

İthal Kozmetik Bir Deri Kreminden *Aspergillus Niger* İzolasyonu

Banur BOYNUKARA

Ziya İLHAN

Timur GÜLHAN

YYÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD Van / TÜRKİYE

ÖZET

Aspergillus cinsine ait mantarlar doğada yaygın olarak hemen her yerde bulunmaktadır. Bu mantarların çoğu saprofit olmakla birlikte, özellikle bazı türleri insan ve hayvanlarda allerjik reaksiyonlara, mikotoksikozislere, önemli lokal ve sistemik infeksiyonlara neden olmaktadır.

Bu çalışmada, mikrobiyal üremenin görüldüğü ithal bir deri kreminden etken izolasyonu ve identifikasyonu amaçlandı. Bakteriyal etkenlerin izolasyonu için % 7 koyun kanlı agara, mikotik etkenlerin izolasyonu için de Sabouraud Dextrose agara ekimler yapıldı. Kanlı agarda 5. günün sonunda her hangi bir bakteriyal üreme olmadı. Sabouraud Dextrose agarda 5. günde yoğun bir üreme görüldü. Üreyen kolonilerin makroskopik (kolonilerin alttan ve üstten rengi) ve mikroskopik (konidia, vesikül, konidiafor ve metula yapıları) özelliklerinin incelenmesi sonucunda izole edilen mantar *A. niger* olarak tanımlandı. Sonuç olarak, ithal edilen krem gibi çeşitli kozmetik ürünlerin ülke içerisinde depolanma ve dağıtım koşullarının ideal şartlara getirilmesi daha doğru bir uygulama olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kozmetik Deri Kremi, İzolasyon, *Aspergillus niger*.

Isolation Of *Aspergillus Niger* From An Important Cosmetics Skin Cream

SUMMARY

The aspergilli are ubiquitous and are widespread in the nature. Most of the aspergilli are harmless saprophytes, but some of them can cause serious diseases in humans and animals. Aspergilli can be invasive and cause mycotoxicoses, and are involved in allergic reactions.

The aim of this study was to isolate microorganisms from an imported commercial skin cream. For this purpose, blood agar supplemented with 7 % sheep blood and Sabouraud Dextrose agar with 0.05 mg/ml chloramphenicol were used for isolation of the bacteria and fungi, respectively. Blood agar was incubated at 37°C for 5 days, but no bacteria was isolated. The inoculated plates for fungi were incubated aerobically at 25°C and 37°C for 5 days. After examining rate of growth, colony morphology (surface and reverse colour), and microscopic morphology (conidia, vesicle, conidiophore, metula), the isolated fungi was identified as *A. niger*. To conclude, it would be more reasonable to provide ideal conditions for preservation and distribution of imported cosmetic products.

Key Words: Cosmetics skin cream, Isolation, *Aspergillus niger*.

GİRİŞ

Aspergillus cinsine ait mantarlar doğada yaygın olarak hemen her yerde bulunurlar. Bu etkenlerin çoğu saprofit olmakla birlikte, özellikle bazı türleri insan ve hayvanlarda çeşitli allerjik reaksiyonlara, mikotoksikozislere, önemli lokal ve sistemik infeksiyonlara neden olmaktadır (2, 5, 7, 8). *Aspergillus* genusundaki en önemli patojenin *Aspergillus fumigatus*'tur (1, 8). *A. fumigatus*'tan başka *A. niger*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans* ve diğer bazı türler de çeşitli hastalık vakalarından izole edilmiştir (3, 5, 8). *A. niger* genellikle kontaminant bir tür olarak kabul edilmekle birlikte, immun yetmezliği olan canlılarda diğer etkenlerle birlikte sekonder olarak bazı infeksiyonlara ve çeşitli allerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir (4, 5, 6). *Aspergillus* cinsine ait mantarlar çeşitli canlılarda başta solunum sistemi olmak üzere değişik sistem ve organlarda lezyonlar oluştururlar. İnsanlarda ise *aspergillus* türlerinin primer etken olarak sorumlu tutulduğu pulmonal infeksiyonların çok fazla olmadığı ve bu nitelikteki infeksiyonların daha çok diğer kronik solunum sistemi hastalıkları ile birlikte seyrettiği bildirilmektedir (5, 8). İnsanlardaki primer *aspergillus* infeksiyonlarında en önemli bulaşma yolunun deri olduğu ve otomikosis, misetoma pedis ve onikia gibi mikotik nedenli deri hastalıklarının meydana geldiği ifade edilmektedir (5). Bu çalışmada, mikrobiyal bir üremenin saptandığı ithal kozmetik bir deri kreminden etken izolasyonu ve identifikasyonu amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışma materyalini ithal kozmetik bir deri kremi oluşturdu. Krem; gliserin, sodyum laktat, serin, laktik asit, üre, sorbitol, lauril dietilen-diaminoglisin, setil alkol, sterarik asit, bütilhidroksitoluen, gliseril stearat, PEG-100 stearat, propilen glikol, triethol amin, metil-isothazolin ve benzilalkol başta olmak üzere çeşitli maddeler içermektedir. Oda ısısında muhafaza edilen kremde açıldıktan yaklaşık 3 gün ve sadece iki kez kullanıldıktan sonra mikroorganizma üremesinin olduğu dikkati çekti. Kirli sarı renkte pigment oluşturan, dumanlı bir yapı gösteren üremelerden (Resim-1) bakteriyal ve mikotik etkenler için ekimler yapıldı. Bakteri izolasyonu için % 7 koyun kanlı agara (KA, pH: 7.2, Difco) ekim yapılarak 37°C'de, aerobik ortamda 5 gün bekletildi. Mikotik etkenlerin izolasyonu konvansiyonel yöntemle yapıldı (6, 7, 8). Bu amaçla 0.05 mg/ml kloramfenikol içeren Sabouraud Dextroz agara (SDA, pH: 6.9, Oxoid) ekim yapılarak, 25°C'de aerobik koşullarda 5 gün inkube edildi. İnkübasyon sonunda SDA'da üreyen etkenden Bacto Malt Extract agara (BMEA, pH: 4.7, Difco) ve Bacto Czapek Solution agara (BCSA, pH: 7.3, Difco) iki seri pasajlar yapılarak, biri 25°C'de diğeri de 37°C'de üremeye bırakıldı. On günlük inkübasyondan sonra üreyen etken, önce makroskopik morfoloji bakımından muayene edildi, laktofenol pamuk mavisini (LFPM) ve gliserinli % 20'lik KOH ile muamele

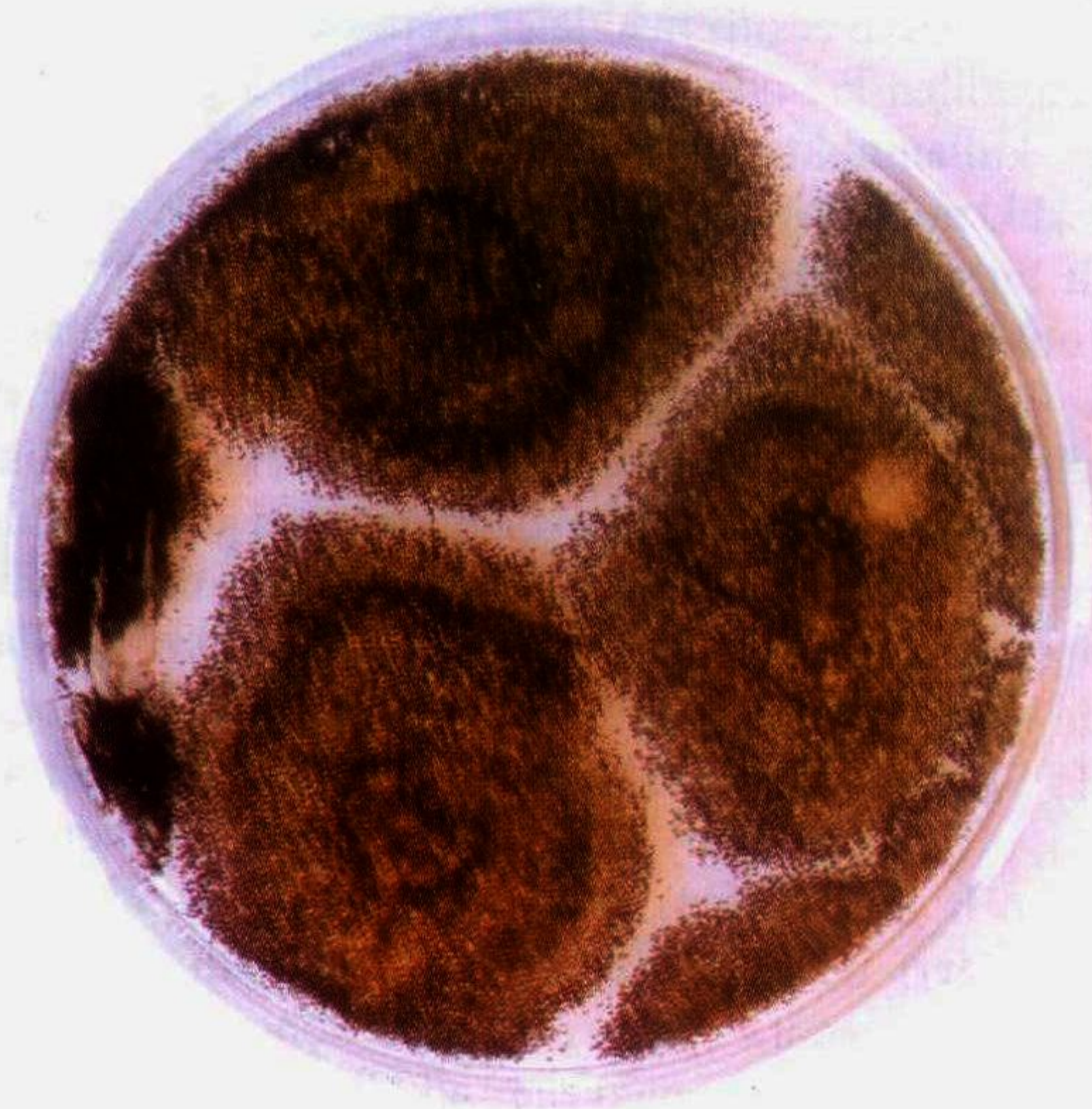
edilerek lam-lamel arasında ışık mikroskopunda (x100, x400) incelendi (4, 5).

BULGULAR

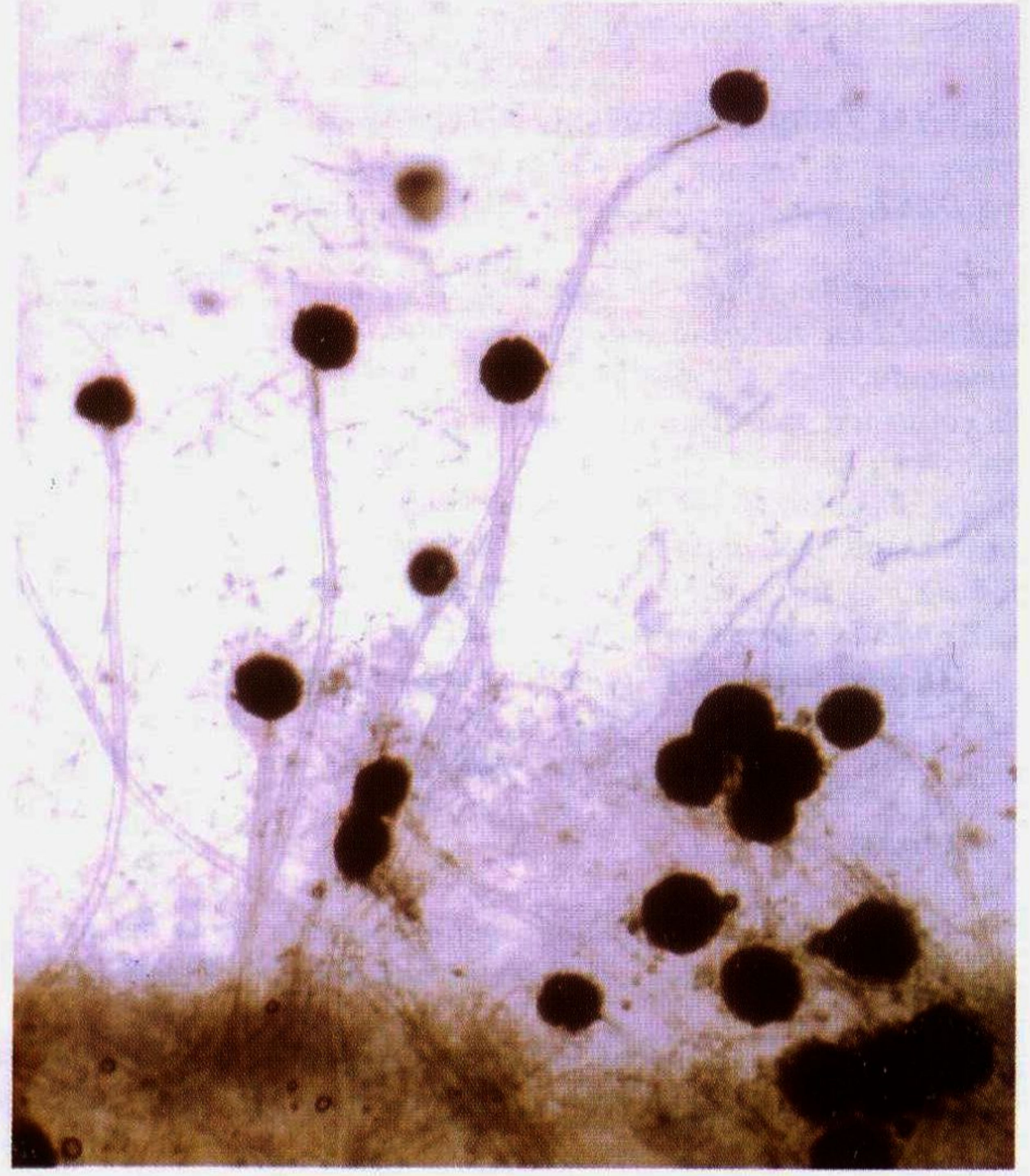
SDA'da hem 25°C'de hem de 37°C'de, 5. günde yoğun bir üreme gösteren aspergillus şüpheli etkenler; üstten, başlangıçta beyaz, tüylü ve kabarık koloniler oluştururken, zamanla bu kolonilerin koyu gri-siyah bir renk aldıkları görüldü. Aynı atmosferlerde 10 günlük inkübasyon sonunda BCSA'da kahverengimsi siyah, BMEA'da ise karbon siyahı renginde koloniler saptandı. Kolonilerin alt yüzeyden SDA'da kirli sarı, BCSA'da renksiz, BMEA'da ise sarımsı beyaz renk aldıkları görüldü. (Resim-2). Makroskopik morfolojinin incelenmesinde kolonilerin büyüme boyutları, tekstürü, marjini, sporulasyon miktarı, zonasyonu, yarıma durumu, çözünür pigmentasyon özellikleri de dikkate alındı. Bu kolonilerin mikroskopik muayenesinde merkezde bir vezikül ile buradan orijin alan ve her yöne doğru uzantılar gösteren konidiasporlar dikkati çekti. Bu mikroskopik yapı içerisindeki vesikül, konidia, metula ve konidiaforların incelenmesi sonucunda etken *A. niger* olarak tanımlanmıştır (Resim - 3,4). KA'da ise 5. gün sonunda herhangi bir bakteriyel üremenin olmadığı görüldü.



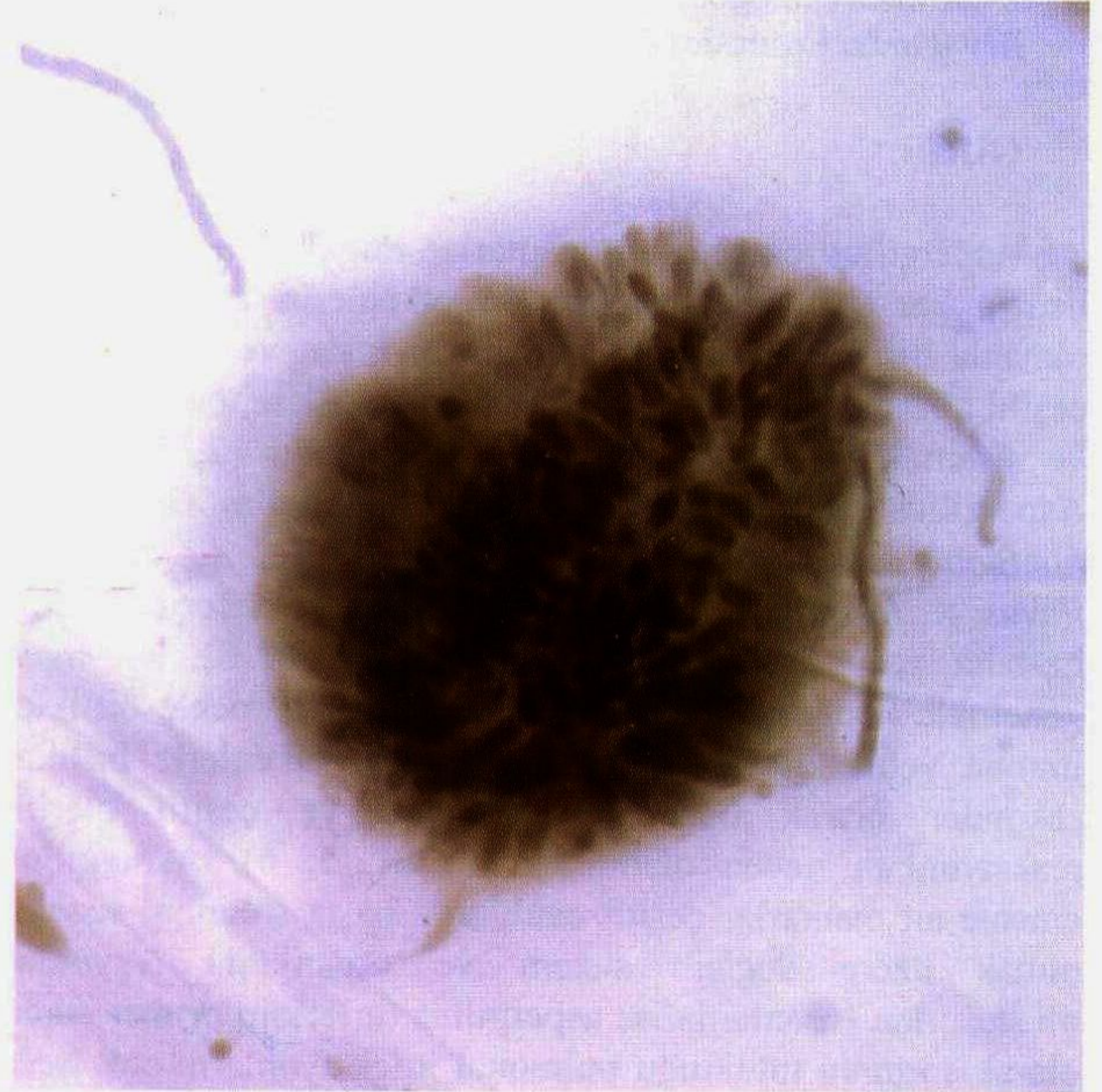
Resim 1: Deri Kremindeki Üreme.



Resim 2: SDA'daki *A. niger* Kolonileri. (25°C'de, 5 Gün Inkübasyondan Sonra, x 80).



Resim 3; *A. niger* Konidia ve Konidiaforları. (LFPM, x 400).



Resim 4: *A. niger* Konidia ve Konidiaforları. (LFPM, x 400).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüz insanı yoğun yaşam temposu ve doğal dengesi bozulmuş bir çevrede, çeşitli olumsuz dış faktörlerden korunmak ve kendini daha iyi hissetmek amacıyla oldukça farklı kozmetik ürünler kullanmaktadır. Bu nitelikteki

ürünlerin bir çoğu ülkemize ithal yoluyla girmekte ve tüketiciye ulaşmaktadır. Kozmetik ürünlerin ülke içerisindeki dağıtım ve özellikle depolanma koşullarının uygun şartlarda olmaması, bu materyallerin çevresel koşullardan fazlaca etkilenmesine neden olabilmektedir.

Mikotik etkenler, tahıllar başta olmak üzere çeşitli gıda maddelerinde uygun nem (rutubet) ve ısı derecelerinde yoğun bir şekilde üreyerek, önemli lokal ve sistemik infeksiyonlara sebep olabilmektedir. Daha çok kontaminant bir mantar olarak kabul edilen *A. niger*'in bazı durumlarda diğer ajanlarla birlikte çeşitli infeksiyonlara ve alerjilere neden olabileceği belirtilmiştir (4, 5, 8). Bu çalışmada *A. niger* izole edilen kremin, immun yetmezliği ve uygulama bölgesinde bir portantrenin de olabileceği tüketicilere uygulanma olasılığı dikkate alındığında, böyle ürünlerin insanlar için önemli bir risk oluşturduğu düşünülebilir. Diğer yandan, *A. niger*'in de içinde bulunduğu bazı mikotik etkenlerin doğrudan deriye teması ile aşırı duyarlılık reaksiyonları oluşabilmektedir (4).

Sonuç olarak, ülkemize ithal yoluyla getirilen krem gibi çeşitli kozmetik ürünlerin ülkeye girişinden önce üretici firmaların uluslararası güvenilirliklerini dikkate almaksızın her bakımdan daha sıkı kontrol edilmesi, ülke içerisinde ise özellikle depolama ve dağıtım koşullarının ideal şartlara getirilmesi, tüketici sağlığı bakımından daha doğru ve mutlak gerekli bir uygulama olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Akan M, Atasever A, Yardımcı H**, (1996): Bir bıldırcın sürüsünde *Aspergillus fumigatus* infeksiyonu. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 43 (2): 147-150.
2. **Brown MW, Evans C, Ford JL, Pilling M**, (1986): A note on the recovery of microorganisms from an oil in water cream. J. Clin. Hosp. Pharm. 11 (2): 117-123.
3. **Connolly P, Bloomfield SF, Denger SP**, (1994): The use of impedance for preservative efficacy testing of pharmaceuticals and cosmetic products. J. Appl. Bacteriol. 76 (1): 68-74.
4. **Çolakoğlu G**, (2002): Extraction of *Aspergillus niger* van Tieghem, an allergenic microfungus, and application of toxicity test. Türk Mikrobiyol. Cem. Derg. 32 (3-4), 286-289.
5. **Daris CL, Schaefer WB**, (1962): Cutaneous aspergillosis in a cow. JAVMA. 141 (11): 1339-1343.
6. **Larone DH**, (1993): Medically Important Fungi, A Guide To Identification. Second Edit. American Society For Microbiology, Washington.
7. **Moore GS, Jaciow DM**, (1979): Mycology For The Clinical Laboratory. Chapter 11, Reston Publishing Company, Reston, Virginia.
8. **Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR**, (1994): Clinical Veterinary Microbiology. Wolf Publishing, Sp