sayısına göre artış olmaması kriter olarak kabul edilmektedir.



## Uygun nötralizanın belirlenmesi

- Test sırasında en uygun nötralizanın seçilmesi önemlidir.
- Seçilerek kullanılacak nötralizan
  - ★ Ürün içerisindeki tüm koruyucu maddeleri inaktive edebilmeli.
  - ★ Kullanılan tüm mikroorganizmalara karşı toksik etkisi olmamalıdır.



## Uygun nötralizanın belirlenmesi

Kullanılacak nötralizanın uygunluğu nötralizan validasyon çalışmaları ile araştırılır.

### Nötralizan, validasyon çalışmaları

★ Nötralizan etkinlik testleri

★ Nötralizan toksisite testleri

Deney sırasında kozmetik ürünlerin içerdiği tüm antimikrobiyal etkili koruyucu maddeleri inaktive edebilen,

Deney mikroorganizmalarına karşı toksik etki göstermeyen nötralizan uygun nötralizan olarak kabul edilmektedir.



- Kozmetik ürünlere koruyuculara ek olarak mikroorganizmaların üremesini engelleyen antimikrobiyal etkili birçok madde bulunmaktadır.

Bunlar

- Alkoller
- Esansiyel bitki yağları ve ekstraları,
- Kelat ajanları,
- Fenolik antioksidanlar
- Koku verici gibi maddelerdir.

Ayrıca ürünlerin düşük miktarlarda su içermesi de ürünü koruduğundan doğal koruyucu olarak kabul edilebilirler.



# Antiseptik ve Dezenfektan Maddelerin Mikrobiyolojik Etkinliği

## Antiseptik madde

Canlı doku üzerindeki özellikle patojen mikroorganizmaların öldürülmesi veya üremelerinin engellenmesi,

## Dezenfektan madde

Cansız maddeler ve yüzeyler üzerinde bulunan bakteri sporları hariç mikroorganizmaların yok edilmesi veya üremelerinin durdurulması için kullanılan kimyasal ürünlerdir





MİKROORGANİZMALARA KARŞI ETKİLİ  
SONUÇLARIN ALINMASI

Doğru antiseptik ve dezenfektanların seçilmesi



## Kullanılacak antiseptik ya da dezenfektan seçimi

- ★ Mikroorganizmanın türü
- ★ Ortamın kirlilik durumu
- ★ Yüzey ve ekipmanın yapısı
- ★ Antiseptik ve dezenfektanın kimyasal yapısı
- ★ Maliyet



- ★ Seçilecek antiseptik ya da dezenfektanın mikroorganizmalara etkili olduğunun güvenilir testlerle gösterilmesi
- ★ Uygulama yöntemi ve uygulama konsantrasyonlarının doğru olarak belirlenebilmesi gerekmektedir



# Antiseptik ve dezenfektan etkinlik testleri

## Kantitatif süspansiyon testi

- ★ Etkinlik deęerlendirilmelerinde standart olarak kullanılan testlerden biridir.
- ★ Bakterisidal, sporisidal ve fungusidal aktivite belirlenmesinde sıklıkla kullanılırlar.

Süspansiyon testleri ile dezenfektan ürünün hangi kullanım konsantrasyonunda kullanılabileceği ve ne kadar sürede etki göstereceği belirlenmektedir.



Dezenfektan ve antiseptik etkinlik testleri konusunda birbirine göre farklılığı olan sayısız test tanımlanmıştır. EN (European Norm), Avrupa standartları bu standartlardan biridir.

### Dezenfektanlar için

Bakterilere karşı : EN 1276

Mantarlar karşı: EN 1650

Sporlara karşı: EN 13704,

### Antiseptikler için

Bakterilere karşı : EN 12054

Mantarlar karşı: EN 1275



## Test

Antiseptik ve dezenfektan etkinlik testleri standardizasyon kuruluşlarının önerdiği standart mikroorganizma suşları ile yapılmaktadır.

## Kullanılan mikroorganizmalar

*P. aeruginosa* ATCC 15442,

*E. coli* ATCC 10536,

*S. aureus* ATCC 6538,

*Enterococcus hirae* 10541



## Test

- ★ Testler belirli sayıda mikroorganizma içeren süspansiyonun antiseptik ya da dezenfektan ile karşılaştırılması esasına dayanmaktadır.
- ★ Test süresi sonunda mikroorganizmanın canlı kalma oranı besiyerlerine ekim yapılarak canlı mikroorganizma sayısı ile tespit edilir.

Mikroorganizma sayısının belirlenmesinden önce etkisi incelenen antiseptik ya da dezenfektanın uygun nötralizan maddelerle muamele edilerek nötralize edilmesi gerekmektedir



## Değerlendirmede

- Başlangıçtaki mikroorganizma'ların sayısı ile canlı kalan mikroorganizma sayısı kıyaslanarak maddenin etkinliği

$R = N \times 10^{-1}/N_a$  formülü ile belirlenir.

N: İnokulumdaki toplam mikroorganizma sayısı

$N_a$ : Test sonrası canlı kalan mikroorganizma sayısı

Bulunan değerler ya R değeri (redüksiyon katsayısı) ya da logaritmik azalma şeklinde ifade edilir.





## Validasyon alışmaları

### Çevresel faktör validasyonu

Ortamda bulunan çevresel faktörlerin deneyin sonucuna etkisi

(evresel faktör: %10 süt tozu ya da skim milk, bovine serum albümin ya da maya özütü)

### Nötralizan toksisite validasyonu

Nötralizan olarak kullanılan maddelerin mikroorganizmalar üzerine toksik etkilerinin olup olmadığı

### Dilüsyon nötralizasyon testi

Nötralizan olarak kullanılan maddelerin dezenfektanı nötralize edip etmediği





**Dinlediğiniz için teşekkür ederim**