

Microbial Content in some Foundation Creams in Iran's Market

Shabnam Norouz-zadeh¹,
Majid Saeedi²,
Reza Enayatifard³,
Katayoun Morteza-Semnani⁴,
Jafar Akbari³

¹ MSc Student in Drug Quality Assurance, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Pharmaceutics, Pharmaceutical Sciences Research Centre, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Associate Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Professor, Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 2, 2014 ; Accepted October 19, 2014)

Abstract

Background and purpose: Risk of pathogen transmission through poor quality cosmetic products that are illegally smuggled is very high. In this study the microbial contamination of some foundation creams obtained from poor quality markets and a sample obtained from pharmacy were investigated.

Materials and methods: In this study the microbial content (bacterial total count, fungal count, and presence of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter*) of all samples were evaluated using pour plate and multiple tube techniques

Results: The samples were 83.33% contaminated. Fungal contamination in was observed in 42.8% of total samples. All samples were found contaminated by pathogenic microorganisms and *Staphylococcus aureus* was observed to be the most preponderant.

Conclusion: High level of contamination in foundation creams, threatens the health of consumers. These results indicate that high levels of contaminants are found even in raw materials used for preparation of cosmetic products. Contaminations in all processes of producing, packing, and storing of such products call for a more active involvement of quality assurance system in cosmetic industry.

Keywords: Cosmetic, foundation cream, microbial content, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

بررسی محتوای میکروبی برخی از کرم پودر های موجود در بازار ایران

شبیم نوروززاده^۱

مجید سعیدی^۲

رضا عنایتی فرد^۳

کتایون مرتضی سمنانی^۴

جعفر اکبری^۳

چکیده

سابقه و هدف: احتمال انتقال آلودگی و خطرات ناشی از آن در فرآورده‌های آرایشی، به ویژه محصولات غیراستاندارد که به صورت قاچاق در کشور توزیع می‌شود، بسیار زیاد است. در این مطالعه کیفیت میکروبی و وضعیت آلودگی برخی از کرم پودرهای موجود در بازار و نمونه‌ای از کرم پودرهای موجود در بازار رسمی به عنوان نمونه شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، ۶ نوع از کرم پودرهای موجود در بازار غیر رسمی و یک نمونه از کرم پودرهای موجود در بازار رسمی به عنوان شاهد، از دیدگاه محتوای میکروبی (شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی، شمارش کلی کپک و مخمر و حضور میکروارگانیسم‌های ممنوع سودومونا اثرورینوزا، استافیلوکوک طلایی و انتروباکتر) به دو روش Pour Plate و لوله‌های متعدد ارزیابی شد.

یافته‌ها: ۸۳/۳۳ درصد از نمونه‌ها و نمونه شاهد دارای آلودگی خارج از محدوده قابل قبول از دیدگاه تعداد میکروارگانیسم‌های هوازی بودند. آلودگی غیر قابل قبول قارچی در ۴۲/۸ درصد از کل نمونه‌ها مشاهده گردید. تمامی نمونه‌ها آلوده به میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و استافیلوکوک طلایی فراوان‌ترین ارگانیسم جدا شده از نمونه‌ها بود.

استنتاج: بالا بودن میزان آلودگی کرم پودرهای مورد بررسی، تهدیدکننده سلامت مصرف‌کننده و مطرح‌کننده آلودگی بالای مواد اولیه در تهیه این فرآورده‌ها، روند و جایگاه ساخت و یا بسته‌بندی و عدم کارایی سیستم تضمین کیفیت در تولید فرآورده‌های مزبور می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فرآورده آرایشی، کرم پودر، آلودگی میکروبی، سودومونا اثرورینوزا، استافیلوکوک طلایی

مقدمه

طیف وسیعی از ترکیبات آلی و غیر آلی، محیطی مساعد برای رشد میکروب‌ها را فراهم می‌کند (۲). کرم‌های آرایشی فرآورده استریل نمی‌باشند اما با توجه به کاربرد موضعی باید سلامت میکروبی لازم را داشته باشند (۳). آلودگی فرآورده‌های آرایشی موضعی همانند سایر

آلودگی میکروبی یکی از مهم‌ترین مشکلات صنایع آرایشی محسوب می‌شود، زیرا این محصولات جایگاه مناسبی را برای بقاء و رشد میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌آورند (۱). ساختار کرم‌های آرایشی با وجود رطوبت، غنی بودن از مواد معدنی ضروری و فاکتورهای رشد،

E mail: majsaeedi@yahoo.com

مؤلف مسئول: مجید سعیدی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد نظارت بر دارو، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استاد، گروه فارماسیوتیکس، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استاد، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۱۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۵/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۷/۲۷

فرآورده‌های آرایشی موضعی ممکن است به دنبال آلودگی مواد اولیه، روند ساخت یا هنگام استفاده ایجاد شود (۴). محتوای میکروبی مواد اولیه به شدت مهم است زیرا میکروارگانیسم‌ها ممکن است محصول نهایی و هم‌چنین جایگاه ساخت را آلوده نماید (۵). بقای میکروبی در فرآورده‌های آرایشی به ترکیب محصول، محتوای پرزرواتیو (نگهدارنده)، شرایط بهداشتی عملیات ساخت، بسته‌بندی، حمل و نقل و نگهداری بستگی دارد (۶). آلودگی میکروبی فرآورده‌های آرایشی ممکن است سبب فساد محصول و در مواقعی که میکروارگانیسم‌ها پاتوژن باشد، خطر جدی برای سلامت مصرف‌کننده ایجاد می‌کنند (۷). بر طبق قوانین سازمان غذا و داروی امریکا محصولات آرایشی باید کاملاً عاری از میکروارگانیسم‌های پاتوژن باشند و شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی در هر گرم یا هر میلی‌لیتر باید پایین باشد. شمارش کلی بر فرآورده‌هایی که اطراف چشم استفاده می‌شوند، نباید از $500 \frac{cfu}{g \text{ or } ml}$ بیش‌تر باشد. برای دیگر فرآورده‌ها شمارش کلی میکروارگانیسم نباید از $1000 \frac{cfu}{g \text{ or } ml}$ بیش‌تر باشد (۲). میکروارگانیسم‌هایی که اجازه حضور در فرآورده‌های آرایشی را ندارند، بسته به نوع کاربرد عبارتند از: استافیلوکوک طلایی، اشرشیا کلی، گونه‌های سالمونلا، کاندیدا آلبیکنس، گونه‌های کلوستریدیوم و سودومونا آئروژینوزا (۷). حتی حضور میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زا در فرآورده‌های آرایشی ممکن است تحت شرایط خاصی سبب بیماری شوند. برای مثال میکروب‌های آلوده‌کننده اگر در سطح پوست آسیب دیده مورد استفاده قرار گیرند، ایجاد بیماری می‌کنند (۸). تدوین و معرفی GMP، استانداردهای میکروبی را بهبود بخشیده اما هم‌چنان فرآورده‌های آلوده وجود دارد و در مواردی پی‌آمد جدی برای سلامت مصرف‌کننده در بردارد (۹). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ در هندوستان انجام پذیرفت، محتوای میکروبی پودرهای صورت مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این که از منابع طبیعی مانند تالک، خاک فولر، بنتونیت

و ... در تهیه فرمولاسیون‌های مذکور استفاده می‌شود، شناس آلودگی این فرآورده‌ها بالا است. نتایج به دست آمده از این مطالعه نیز آلودگی بالای محصولات فوق را نشان می‌دهد (۱۰). در گزارشی دیگر آلودگی پودرهای تالک به کلوستریدیوم تتانی منجر به مرگ چهار نوزاد در نیوزلند گردید (۲). فرآورده‌های آرایشی در بازار غیر رسمی از معضلات بسیاری از کشورهاست. بنابراین با توجه به قوانین محدودیت میکروبی برپایه فارماکوپه رسمی کشور، در این مطالعه به بررسی محتوای میکروبی برخی از کرم پودرهای موجود در بازار ایران پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۶ نوع کرم پودر، و از هر یک سه نمونه خریداری شده از بازار غیر رسمی به همراه یک نمونه کرم پودر تهیه شده از داروخانه به عنوان شاهد از نظر محتوای میکروبی به هر دو روش pour plate و لوله‌های متعدد مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌ها به صورت در بسته از محل عرضه محصولات غیر رسمی خریداری شدند. با توجه به ضوابط فارماکوپه میزان شمارش میکروبی تعیین و هم‌چنین فرآورده‌های فوق از دیدگاه میکروارگانیسم‌های ممنوع که در فرآورده‌های موضعی شامل سودومونا آئروژینوزا، استافیلوکوک طلایی و انتروباکتر می‌باشد، بررسی شدند. ابتدا در نمونه‌ها با اتانول ۷۰ درصد تمیز گردید و در آن‌ها با رعایت شرایط آسپتیک و زیر هود لامینار ایرفلو و در کنار شعله و با استفاده از وسایل استریل باز شد. جهت بررسی اثر ضد میکروبی در فرآورده‌ها و امکان رشد میکروارگانیسم‌های احتمالی آزمایش مقدماتی بر روی تمامی نمونه‌ها با تلقیح میکروارگانیسم‌های استافیلوکوک طلایی (PTCC 1112) و سودومونا آئروژینوزا (PTCC 1074) صورت گرفت که عدم رشد در تمامی پلیت‌ها نیاز به استفاده از ۳ درصد توئین ۸۰ و ۵/۰ درصد لیسیتین برای رقیق شدن نمونه‌ها را به اثبات

روی محیط‌های اختصاصی، میکروارگانیزم‌های مربوطه شناسایی شدند (۱۲).

یافته‌ها و بحث

خلاصه نتایج شمارش کلی باکتری و کپک و مخمر در جدول شماره ۱ ارائه شده است. در روش pour plate ۶۶/۶۶ درصد از نمونه‌ها آلودگی $> 10^3 \frac{cfu}{g}$ و نمونه شاهد آلودگی $> 10^4 \frac{cfu}{g}$ را نشان داد.

جدول شماره ۱: نتایج شمارش کلی باکتری، کپک و مخمر و حضور میکروارگانیزم‌های ممنوع

کد نمونه	تعداد باکتری‌ها در روش pour plate	تعداد باکتری‌ها در روش لوله‌های متعدد و مخمر	تعداد کپک ارگانیزم جدا شده
۱	$> 10^2$	> 1100	استافیلوکوک طلائی
۲	$1/5 \times 10^2$	۵۰۰	استافیلوکوک طلائی
۳	4×10^2	> 1100	استافیلوکوک طلائی
۴	2×10^2	> 1100	سودومونا آئروژینوزا
۵	1×10^1	> 1100	سودومونا آئروژینوزا
۶	$1/5 \times 10^2$	> 1100	استافیلوکوک طلائی
شاهد	$8/5 \times 10^4$	> 1100	اتروباکتر

شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها در ۸۸/۳۳ درصد از نمونه‌ها و نمونه شاهد با احتمال نزدیک به یقین به روش لوله‌های متعدد خارج از محدوده استاندارد قرار داشت و فقط ۱۴/۲۸ درصد از تمامی نمونه‌ها (یک نمونه از هفت نمونه) در محدوده مورد قبول از دیدگاه تعداد میکروارگانیزم قرار داشت. ۵۰ درصد از نمونه‌ها فاقد آلودگی قارچی و در ۳۳/۳ درصد از نمونه‌ها و نمونه شاهد، آلودگی قارچی خارج از محدوده استاندارد مشخص شد. هم‌چنین آلودگی تمامی نمونه‌ها به میکروارگانیزم‌های پاتوژن مشاهده گردید. در جدول شماره ۱ میکروارگانیزم‌های جدا شده از هر نمونه ارائه شده است. استافیلوکوک طلائی میکروارگانیزم جدا شده در اغلب نمونه‌ها بود (۴ نمونه از هفت نمونه). استافیلوکوک طلائی میکروارگانیزم معمول در اغلب بیماری‌های پوست می‌باشد. زردزخم، فولیکولیت و جوش انواع معمول عفونت‌های پوستی توسط استافیلوکوک طلائی هستند. در مطالعه‌ای که توسط

رساند (۱۲، ۱۱). برای شمارش میکروارگانیزم‌های هوایی احتمالی در نمونه‌ها از هر دو روش پلیت و لوله‌های متعدد استفاده شد. در روش pour plate، یک گرم از هر فرآورده در ۹ میلی‌لیتر نرمال سالین استریل به همراه ۳ درصد توئین ۸۰ و ۰/۵ درصد لیستین یکنواخت گردید. یک میلی‌لیتر از نمونه یکنواخت شده به پلیت استریل منتقل گردید. سپس حجم مناسب از محیط کشت استریل SCDA (مرک، آلمان) برای شمارش کلی میکروارگانیزم‌های هوایی به پلیت اضافه شد و پلیت‌های مزبور در $35^{\circ}C$ به مدت ۲۴-۴۸ ساعت انکوبه گردید. هم‌چنین برای شمارش کپک و مخمر یک میلی‌لیتر از نمونه یکنواخت شده به پلیت استریل منتقل و محیط استریل SDA (مرک، آلمان) به پلیت اضافه و سپس در $25^{\circ}C$ به مدت ۷-۵ روز انکوبه گردید. سپس شمارش میکروبی صورت گرفت. در روش لوله‌های متعدد نیز یک گرم نمونه در ۹ میلی‌لیتر نرمال سالین استریل به همراه ۰/۳ درصد توئین ۸۰ و ۰/۵ درصد لیستین یکنواخت گردید و یک میلی‌لیتر از نمونه یکنواخت شده طبق روش مربوطه به لوله‌های حاوی محیط SCDB (مرک، آلمان) تحت شرایط اسپتیک منتقل شد و لوله‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای $35^{\circ}C$ انکوبه گردید. جهت تشخیص میکروارگانیزم‌های ممنوع از محیط‌های کشت افتراقی و آزمایشات توصیف شده توسط USP استفاده گردید، به این جهت یک گرم از نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت SCDB همراه با توئین و لیستین یکنواخت گردید و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای $35^{\circ}C$ انکوبه گردید؛ سپس از این محیط کشت توسط لوپ استریل در سطح پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت اختصاصی کشت خطی داده شد برای تشخیص افتراقی استافیلوکوک طلائی از محیط مانیتول سالت آگار (مرک، آلمان)، برای تشخیص سودومونا آئروژینوزا از محیط سیتریماید آگار و از محیط مک کانکی (مرک، آلمان) برای تشخیص اتروباکتر استفاده شد و پس از بررسی ظاهر کلنی‌ها بر

نکته قابل تأمل در این پژوهش بالا بودن میزان آلودگی لوازم آرایشی مورد بررسی پیش از استفاده بود که مطرح کننده آلودگی محصولات فوق در زمان ساخت و قبل از رسیدن به دست مصرف کننده است که بر ضرورت ارتقاء عملکرد سیستم تضمین کیفیت در مراحل تولید، بسته بندی و نگهداری مناسب و دیگر عوامل دخیل در آلودگی تأکید دارد. نتایج این پژوهش حکایت از ضرورت نظارت بیشتر و دقیق تر بر فرآورده های آرایشی رسمی و غیر رسمی موجود در بازار ایران دارد. بی تردید انجام آزمون های کنترل برپایه ضوابط فارماکوپه نقش مهمی در حفظ سلامت جامعه دارد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد خانم شبنم نوروز زاده می باشد. بدینوسیله از حمایت مالی معاونت محترم تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر می گردد.

بهروان در سال ۲۰۰۴ در ایران انجام پذیرفت، مشخص شد که تنها ۱۷ درصد از کرم های آرایشی استفاده شده در محدوده مورد قبول قرار داشتند (۲). در مطالعه ای دیگر که در کشور نیجریه در سال ۲۰۰۳ بر روی آلودگی میکروبی برخی از برندهای کرم های آرایشی انجام گرفت، استافیلوکوک طلایی و کوکسی های گرم مثبت در اغلب نمونه های مورد بررسی استخراج شد (۱۳). در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۷ توسط قزوینی و همکاران در شهر مشهد انجام گرفت، ۲۹۰ نمونه لوازم آرایشی شامل ۱۴۵ مورد ریمبل و ۱۴۵ نمونه خط چشم از نظر آلودگی باکتریایی در قبل و پس از مصرف مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه مشخص شد که ۱۴/۵ درصد از ریمبل ها و ۲/۷ درصد از خط چشم ها حتی قبل از مصرف دارای آلودگی بودند. باسیلوس و استافیلوکوک کواگولاز منفی فراوانترین باکتری های جدا شده از نمونه ها بودند. میزان آلودگی در نمونه های استفاده شده تفاوت معنی داری با نمونه ها قبل از مصرف داشت (۱۴).

References

1. Ameral LF, Camilo NS, Preda MD, Levy CE, Moriel PG, Mazzola PG. Evaluation of antimicrobial effectiveness of C-8 xylitol monoester as an alternative preservative for cosmetic product. *Int J Cosmet Sci* 2011; 33(5): 391-397.
2. Behravan J, Fazli Bazzaz BS, Malaekheh P. Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000). *Int J Dermatol* 2005; 44(6): 482-485.
3. Piu L, Juliano C, Pirision G, Minghetti P. Application of film method for microbial monitoring of cosmetic raw materials. *J Appl Cosmetol* 1996; 14(4): 155-161.
4. Charnock C. The microbial content of non-sterile pharmaceuticals distributed in Norway. *J Hosp Infect* 2004; 57(3): 233-240.
5. Di Maiuta N, Schwarzenhuber P. Molecular detection of bacteria in calcium carbonate powder used in cosmetic formulations. *Int J Cosmet Sci* 2001; 33(5): 426-431.
6. Detmer A, Jorgensen C, Nysten D. A guidance document on Microbiological control of cosmetics product. (Environmental Project, No: 1336-2010). Danish Ministry of the Environmental, (DEPA) Environmental Protection Agency. Denmark, 2007-2009.
7. Onurdag FK, Ozgen S, Abbasoglu D. Microbiological Investigation of used cosmetic samples. *Hacettepe University J Fac Pharm* 2010; 30(1): 1-16.
8. Smaoui S, Hlima BH. Effect of parabens and isothiazolinone on the microbiological

- quality of baby shampoo: The challenge test. *Biocontrol Sci* 2012; 17(3): 135-142.
9. Lundov MD, Moesby L, Zachariae C, Johansen JD. Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. *Contact Dermatitis* 2009; 60(2): 70-78.
10. Kulkarni SB, Bajpai ND, Meghre VS. Evaluation of dome marketed facepacks and cakes for microbial load. *Asian J Microbiol Biotechnol Environ Sci* 2011; 13(1): 213-216.
11. Poucher WA, Butler H. Poucher's Perfumes, Cosmetics and Soaps: Volume 3: Cosmetics. 2nd ed. London: Chapman and Hall; 1993.
12. United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopeia 30-National Formulary. (USP); 2007.
13. Hugo PG, Onyekweli AO, Lgwe L. Microbiological contamination and preservative capacity of some brands of cosmetics creams. *Tropical J Pharmacut Res* 2003; 2(2): 229-234.
14. Qazvini K, Safdari H. Evaluation of bacterial contamination in cosmetic eye product, before and after use. *Journal of Research in Medical Sciences (Shahid Beheshti Uni Med Sci)* 2007; 31(2): 159-162 (Persian).