

Mikroorganismy kontaminující kosmetické přípravky

Soňa Doleželová

**Bakalářská práce
2016**



**Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická**

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Soňa Doleželová**
Osobní číslo: **T13028**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Mikroorganismy kontaminující kosmetické přípravky**

Zásady pro vypracování:

Teoretická část

1. Mikrobiální jakost kosmetických přípravků. Legislativa.
2. Zdroje kontaminace kosmetických přípravků. Význam kontaminace, zdravotní rizika, nežádoucí změny vlastností kosmetických přípravků.
3. Přehled mikroorganismů kontaminujících kosmetické přípravky.
4. Mikrobiologická kontrola kvality.



Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Doporučená literatura

1. GEIS, P. A. *Cosmetic Microbiology: A Practical Approach*. New York: Taylor & Francis Group, 2006. 295 p. ISBN 978-0-8493-1453-7.
2. ORTH, D. S., DENYER, S. P., KABARA, J. J. *Cosmetic and Drug Microbiology*. New York: InformaHealth Care, 2006. 375 p. ISBN 978-0-8493-7266-7.
3. ROGIERS, V., PAUWELS, M. *Safety Assessment of Cosmetics in Europe*. Karger Medical and Scientific Publishers, 2008. 213 p. ISBN 978-3-8055-8655-9.
4. CAMPANA, R., SCESE, C., PATRONE, V., VITTORIA, E., BAFFONE, W. *Microbiological study of cosmetic products during their use by consumers: health risk and efficacy of preservative systems*. *Lett. Appl. Microbiol.* 2006, 43, p. 301 - 306.

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Iva Hauerlandová, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

20. ledna 2016

Termín odevzdání bakalářské práce:

18. května 2016

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



Ing. Martina Černeková, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: DOLEŽELOVÁ BOJNA

Obor: TVTKD

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 16. 5. 2016

Doleželová

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²¹ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3.

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

²⁰ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá různými faktory, které způsobují mikrobiální kontaminaci kosmetických přípravků. Dále se zabývá jednotlivými skupinami mikroorganismů, které se mohou v kosmetických přípravcích nacházet a také konzervačními látkami v kosmetických přípravcích.

Klíčová slova:

kosmetické přípravky, mikrobiální kontaminace, mikroflóra kůže, správná výrobní praxe

ABSTRACT

This bachelor thesis examines factors that cause microbial contamination of cosmetics. It also deals with the different groups of microorganisms that can be found in cosmetics, and also preservatives in cosmetic products.

Keywords:

cosmetic products, microbial contamination, skin microflora, good manufacturing practise

Poděkování

Děkuji vedoucí své bakalářské práce RNDr. Ivě Hauerlandové, Ph.D. za její pomoc, ochotu a nasměrování při psaní této práce. Dále poděkování patří mé rodině a přátelům, kteří mě drželi nad vodou v nejtěžších chvílích.

„Až ti bude v životě nejhůř, otoč se ke slunci a všechny stíny padnou za tebe.“

John Lennon

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY	12
1.1 BEZPEČNOST KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ.....	13
2 MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	16
2.1 ZDROJE MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	16
2.1.1 Voda	16
2.1.2 Suroviny	17
2.1.3 Lidské zdroje	18
2.1.4 Výrobní proces a zařízení.....	19
2.2 MIKROBIOLOGICKÁ KVALITA KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	19
3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ RŮST MIKROORGANIZMŮ V KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVCÍCH	22
3.1 VODNÍ AKTIVITA (A_w)	22
3.1.1 Význam vodní aktivity v kosmetických přípravcích	23
3.2 TEPLOTA	24
3.2.1 Význam teploty pro mikrobiální kontaminaci KP	25
3.3 PH PROSTŘEDÍ	25
4 MIKROFLÓRA KŮŽE	27
4.1 REZIDENTNÍ MIKROFLÓRA.....	28
4.1.1 Význam rezidentní kožní mikroflóry	28
4.2 TRANZIENTNÍ (PŘECHODNÁ) MIKROFLÓRA.....	29
4.3 PATOGENNÍ A OPORTUNNĚ PATOGENNÍ MIKROFLÓRA.....	29
4.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.3.2 Koaguláza negativní stafylokoky	30
4.3.3 Koryneformní bakterie	30
4.3.4 <i>Streptococcus pyogenes</i>	30
5 MIKROORGANIZMY KONTAMINUJÍCÍ KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY	31
5.1 BAKTERIE.....	31
5.1.1 Gramnegativní bakterie kontaminující KP.....	32
Rod <i>Pseudomonas</i>	32
Rod <i>Serratia</i>	33
Rod <i>Escherichia</i>	34
Rod <i>Enterobacter</i>	35
Rod <i>Klebsiella</i>	35
Rod <i>Proteus</i>	36
5.1.2 Grampozitivní bakterie kontaminující KP	37
Rod <i>Staphylococcus</i>	37
Rod <i>Streptococcus</i>	37
Rod <i>Bacillus</i>	38
Rod <i>Clostridium</i>	39

5.2	MIKROSKOPICKÉ HOUBY	40
6	KONZERVACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	42
6.1	KONZERVAČNÍ LÁTKY V KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVCÍCH	42
6.1.1	Parabeny	43
6.1.2	Alkoholy	44
6.1.3	Organické kyseliny a jejich soli	44
6.1.4	Sloučeniny isothiazolinonu	45
6.1.5	Donory formaldehydu	46
6.1.6	Sloučeniny bromu	46
	ZÁVĚR	48
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	49
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	53
	SEZNAM OBRÁZKŮ	54
	SEZNAM TABULEK	55

ÚVOD

Kosmetické přípravky jsou rozšířeny a používány téměř po celém světě. Zahrnují širokou škálu různých produktů určených k péči o celé lidské tělo. Každý z těchto přípravků obsahuje desítky různorodých ingrediencí, u kterých musí být zajištěna zdravotní nezávadnost. Zároveň musí být zajištěna stabilita celého přípravku.

Z hlediska spotřebitele je čím dál větší důraz kladen na kvalitu kupovaného produktu, ale také na jeho trvanlivost. Zároveň spotřebitelé často chtějí, aby byly kosmetické přípravky přírodní a nejlépe bez jakýchkoli chemických konzervačních látek. Neuvědomují si však, že takovéto požadavky se do určité míry navzájem vylučují. Výrobci kosmetických přípravků nejsou schopni zabezpečit trvanlivost přípravků, aniž by použili konzervační látky. Některé přípravky mají zvýšenou odolnost vůči kontaminaci díky svému složení. Avšak ani u těchto kosmetických přípravků nelze riziko kontaminace úplně vyloučit.

Ke kontaminaci kosmetiky bakteriemi, kvasinkami či plísněmi může dojít jednak během samotné výroby kosmetického přípravku, ale také během další manipulace v celém distribučním řetězci. Nemalé riziko kontaminace vyplývá i ze samotného používání spotřebiteli. Většina lidí používá prsty pro aplikaci kosmetických přípravků a tím si do přípravků zanáší různé mikroorganismy. Z mikrobiologického hlediska je problematické i skladování přípravků v prostředí koupelen, kde je vysoká vzdušná vlhkost a vyšší teplota, tedy podmínky pro mikroorganismy velmi příznivé.

Správně navržený konzervační systém přípravku brání růstu a množení těchto mikroorganismů. Pokud by přípravek neobsahoval konzervační látky, výrazně by se snížila doba jeho použitelnosti. Zároveň by se zvýšilo riziko výskytu patogenních mikroorganismů a bylo by ohroženo zdraví spotřebitelů. V některých případech se mohou projevit nežádoucí změny způsobené mikroorganismy až po delší době a ne bezprostředně po kontaminaci. Proto se výrobci kosmetických přípravků snaží minimalizovat veškeré možné způsoby kontaminace a zabezpečit tak nezávadnost kosmetických přípravků.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY

Pojem kosmetika zahrnuje spotřebitelské výrobky uváděné na trh po celém světě, jejichž účel a funkce jsou vnímány jako univerzální bez ohledu na to, z jakých zemí a kultur spotřebitelé pocházejí. Je však nutné dodat, že spotřebitelé mají často neúplné znalosti o funkci kosmetických přípravků a předpokládají, že mezi ně patří pouze přípravky, jako jsou rtěnky, pleťové krémy, krycí pudry na obličej, laky na nehty a další přípravky spadající do dekorativní kosmetiky. Zákonná definice kosmetických přípravků je však mnohem širší než definice laická. [1]

V současné době je v zemích Evropské unie platná definice kosmetických přípravků uvedená v Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. Kosmetické přípravky (KP) jsou zde definovány jako látky nebo směsi určené pro styk s vnějšími částmi lidského těla (pokožkou, vlasovým systémem, nehty, rty, vnějšími pohlavními orgány) nebo se zuby a sliznicemi ústní dutiny, výhradně nebo převážně za účelem jejich čištění, parfemace, změny jejich vzhledu, jejich ochrany, jejich udržování v dobrém stavu nebo úpravy tělesných pachů [2].

Kosmetické přípravky představují velkou skupinu spotřebních produktů, které jsou volně prodejné a jsou tedy prodávány přímo spotřebitelům. Z výše uvedené definice vyplývá, že mezi kosmetické přípravky nelze řadit výrobky, které se polykají, jsou inhalovány nebo vpichovány. KP by neměly mít primárně léčivý účinek. Přesto může být rozdíl mezi kosmetikou a léčivem nejasný a existuje celá řada hraničních výrobků. KP mají velmi často celou řadu různých funkcí a posouzení, zda se jedná o KP musí tedy být provedeno vždy pro konkrétní výrobek. Na hranici s KP mohou být například výrobky spadající do kategorií léčivých přípravků, biocidů, nebo zdravotnických prostředků. Posouzení vychází ze zákonných předpisů a hlavními rozlišovacími znaky jsou především účel použití a mechanismus účinku. [3, 4]

V literatuře je možné nalézt celou řadu kategorizací KP. Příkladem může být rozdělení uvedené v *Kirk-Othmer chemical technology of cosmetic*. Kosmetické přípravky, bez ohledu na formu, mohou být zařazeny do sedmi kategorií podle použití:

1. Přípravky pro péči a udržování pokožky, včetně produktů, které zjemňují (emolienty a lubrikanty), hydratují (moisturizery), tónují (adstringenty), chrání (opalovací krémy) atd., a napravují (omlazující, proti vráskám, proti akné)

2. Čistící přípravky včetně mýdel, koupelových přípravků, šampónů a přípravků pro ústní hygienu
3. Deodoranty a antiperspiranty
4. Přípravky pro holení a depilaci
5. Přípravky pro péči a udržování vlasů, včetně přípravků pro vlny, narovnání, proti lupům, pro styling a tvarování, kondicionaci a barvení
6. Přípravky určené pro péči a udržování sliznic, ústní vody, produkty pro intimní péči a péči o rty
7. Dekorativní kosmetika, používaná pro zkrášlení očí, rtů, pokožky a nehtů [5]

V roce 2007 uveřejnila Evropská komise na základě doporučení Colipy (Cosmetics Europe - The Personal Care Association) kategorizaci KP, která se v kosmetickém odvětví prosazuje nejvýrazněji. Podle tohoto doporučení lze KP dělit na osm kategorií: dekorativní kosmetika, vlasová kosmetika, vlasová barviva (včetně barvicích a bělicích přípravků), parfémy, přípravky péče o kůži, opalovací přípravky a toaletní potřeby. [3]

1.1 Bezpečnost kosmetických přípravků

Kosmetické přípravky musí splňovat legislativní požadavky pro bezpečnost při používání, musí být vyrobeny za hygienických podmínek a musí vykazovat stabilitu během skladování, přepravy a používání. Bezpečnost každé složky použité v konkrétním konečném kosmetickém přípravku musí být dostatečně doložena před uvedením přípravku na trh. V rámci EU může být na trh uveden pouze KP, pro nějž je určena odpovědná osoba. Povinností odpovědné osoby je zajistit posouzení bezpečnosti přípravku a vypracování zprávy o bezpečnosti [3, 6].

Posouzení bezpečnosti kosmetického přípravku musí provést kvalifikovaná osoba, která vlastní diplom anebo jiný doklad o dosažené kvalifikaci v oboru teoretické a praktické farmacie, toxikologie, medicíny anebo podobného oboru. Minimální požadavky na obsah zprávy o bezpečnosti jsou uvedeny v Příloze I Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. Ve zprávě musí být uvedeno: [2, 3, 7]

1. Kvantitativní a kvalitativní složení kosmetického přípravku, včetně chemické identity látek. Uvádí se chemický název, název podle INCI, čísla CAS a EINECS/ELINCS, v případě parfémových a aromatických kompozic se uvede ná-

zev a číslo kódu příslušného složení a totožnost dodavatele. Součástí informace o ingrediencích by měla být také jejich zamýšlená funkce.

2. Fyzikální a chemické vlastnosti kosmetického přípravku. Tento popis by měl obsáhnout nejdůležitější fyzikálně-chemické vlastnosti jednotlivých látek a směsí obsažených v přípravku, například chemickou identifikaci, fyzikální formu, molekulovou hmotnost, rozpustnost, rozdělovací koeficient, čistotu látek, další parametry důležité pro charakterizaci specifických látek a směsí.
3. Stabilita KP za rozumně předvídatelných podmínek skladování. Ve zprávě o bezpečnosti by měly být uvedeny veškeré dostupné údaje použité k odůvodnění uvedené minimální trvanlivosti. Je také třeba uvést popis zkoušek stability a jejich výsledky.
4. Mikrobiologická kvalita, charakteristika přípravku i jednotlivých složek z hlediska mikrobiologických rizik. Zvláštní pozornost je věnována KP používaným v okolí očí, na sliznice a poškozenou kůži. Informace o mikrobiologické kvalitě jsou nezbytné k tomu, aby se z hlediska bezpečnosti doložila účinnost konzervačního systému, uvedená minimální trvanlivost kosmetického přípravku skladovaného za vhodných podmínek a doba použitelnosti po prvním otevření. Hlavními parametry mikrobiologické kvality jsou počáteční úroveň kontaminace a možnost růstu mikrobů. Zvláštní pozornost je potřeba věnovat surovinám náchylným k mikrobiálnímu růstu (např. směsím na vodní bázi, materiálům bohatým na proteiny, rostlinným nebo živočišným surovinám). Na druhé straně existují suroviny, které růst mikroorganismů nepodporují, např. organická rozpouštědla.
5. Přítomnost nečistot a stopových množství zakázaných látek. Čistota a stabilita obalových materiálů. Pokud se vyskytují stopová množství zakázaných látek, musí být doložena jejich technická nevyhnutelnost.
6. Běžné a rozumně předvídatelné použití. Například v případě šamponu by běžným použitím byla aplikace na vlasovou pokožku, nezamýšleným rozumně předvídatelným použitím by pak bylo jeho použití jako sprchového gelu. Požití by pak bylo jasným případem nesprávného použití. Zamýšlené použití by mělo být vhodným způsobem sděleno spotřebiteli, aby se předešlo nesprávnému použití přípravku.
7. Expozice kosmetickému přípravku. Při výpočtu expozice je třeba přihlížet také k možným toxikologickým účinkům (např. může být nutné vypočítat expozici

na jednotku povrchu kůže nebo na jednotku tělesné hmotnosti). Rovněž je třeba vzít v úvahu možnost sekundární expozice jinými způsoby než těmi, které vyplývají z přímé aplikace (např. nezáměrné vdechnutí spreje, nezáměrné požití přípravku na rty atd.).

8. Expozice látkám. Expozice každé z látek v kosmetickém přípravku se vypočítá z expozice konečnému přípravku a koncentrace jednotlivých látek v KP. Tuto expozici je nutné vypočítat, aby bylo možné zhodnotit potenciální riziko spojené s jednotlivými látkami.
9. Toxikologický profil látek. Důležité je zejména hodnocení lokální toxicity (podráždění kůže a očí), senzibilizace kůže a v případě absorpce ultrafialového záření hodnocení fototoxicity. Zohledněny by měly být všechny významné toxikologické cesty absorpce a systémové účinky. Součástí toxikologického profilu je i výpočet hranice bezpečnosti (Margins of Safety, MoS) na základě hodnoty dávky bez pozorovaného nepříznivého účinku (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL). Nepřítomnost těchto úvah v posouzení musí být náležitě odůvodněna.
10. Nežádoucí účinky a závažné nežádoucí účinky. Cílem této části zprávy o bezpečnosti je sledovat bezpečnost přípravku po jeho uvedení na trh a v případě potřeby přijímat nápravná opatření.
11. Informace o kosmetickém přípravku. Do této části je možné zahrnout jakékoli další informace, které nejsou obsaženy v jiných bodech zprávy, ale jsou považovány za relevantní pro posouzení bezpečnosti přípravku.

Součástí zprávy jsou také údaje o posuzovateli včetně osobních a kontaktních údajů a doložení kvalifikace. Dále pak závěry posouzení a odůvodnění uvádějící důvody, které posuzovatele na základě všech dostupných informací souvisejících s bezpečností vedou k celkovému závěru o bezpečnosti přípravku [2, 3, 7].

2 MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ

Kosmetické suroviny poskytují široký rozsah anorganických a organických látek ve vodných a bezvodých systémech. [8] Při výrobě kosmetických přípravků je třeba dbát na ochranu před chemickou a mikrobiální kontaminací. Chemické znečištění může být způsobeno přítomností nečistot ve vstupních surovinách. [5] Tomu je možno předcházet dodržováním přísné specifikace a kontrolou vstupních surovin. Také je třeba vyvarovat se chemické kontaminaci vyplývající z přehřátí nebo jiných rozkladných reakcí během zpracování, případně i skladování.

Od kontaminace chemické je nutné odlišit kontaminaci mikrobiologickou, která vyplývá z přítomnosti mikroorganismů ve výrobku. Existují souhrnné požadavky na mikrobiální čistotu, které se liší stát od státu. Výrobci kosmetických přípravků se musí řídit těmito specifikacemi a dodržovat požadované doby sterilizace tak, aby KP splňovaly předepsané požadavky dané legislativou příslušné země. [5]

Faktorů, které ovlivňují, jaké druhy mikroorganismů budou kontaminovat konkrétní výrobek, je celá řada. Patří k nim například fyzikální vlastnosti KP, chemické složení, metody výroby, ale také vlastnosti mikrobiálních druhů a jejich schopnost růst za určitých podmínek. [8]

2.1 Zdroje mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků

Zdrojem mikrobiální kontaminace KP může být voda, suroviny použité při výrobě, výrobní zařízení, prostředí a v neposlední řadě i lidé, kteří během výroby přicházejí s KP do kontaktu. [9]

2.1.1 Voda

Voda zůstává jedním z nejdůležitějších zdrojů mikrobiální kontaminace kosmetických produktů. Z přírodních vod jsou často izolovány bakterie rodu *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas* nebo *Flavobacterium*. [1] Distribuční systém vody, skladování a zásobování mohou být příčiny mikrobiologické kontaminace. Častými zdroji jsou deionizační kolony, uhlíkové nebo pískové filtry, akumulární nádrže, vodoměry, ventily a slepá ramena. [10] Na povrchu nádrží, čerpadel a potrubním systému pro rozvod vody se poté mohou tvořit biofilmy, tedy strukturovaná společenstva mikroorganismů o zvýšené odolnosti k

antimikrobním látkám a procesům čištění. Tyto kolonizace poté představují mikrobiální rezervoár, který kontaminuje procházející vodu. Proudící voda způsobuje občasné odlupování biofilmu a mikroorganismy mohou být přeneseny i do hlavního vodovodního potrubí. [11]

Kvalita vody by měla být monitorována, a to především v místech vhodných pro vznik biofilmu. Rovněž by tato místa měla být pravidelně čištěna a sanitována. [10] Pro zajištění optimální mikrobiologické kvality vody lze využít například ošetření pomocí UV lamp a/nebo bakteriální filtraci. Mikrobiologická kontrola vody by měla být prováděna každý pracovní den a musí být nastaven systém pro ověřování kvality vody. [1] Rizikovými skupinami kontaminujících mikroorganismů, jejichž zdrojem je voda, jsou především gram-negativní bakterie. Nežádoucí jsou zejména koliformní bakterie a bakterie rodu *Pseudomonas*. [3, 11]

2.1.2 Suroviny

Problémy s mikrobiální kontaminací, ke kterým dochází v průběhu výroby a u hotových výrobků, je často možné vysledovat až mikrobiální kvalitě surovin používaných v závodě. [8] Suroviny jsou dnes nejčastějším zdrojem kontaminace kosmetiky. [10] Přítomnost bakterií, kvasinek a plísní v surovinách je přirozeným důsledkem kontaktu se vzduchem, vodou a půdou, které tyto mikroorganismy obsahují. Chemické složení surovin, podmínky při sklizni, zpracování, výrobě a skladování určují, zda budou mikroorganismy přítomny, jestli budou schopny růstu a jak velké budou tvořit populace. [8]

Nejvíce jsou kontaminací ohroženy suroviny s vyšším obsahem vody, ale i bezvodé suroviny mohou obsahovat mikrobiální spory, které budou růst, pokud jsou uvedeny do formulací KP obsahujících vodu. [10] Většina surovin, používaných v kosmetice, jsou suché prášky, přírodní gely nebo povrchově aktivní látky. [11] Anorganické soli, oxidy železa, oxid titaničitý a bentonit patří mezi suroviny s nízkou mikrobiální zátěží. Přírodní gemy (arabská, guarová, karaya guma), proteinové prášky (hydrolyzovaný živočišný kolagen, proteinové hydrolyzáty, směsi aminokyselin), škrob a jiné kosmetické suroviny mají v různých fázích své přípravy vodné kroky, které umožňují růst mikroorganismů. [8] Suroviny živočišného nebo rostlinného původu mohou být silně kontaminovány a mohou obsahovat 10^6 nebo i více organismů na gram nebo mililitr. [1]

Suroviny na vodné bázi jsou dodávány v různých typech nádob a kontejnerů. Kontaminanty mohou být přítomny už v okamžiku dodání nebo může ke kontaminaci mikroorganismy

dojít sekundárně, během manipulace s nádobami. Se všemi surovinami o vyšším obsahu vody, by tedy mělo být zacházeno podle určitých pravidel. Konzervační látky by měly být voleny s ohledem na konečnou formulaci a měly by být použity v koncentraci, která zajistí bezpečnost produktu i během jeho používání po celou dobu trvanlivosti. Výrobce by si také měl stanovit mikrobiální limity pro dodávané suroviny na vodné bázi. Pokud dodavatel surovin nemá k dispozici výsledky mikrobiologických testů, je vhodné tyto testy provést před tím, než je surovina schválena a propuštěna do výroby. [10]

2.1.3 Lidské zdroje

Velmi častým zdrojem mikrobiální kontaminace KP jsou pracovníci zapojení do výrobního procesu. Ideální je dosáhnout co nejmenšího přímého styku pracovníka s výrobkem. Pokud to však není možné, je nutností důsledné dodržování hygienických pravidel výroby. Kromě rizika kontaminace KP během výroby je nutné brát v potaz i možnost sekundárního znečištění, tedy mikrobiální kontaminaci výrobku spotřebitelem. Sekundární kontaminace je spojena s běžným denním užíváním výrobku. Ať už jde o primární či sekundární kontaminaci, v případě lidských zdrojů se nejčastěji jedná o kontaminaci mikroflórou kůže. [9, 3]

Pracovníci výroby by měli být řádně proškoleni v otázkách osobní hygieny, ochranných pracovních pomůcek, způsobů přenosu kontaminace a postupů, kterými je možné riziko kontaminace významně omezit či úplně eliminovat. Osobní hygiena zahrnuje mytí rukou, nošení čistého oblečení, vlasy a vousy udržet zakryté. Pro aseptickou výrobu může výrobce použít předem sterilované kusové obleky, pokrývky nohou, vlasů a vousů, masky a rukavice. [11]

Časté mytí rukou je nejdůležitější a levný způsob, jak zabránit kontaminaci. Zaměstnanci by neměli nosit šperky. Měli by si umýt ruce pokaždé, když odejdou a vrátí se do technologické oblasti. Dokonce i krátké (15 s) mytí rukou vede ke značnému snížení počtu mikroorganismů přítomných na kůži rukou. Nicméně, důkladné mytí teplou vodou (32 - 43°C) a antibakteriálním mýdlem po dobu alespoň jedné minuty, je nejlepší. [11]

Oblečení pracovníků musí být čisté a bez ozdob. Definované pracovní oděvy jsou vhodným prostředkem pro zajištění kontroly dodržování předpisů a správné výrobní praxe. Světlé barvy uniforem nebo laboratorních plášťů ukazují potřebu čištění mnohem dříve než tmavé barvy. Kapsy na uniformách by měly mít zapínání. Tím se zabrání pádu materiálu, který se v nich může nacházet, do výrobku nebo strojního zařízení. [11]

2.1.4 Výrobní proces a zařízení

V průběhu výrobního procesu může dojít ke kontaminaci výrobního zařízení a prostředí. Zdrojem této kontaminace mohou být opět samotní pracovníci, kteří výrobní zařízení kontaminují mikroorganismy z kůže, vlasů, pokožky rukou a za určitých okolností i střevní mikroflórou. Prostředí a zařízení výroby tak může být kontaminováno například enterokoky, stafylokoky, enterobakteriemi a bakteriemi rodu *Pseudomonas*, které mají dostatečnou schopnost přežití a pokud jsou přeneseny i do KP, mohou se zde množit.

Kromě výrobního zařízení mohou být zdrojem kontaminace také materiály pro údržbu, špatné čištění nebo dezinfekce. Důležitým faktorem je pochopitelně konstrukce zařízení, jehož nerovnosti a záhyby mohou být obtížně dostupné pro čištění a údržbu. Vhodným opatřením je optimalizace výrobního procesu tak, aby se zabránilo stání zbytků produktů v systému. Procesy čištění strojního zařízení by měly být navrženy tak, aby nezanechávaly malá množství stojaté vody s naředěným přípravkem ve vnitřním prostředí strojů. Takový čistící proces by pak mohl mít spíše negativní dopad. [1]

2.2 Mikrobiologická kvalita kosmetických přípravků

Při posuzování bezpečnosti kosmetických přípravků je jedním z nejdůležitějších parametrů jejich mikrobiologická kvalita. Mikrobiální kontaminace totiž způsobuje nejen organoleptické změny, jako zápach, změny viskozity a barvy, ale může také ohrozit zdraví spotřebitele. [12] Kosmetické přípravky nemusí být sterilní. Pokud ale jsou v přípravku přítomny mikroorganismy, nesmí mít nepříznivý vliv na bezpečnost spotřebitele nebo na kvalitu výrobku. Ta musí být zachována po celou dobu používání. Proto jsou pro hotové kosmetické výrobky stanoveny kvantitativní a/nebo kvalitativní mikrobiologické limity. [13]

Kosmetické přípravky lze z mikrobiologického hlediska rozdělit do tří skupin:

- 1) přípravky s nízkým mikrobiologickým rizikem (např. přípravky s obsahem alkoholu vyšším než 20 %, přípravky na bázi organických rozpouštědel, přípravky s vysokým či nízkým pH), u nichž není nezbytné na konečném přípravku provádět zátěžový test konzervace ani zkoušky mikrobiologické kvality.
- 2) přípravky na jedno použití a přípravky, které nelze otevřít (jejichž obal například umožňuje dávkování přípravku, aniž by došlo ke kontaktu se vzduchem), u kterých jsou nezbytné pouze testy mikrobiologické kvality konečného přípravku.

3) všechny ostatní přípravky, u nichž je nezbytné provést na konečném přípravku zátěžový test konzervace i testy mikrobiologické kvality. [7]

Požadavky na mikrobiologickou kvalitu jsou uvedeny v mezinárodní normě ČSN EN ISO 17 516 - Mikrobiologické limity. V tabulce 1 jsou tyto limity uvedeny.

Tabulka 1. Mikrobiologické limity pro kosmetiku [13]

Druhy mikroorganismů	Výrobky specificky určené pro děti do tří let, pro oblast okolo očí nebo na sliznice	Jiné výrobky
Celkový počet aerobních mezofilních mikroorganismů	$\leq 1 \cdot 10^2$ KTJ na g nebo ml	$\leq 1 \cdot 10^3$ KTJ na g nebo ml
<i>Escherichia coli</i>	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml
<i>Candida albicans</i>	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml	Nepřítomnost v 1 g nebo 1 ml

Postup pro stanovení počtu a průkaz jednotlivých skupin mikroorganismů je uveden v příslušných normách. Stanovení celkového počtu aerobních mezofilních mikroorganismů lze provést dle ČSN EN ISO 21 149 – Stanovení počtu a průkaz aerobních mezofilních bakterií. Stanovení se provádí buď počítáním kolonií na agarovém médiu po aerobní inkubaci, nebo průkazem nepřítomnosti růstu bakterií po pomnožení.

Stanovení počtu na miskách sestává z následujících kroků:

- Příprava misek pro přeliv nebo roztěr s použitím specifikovaného kultivačního média a zaočkování ploten určeným množstvím výchozí suspenze nebo ředěním výrobku.
- Aerobní inkubace ploten při $32,5 \text{ °C} \pm 2,5 \text{ °C}$ po $72 \text{ h} \pm 6 \text{ h}$.
- Počítání kolonií tvořících jednotky (KTJ) a výpočet množství aerobních mezofilních bakterií na mililitr nebo na gram výrobku.“

Průkaz bakterií pomnožením sestává z následujících kroků:

- a) Inkubace při $32,5 \text{ °C} \pm 2,5 \text{ °C}$ nejméně 20 h určeného množství výchozí suspenze v neselektivním tekutém médiu obsahujícím vhodné neutralizátory a/nebo dispergující prostředky.
- b) Přenesení určeného množství uvedené suspenze na neselektivní pevné agarové médium.
- c) Aerobní inkubace při $32,5 \text{ °C} \pm 2,5 \text{ °C}$ po dobu 48 h až 72 h.

- d) Detekce růstu a vyjádření výsledku jako přítomnost/nepřítomnost aerobních mezofilních bakterií ve vzorku S výrobku. [14]

Stanovení počtu kvasinek a plísní je vhodné provádět podle zásad uvedených v ČSN EN ISO 16 212 – Stanovení počtu kvasinek a plísní. Norma uvádí postup založený na počítání kolonií na selektivním agaru po aerobní inkubaci. Pokud vzorek inhibuje růst hub, musí být neutralizován, pro umožnění detekce životaschopných mikroorganismů.

Stanovení počtu na miskách zahrnuje následující kroky.

- a) Přípravu litím nebo rozetřením na misky, použití předepsaného kultivačního média a inokulaci misek použitím definovaného množství výchozí suspenze nebo ředěného přípravku.
- b) Aerobní inkubace misek při $25\text{ °C} \pm 2,5\text{ °C}$ po dobu 3 dnů až 5 dnů.
- c) Počítání kolonií tvořících jednotky (KTJ) a výpočet množství kvasinek a plísní na mililitr nebo na gram výrobku. [15]

Postup pro průkaz specifických mikroorganismů v kosmetických přípravcích uvádí následující normy ČSN EN ISO 21150 - Kosmetika - Mikrobiologie - Průkaz *Escherichia coli*, ČSN EN ISO 22717 - Kosmetika - Mikrobiologie - Průkaz *Pseudomonas aeruginosa*, ČSN EN ISO 22718 - Kosmetika - Mikrobiologie - Průkaz *Staphylococcus aureus* a ČSN EN ISO 18416 - Kosmetika - Mikrobiologie - Průkaz *Candida albicans*.

3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ RŮST MIKROORGANISMŮ V KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVCÍCH

3.1 Vodní aktivita (a_w)

Voda hraje klíčovou roli ve fyziologii živých organismů. Hlavním důvodem je přímé zapojení vody prakticky do všech procesů, které v živých organizmech probíhají. Mohou to být například různé chemické a biochemické reakce, difuze či transport látek. Voda smáčí většinu povrchů, hydratuje nebo solvatuje mnoho chemických sloučenin a vzhledem k její velké mobilitě se může pohybovat mezi různými částmi nebo fázemi, které jsou normálně součástí biologických systémů. [16]

Většina mikroorganismů vyžaduje v prostředí volně přístupnou vodu. Tyto mikroorganismy označujeme jako hygrofilní. Existují i organismy xerofilní, které mají schopnost využívat vodu vázanou na povrchu půdních částic (hygroskopická voda). Jestliže v prostředí není k dispozici dostatečné množství využitelné vody, dochází k dehydrataci buněk, což za normálních podmínek vede k podstatnému snížení metabolické aktivity, avšak po delší době trvání tohoto stavu buňky odumírají. Potřeba vody může být u mikroorganismů kvantitativně vyjádřena rozmezím vodních aktivit prostředí, při nichž se dané mikroorganismy mohou rozmnožovat. Vodní aktivita určitého roztoku (a_w) je tedy vyjádřením dostupnosti vody pro mikroorganismy a je definována jako poměr tlaku vodní páry nad tímto roztokem k tlaku vodní páry nad čistou vodou při stejné teplotě, jako je uvedeno ve vzorci (1)

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{n_2}{n_1+n_2} \quad (1)$$

kde P je tlak vodní páry nad roztokem, P_0 je tlak páry nad čistou vodou, n_1 je počet molů rozpuštěné látky a n_2 je počet molů vody.

Čistá voda má aktivitu 1,00, zatímco "úplně suché" prostředí by mělo vodní aktivitu 0,00. [17, 18, 19]

Hodnota vodní aktivity závisí na teplotě. Vliv teploty na aktivitu vody produktu je produktově specifický. U některých výrobků se zvyšuje aktivita vody s teplotou, u dalších se aktivita vody snižuje s rostoucí teplotou, zatímco většina produktů s vysokou vlhkostí se s teplotou nemění. [17]

3.1.1 Význam vodní aktivity v kosmetických přípravcích

Aktivita vody je jedním z nejkritičtějších faktorů, které zaručují spotřebitelům kvalitu a bezpečnost zboží na trhu napříč širokou škálou obchodních segmentů. Aktivita vody ovlivňuje trvanlivost, bezpečnost, texturu, chuť a vůni potravin. Je také důležitá pro stabilitu léčiv a kosmetiky. Obecně lze říci, že bakterie vyžadují vysoké hodnoty vodní aktivity 0,94-0,99. Odolnější k nedostatku dostupné vody jsou kvasinky, které se množí i při hodnotách a_w pod 0,7. Nejdolnější skupinou mikroorganismů jsou plísně, které zvládají i vodní aktivitu o hodnotách do 0,6. [17] V tabulce 2 jsou uvedeny hodnoty vodní aktivity, které jsou vhodné pro růst nejčastějších mikrobiálních kontaminantů kosmetických přípravků. Měřením aktivity vody je možné předvídat, které mikroorganismy budou či nebudou potenciálními zdroji kontaminace. [17]

Tabulka 2. Specifická aktivita vody pro růst mikroorganismů kontaminujících kosmetické přípravky [17]

Druh mikroorganismu	Aktivita vody a_w [1]
<i>Aspergillus niger</i>	0,77
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86
<i>Escherichia coli</i>	0,95
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,97
<i>Candida albicans</i>	0,87

Pokud známe vodní aktivitu konkrétního KP, můžeme předvídat rizikové skupiny mikroorganismů, které tento produkt mohou kontaminovat. To je velmi důležité pro navržení vhodného konzervačního systému pro daný KP. Při nízkých hodnotách a_w je možné použít nižší koncentraci konzervačních látek, případně není nutné produkt konzervovat chemicky. [17, 18] Tabulka 3 uvádí příklady některých běžně používaných kosmetických přípravků a jejich vodní aktivitu.

Tabulka 3. Aktivita vody některých kosmetických přípravků [17]

Druh přípravku	Aktivita vody a_w [1]
Šampóny	0,97
Kondicionéry	0,96
Tekutá mýdla	0,91
Krémy na ruce	0,86
Lotiony na ruce	0,91

3.2 Teplota

Dalším důležitým faktorem pro růst mikroorganismů je teplota. U mikroorganismů rozeznáváme tři základní teplotní body:

1. minimální teplota - nejnižší teplota, při níž se daný druh ještě rozmnožuje
2. optimální teplota - teplota, při níž se druh rozmnožuje největší rychlostí
3. maximální teplota - nejvyšší teplota, při které je druh ještě schopen rozmnožování

Stanovit minimální teplotu je poměrně obtížné, neboť klesá rychlost rozmnožování. [20] Se zvyšující se teplotou se zvyšuje rychlost růstu. [21] Minimální teplota je obvykle asi o 30°C nižší než teplota optimální. Naopak maximální teplota je vyšší než optimální teplota nanejvýš o 10°C. Pokud zvýšíme teplotu nad optimální, dochází k prudkému poklesu rozmnožování a při dalším zvyšování může vést až k usmrcení buněk. Důvodem je denaturace enzymů nezbytných pro růst, která je při vyšších teplotách nevratná. [20] Teplotní rozmezí růstu je tedy oblast mezi minimální a maximální teplotou růstu. Teplotní rozmezí růstu je užší u patogenů. [21]

Tyto tři teplotní body se značně liší pro každý druh. Rozdíly jsou způsobeny adaptací mikroorganismů. Maximální teplota růstu prokaryotních organismů se pohybuje v rozmezí 45°C až 70°C, zatímco pro eukaryotní organismy se tato teplota pohybuje v rozmezí 38°C až 55°C. [20]

3.2.1 Význam teploty pro mikrobiální kontaminaci KP

Podle vztahu k teplotě dělíme mikroorganismy do tří skupin:

1. Psychrofilní

Jedná se o mikroorganismy s optimální teplotou růstu nižší než 20°C. Poměrně intenzivně rostou při 0°C až 5°C, kdy je jejich generační doba 48 hodin nebo i méně. Některé plísňe mohou růst ještě i při teplotě -10°C. Do této skupiny se řadí mikroorganismy vyskytující se hojně v půdě a mezi zástupce patří rody *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*.

2. Mezofilní

Mezofilní mikroorganismy mají optimální teplotu růstu nižší než 45°C a minimální teplota pro růst je vyšší než 5°C. Mezofilní bakterie mají většinou optimální teplotu růstu 37°C, plísňe a kvasinky potom 30°C. Do této skupiny patří většina mikroorganismů.

3. Termofilní

Do této skupiny náleží mikroorganismy s optimální teplotou růstu 45°C nebo vyšší. U většiny z nich se optimální teplota pohybuje v rozmezí 50°C až 60°C. Řada těchto mikroorganismů neroste při teplotách okolo 30°C. Mezi zástupce patří rody *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*. [20, 21]

Při výrobě některých kosmetických přípravků vyžaduje technologický proces kroky, které probíhají za vyšších teplot. Takto vyráběné kosmetické přípravky by pak nebyly ohroženy skupinami mikroorganismů psychrofilních či mezofilních, ale spíše mikroorganismy, které by takový tepelný zásah byly schopny přežít. Mezi takové mikroorganismy by pak patřily především ty, které jsou schopny tvorby endospor. [22] Endospory jsou klidová stádia s výrazně vyšší odolností vůči faktorům vnějšího prostředí, než jakou mají vegetativní buňky. Pro spory je charakteristická především značná odolnost k vyšší teplotě, přežijí dokonce i var po dobu jedné hodiny či více. [23]

3.3 pH prostředí

Nepochybně důležitým faktorem pro růst mikroorganismů je pH prostředí, tedy koncentrace vodíkových iontů. Každý druh se rozmnožuje pouze v určitém rozmezí pH. Toto rozmezí se liší pro bakterie, kvasinky a plísňe. [20] Většinou se nejlépe daří v neutrálním prostředí a označujeme je jako neutrofilny. [21] Bakterie jsou citlivější na hodnotu pH než plís-

ně a kvasinky, přičemž nejnáročnější jsou patogenní bakterie. [24] Extrémní pH, ať kyselé nebo zásadité, může usmrtit mikroorganismy.

Některé bakterie mohou růst i v zásadité oblasti. [20] Ty označujeme jako alkalofily. [21] Některé druhy mohou produkovat kyseliny jako hlavní produkty metabolismu a jejich optimální pH je v kyselé oblasti. [20] Tyto patří do poslední skupiny, kterou označujeme jako acidofily. [21] Příliš nízké pH je však může inhibovat, přestávají se rozmnožovat a přestává i metabolická činnost.

Kvasinky vyžadují kyselé prostředí pro růst běžně. Ve slabě zásaditém prostředí přestávají růst. V určitých prostředích si mohou pH upravovat samy k optimální hodnotě.

Plísňe mají optimální pH pro růst v neutrálním prostředí, ale rozmnožovat se mohou v širokém rozmezí pH.

Hodnota pH prostředí ovlivňuje i odolnost ke zvýšeným teplotám. Pokud se pH odchyluje od optimální oblasti, odolnost k vysokým teplotám klesá. Kyselé pH také zabraňuje klíčení spor některých rodů (*Bacillus*, *Clostridium*). [20] V tabulce 4 je uvedena aktivita vody a pH různých kosmetických přípravků a skupiny mikroorganismů, které je mohou kontaminovat. V KP se nebudou vyskytovat žádné mikroorganismy, pokud je aktivita vody nižší než 0,60.

Tabulka 4. Potenciální kontaminanty kosmetických přípravků [25]

Aktivita vody	pH	Mikroorganismus	Kosmetický přípravek
0,98 až 1,00	5 až 9	Většina grampozitivních i gramnegativních	Šampóny a emulze
0,95 až 0,97	5 až 9	Většina grampozitivních i gramnegativních (rod <i>Pseudomonas</i> jen omezeně)	Tekutý make-up a přípravky pro oční okolí
0,92 až 0,95	5 až 9	Některé gramnegativní a většina grampozitivních	Některé lisované pudry
0,90 až 0,92	5 až 9	grampozitivní laktobacily a rod <i>Staphylococcus</i>	Některé tvářenky
0,80 až 0,90	5 až 9	Rod <i>Staphylococcus</i> , plísňe, kvasinky	Rtěnky
0,70 až 0,80	5 až 9	Plísňe, kvasinky	Některé pudry
0,65 až 0,70	5 až 9	Osmotolerantní plísňe	Některé antiperspiranty
0,60 až 0,65	5 až 9	Osmotolerantní a xerofilní plísňe	

4 MIKROFLÓRA KŮŽE

Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.1.3, významným zdrojem mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků jsou pracovníci ve výrobě, případně sám spotřebitel. Mikroorganismy, které se tímto způsobem do KP mohou dostat, jsou převážně ty, které se běžně nacházejí na lidské kůži. Jelikož má mikroflóra kůže zásadní význam pro možnou kontaminaci KP, je jí v této práci věnována samostatná kapitola.

Kůže, sliznice a GI trakt jsou neustále v kontaktu s prostředím a žijí zde bakterie, kvasinky, plísňe i viry. U zdravých jedinců se na kůži a sliznicích nachází menší množství kvasinek a plísní, ale převládají zde bakterie. [26] Za normálních okolností je normální mikroflóra lidí relativně stabilní. [27, 26, 8]

Složení kožní mikroflóry, tedy kvantitativní a kvalitativní zastoupení jednotlivých mikrobiálních druhů, závisí na vlhkosti, pH, dostupnosti živin, přítomnosti nebo nepřítomnosti inhibitorů a imunologické toleranci různých částí těla. [26, 8] Živiny jsou dodávány hlavně sekrecí ekrinních a mazových žláz. Rozmístění mikroorganismů na různých částech těla je dáno požadavky na speciální živiny, přítomností kožních žláz a fyzikálními vlastnostmi různých částí kůže. Všechny tyto faktory mohou vyvolat velké rozdíly ve složení kožní mikroflóry. [28] Aly a Maibach zkoumali aerobní mikroflóru na čtyřech částech lidského těla, konkrétně v oblasti podpaží, třísel, a na konečcích prstů rukou a nohou. Autoři zjišťovali průměrné počty mikroorganismů různých skupin vyskytující se na centimetru čtverečním kůže dané lokality. Na povrchu kůže byly přítomny nelipofilní korynebakterie ($1,3 \cdot 10^7$ KTJ/cm²), lipofilních korynebakterie ($3 \cdot 10^6$ KTJ/cm²), mikrokoky ($1,3 \cdot 10^5$ KTJ/cm²) a *Staphylococcus aureus* ($8,6 \cdot 10^3$ KTJ/cm²). Ze čtyř testovaných lokalit kůže byl největší průměrný počet mikroorganismů v podpaží. Příčinou byla vlhkost dané lokality a tedy lepší dostupnost vody pro mikroorganismy [26]

Mikroorganismy vyskytující se na kůži je možné rozdělit do tří hlavních skupin. Mikroorganismy schopné trvalého výskytu, růstu a množení na povrchu kůže jsou označovány jako rezidentní. Mikroorganismy schopné pouze přechodné a krátkodobé kolonizace s omezenou schopností růstu a množení jsou pak nazývány flórou tranzientní. Tyto dvě skupiny jsou mikroflórou fyziologickou. Třetí skupinou je pak infekční mikroflóra, tedy mikroorganismy patogenní či oportunně patogenní. [8]

4.1 Rezidentní mikroflóra

Rezidentní mikroflóra (stálá mikroflóra) sestává ze stálých mikroorganismů kůže, které lze obvykle nalézt na kůži zdravých jedinců. Nacházejí se hlavně na povrchu kůže a pod povrchovými buňkami *stratum corneum*. Na neporušené kůži nejsou tyto bakterie považovány za patogeny, ale mohou způsobovat infekce ve sterilních částech těla, v očích nebo na porušené kůži (poškrábané, pořezané nebo odřené). [8] Rezidentní mikroorganismy jsou schopny na neporušené kůži přežívat déle než tranzitní přechodné druhy.

Rezidentní mikroflóra je tvořena převážně grampozitivními bakteriemi, které tolerují poměrně nehostinné fyzikální podmínky prostředí kůže. Typickou rezidentní mikroflóru kůže tvoří především rody *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina* nebo *Acinetobacter*. Z kvasinkových mikroorganismů jsou to pak především zástupci rodu *Malassezia* a *Candida*. [29]

Staphylococcus epidermidis je nejvíce zastoupeným druhem rezidentní kožní mikroflóry. Ostatní obvyklé mikroorganismy zahrnují *Staphylococcus hominis* a další koaguláza negativní stafylokoky, následně i koryneformní bakterie (propionibakterie, korynebakterie a dermabakterie) a mikrokoky. Přestože viry obvykle nejsou rezidenty, mohou se množit a vyvolávat patologické změny v epidermis. [8]

4.1.1 Význam rezidentní kožní mikroflóry

Bakterie, kvasinky a plísně mají adaptivní strategie pro přežití, které jim umožňují přežít i v nepříznivých podmínkách. Interakce mezi jedinci a jejich mikroflórou mohou být dynamické a obecně prospěšné. Mikroorganismy přítomné na kůži stimulují imunitní systém, který udržují ve stavu pohotovosti, pro případ kontaktu s potenciálně škodlivými mikroorganismy. Rezidentní mikroorganismy brání kolonizaci jinými bakteriemi a patogeny tím, že soutěží o místo na kůži a základní živiny ve formě mastných kyselin. Dále potom snížením pH prostředí, tvorbou peroxidů a konkrétních bakteriocinů, které brání růstu jiných bakterií. [26, 8]

Ochrana na základě vytvořeného kyselého pláště pokožky a snížení pH povrchu kůže může být dvojsečný meč. Produkty mikrobiálního metabolismu mohou způsobovat větší náchylnost k podráždění při aplikaci produktů s kyselinou mléčnou, parfémy, konzervanty nebo ostatními potenciálně dráždivými chemikáliemi. Problematická jsou především místa vy-

soké hustoty bakterií na kůži, například takzvaná T-zóna, nosoretní rýha a boční strany nosu. [26]

4.2 Tranzientní (přechodná) mikroflóra

Přechodná kožní mikroflóra je tvořena bakteriemi, houbami a viry, které se na kůži vyskytují jen v některých případech, tedy jen po určitou dobu. Přestože se tyto mikroorganismy obvykle na kůži nemnoží, mohou zde přežívat a příležitostně růst, a tím způsobovat různé problémy. [8] Tranzientní flóra se tedy skládá z nepatogenních nebo potenciálně patogenních mikroorganismů, které osidlují kůži na několik hodin, dnů nebo týdnů. Přenáší se bezprostředním kontaktem pokožky s kontaminovanými předměty, dotykem rukou apod. Přechodná kožní mikroflóra je častou příčinou nozokomiálních infekcí, tj. infekcí vzniklých v souvislosti s poskytováním zdravotní péče. K hlavním zástupcům této flóry se řadí zástupci rodu *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Bacillus* nebo *Pseudomonas*, z virových původců jsou to například enteroviry, rotaviry nebo viry hepatitidy A. [29, 30]

4.3 Patogenní a oportunně patogenní mikroflóra

Nákaz projevujících se na kůži je celá řada. Lze je rozdělit na primární kožní infekce, sekundární infekce kožních lézí a systémová onemocnění s kožními projevy. Mezi nejdůležitější bakteriální původce kožních onemocnění patří *Staphylococcus aureus* nebo beta-hemolytické streptokoky (*Streptococcus pyogenes*), které jsou často izolovány z abscesů, zánětů nehtového lůžka nebo infekčních ekzémů. [8]

4.3.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus je převládajícím zástupcem kožní mikroflóry a u většiny lidí jej lze nalézt na celém povrchu těla (kůže, nos, ústa, hltan, střevo). *S. aureus* patří mezi nejúspěšnější lidské patogeny, přibližně u třetiny lidí však žije jako komenzál na kůži. Při narušení přirozené odolnosti se projevuje patogenně, proniká do tkání a vyvolává široké spektrum onemocnění od pyodermií až po závažné záněty vnitřních orgánů a sepse. Příznaky dalších onemocnění jsou vyvolány působením stafylokokových toxinů, jedná se o Ritterův syndrom, syndrom toxického šoku či stafylokoková enterotoxikóza. *Staphylococcus aureus* je nejčastější grampozitivní bakterií, která způsobuje nemocniční infekce. Primárním místem infekce je poškozená kožní bariéra, což vede ke kožním infekcím. Nicméně, *S. aureus* může infikovat

jakoukoliv tkáň těla a způsobit tak život ohrožující onemocnění (zápal plic, sepse, syndrom toxického šoku). [32, 8]

4.3.2 Koaguláza negativní stafylokoky

Existuje více než 30 druhů rodu *Staphylococcus*. Asi polovina z nich je původem lidská. Mezi koaguláza negativní druhy patří *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularis*, *S. caprae*, *S. lugdunensis* a *S. schleiferi*. Jsou to nejčastěji izolované bakterie z kůže a sliznic. Tyto bakterie s námi obvykle žijí v symbióze. Koaguláza negativní stafylokoky byly po dlouhou dobu považovány za nepatogenní, ale v současné době jsou považovány za oportunní patogeny, které mohou u oslabeného jedince vyvolat záněty pobřišnice a prostaty, infekce cévních štěpů, katétrů a močových cest. [33, 8]

4.3.3 Koryneformní bakterie

Dříve byl pro tyto bakterie používán termín diphtheroidy. Patří sem grampozitivní tyčky, které se pod mikroskopem podobají *Corynebacterium diphtheriae*. Skupina koryneformních bakterií zahrnuje rozmanité rody: *Actinomyces*, *Arachnia*, *Arcanobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacterionema*, *Bifidobacterium*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, *Erysipelothrix*, *Eubacterium*, *Jensenia*, *Kurthia*, *Listeria*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Oerskovia*, *Propionibacterium*, *Rodococcus* a *Rothia*. Identifikace těchto bakterií je však obtížná. Rostou na krevním agaru jako velmi malé šedé nebo bílé kolonie bez hemolýzy, ale mohou být snadno přerosteny jinými bakteriemi běžně se vyskytujícími na kůži (stafylokoky). Korynebakterie byly identifikovány jako možná příčina vážných infekcí u imonokompromitovaných hostitelů. Unikátní vlastnost těchto bakterií je jejich odolnost vůči téměř všem antibiotikům, kromě vankomycinu. [8]

4.3.4 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes (streptokok skupiny A) je grampozitivní extracelulární patogen. Tyto bakterie kolonizují krk a kůži a jsou zodpovědné za hnisavé infekce a nehnisavé následky (akutní revmatické horečky, akutní glomerulární nefritidy a artritidy). Pyogenní infekce způsobené streptokoky skupiny A postihují kůži, sliznice, mandle a hlubší tkáň. Způsobují impetigo/pyodermie, streptokokový syndrom toxického šoku, spálu nebo otravu krve. Infekce mohou být mírné až extrémně těžké a často mají fatální následky. [8]

5 MIKROORGANIZMY KONTAMINUJÍCÍ KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY

Mikroorganismy hrají významnou roli ve všech světových ekosystémech. Jsou všude přítomné a někdy jsou považovány za nezbytné pro chod planety. [25] Žijeme obklopeni dynamicky se měnící populací mikroorganismů. [33] V důsledku toho je nacházíme i tam, kde jsou nežádoucí, tedy i v prostředí výroby kosmetiky a léčiv. Mikroorganismy jsou velice rozmanitou skupinou, schopnou přizpůsobovat se i těm nejnáročnějším podmínkám prostředí. Díky tomu je velmi obtížné udržovat je pod kontrolou. [25]

Kosmetické přípravky mohou být kontaminovány především bakteriemi, ale také mikroorganismy s eukaryotickým typem buňky, tedy mikroskopickými houbami. V tabulce 5 jsou uvedeny skupiny i konkrétní druhy mikroorganismů, které byly izolovány z různých typů kosmetických přípravků. V dalším textu jsou pak blíže charakterizovány nejčastější mikrobiální kontaminanty kosmetiky.

Tabulka 5. Mikroorganismy izolované z kosmetických přípravků [34]

Typ produktu	Izolovaný mikroorganismus
Šampón	<i>Pseudomonas</i> spp., <i>E. coli</i>
Vlasový kondicionér	<i>S. aureus</i> , kvasinky, koaguláza negativní <i>Staphylococci</i>
Gel na vlasy	<i>S. aureus</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Serratia</i> spp.
Vlasová emulze	Kvasinky, <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Alcaligenes</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.
Tělové mléko	<i>Bacillus</i> spp., koaguláza negativní <i>Staphylococci</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.,
Krém na ruce a tělo	<i>Bacillus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., koaguláza negativní <i>Staphylococci</i> , <i>Micrococcus</i> spp.,

5.1 Bakterie

Bakterie jsou prokaryotické jednobuněčné organizmy, jejichž jádro není od okolní cytoplazmy odděleno membránou. Bakteriální buňka neobsahuje mitochondrie, endoplazmatické retikulum ani jiné organely a ribozomy jsou volně rozptýleny v cytoplazmě. [33] Vzhledem k tomu, že jsou bakterie tak jednoduché, bylo by logické, že mají jednoduchý i

tvár. Většina z nich má tvar tyčinek nebo sférických koků. Nicméně mohou zaujímat i množství jiných tvarů jako třeba spirily, spirochety nebo vibria. Bakterie jsou menší než většina eukaryot. Některé mohou mít velikost okolo 100 nm, jiné mohou být od 60 do 800 μm velké. [25] Buněčná stěna je převážně tvořena peptidoglykanem. Podle typu buněčné stěny lze bakterie dělit na grampozitivní a gramnegativní. Typ buněčné stěny do značné míry podmiňuje další vlastnosti bakteriálních druhů, například jejich odolnost vůči podmínkám prostředí či antimikrobiálním látkám. [33]

5.1.1 Gramnegativní bakterie kontaminující KP

Rod *Pseudomonas*

Jsou to gramnegativní rovné tyčky. K pohybu využívají jeden nebo několik bičíků. [33] Metabolismus bakterií rodu *Pseudomonas* je aerobní, využívají kyslík jako konečný akceptor elektronů. Výjimečně mohou využívat i dusík. [25, 33] Využívají citrátový cyklus (cyklus trikarboxylových kyselin) pro oxidaci substrátu na oxid uhličitý. Většinu hexóz degradují Entner-Doudoroffovou dráhou spíše než glykolýzou. Pseudomonády jsou všudypřítomné a můžeme je najít v různorodých prostředích. Jsou nutričně nenáročné a všestranné při adaptaci. Rychle se adaptují při jakékoliv expozici toxickým chemikáliím včetně biocidů. [25]

Pseudomonády infikují rány a popáleniny, způsobují zápal plic i pacientů se sníženou imunitou. Jejich přítomnost v kosmetických přípravcích způsobuje oční infekce a mohou způsobit i ztrátu zraku. Pokud jsou nalezeny ve výrobě kosmetických přípravků, je původcem nejčastěji nekontrolovaný vodovodní systém a biofilmy na vybavení. Důvodem znečištění může být i nedostatečná frekvence sanitace nebo špatně provedená sanitace, slepá ramena systému a ostatní místa, kde může docházet ke stání výrobku. Nejrozšířenějšími mikroorganismy tohoto rodu jsou *Pseudomonas aeruginosa* (obrázek 1), *Pseudomonas maltophilia* a *Pseudomonas paucimobilus*. [25]

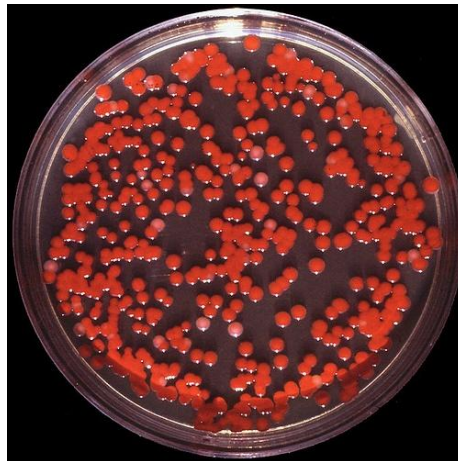


Obrázek 1 *Pseudomonas aeruginosa* [35]

Rod *Serratia*

Jsou to gramnegativní rovné tyčky. Pohybují se pomocí peritrichálních bičičků. Jsou fakultativně anaerobní. Nejčastěji se vyskytují v půdě, vodě a na povrchu rostlin. [33] Rod je řazen do čeledi *Enterobacteriaceae* (stejně jako rody *Escherichia*, *Enterobacter* a *Proteus*). Stejně jako většina zástupců této čeledi, rod *Serratia* rozkládá cukry pomocí glykolýzy na pyruvát, který využívá jako terminální akceptor elektronů. Rod *Serratia* dále redukuje pyruvát na butandiol, ethanol a oxid uhličitý. Jedná se o organismus, který obvykle není považován za patogenní, protože infekce způsobuje vzácně. [25] *Serratia marcescens* (obrázek 2) způsobuje septikemie a infekce močových cest u hospitalizovaných pacientů. [33]

Bylo zjištěno, že rod *Serratia* kontaminuje dezinfekční prostředky a povrchově aktivní látky. Pokud jsou tyto mikroorganismy nalezeny v kosmetickém výrobním prostředí, jako možné zdroje kontaminace se nejprve uvažují místa, kde dochází ke stání produktu v systému (slepá ramena) nebo může být příčina ve špatné frekvenci sanitace nebo v technice. [25]

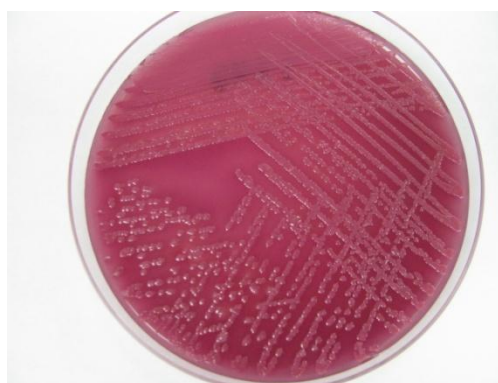


Obrázek 2 *Serratia marcescens*
[36]

Rod *Escherichia*

Jsou to gramnegativní rovné tyčky. Mohou být pohyblivé i nepohyblivé a jsou fakultativně anaerobní. [33] Fermentací produkují směs kyselin jako laktát, acetát, sukcinát a buď formiát nebo vodík, oxid uhličitý a etanol. [25] U teplokrevných živočichů se vyskytují v koncové části střeva jako normální mikroflóra. Některé kmeny *E. coli* (obrázek 3) produkují enterotoxiny. Mohou způsobovat průjemy a infekce močových cest. [33, 25]

Obvykle lze tento organizmus nalézt ve vodovodních systémech, které jsou starší nebo ve kterých je značný biofilm (koroze). Je to přirozeně se vyskytující organizmus, který je považován za indikátor fekální kontaminace. Přesto jeho přítomnost ve starších rozvodech vody nemusí nutně znamenat přítomnost výkalů ve vodě. [25]



Obrázek 3 *Escherichia coli* [37]

Rod *Enterobacter*

Jsou to gramnegativní rovné tyčky. Jsou pohyblivé pomocí peritrichálních bičků. Jejich metabolismus je fakultativně anaerobní. [33] *Enterobacter*, stejně jako *Serratia* a *Klebsiella*, produkuje butandiol, ethanol a oxid uhličitý. [25] Jsou to druhé druhově nejpočetnější enterobakterie. Některé druhy mohou být patogenní. [33] Nalézají se v půdě a často napadají rostlinné tkáně, což způsobuje různé nekrózy. Nejsou obecně považovány za lidské patogeny, pokud se nevyskytují přímo v krevním oběhu. Mohou být izolovány z kontaminovaných povrchově aktivních látek a zejména kondicionérů obsahujících kvartérní sloučeniny. Jsou také typickým kontaminantem v domácnostech a mohou růst ve špatně konzervovaných výrobcích. Mezi nejvýznamnější a nejčastější druhy kontaminující kosmetické přípravky patří *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter gergoviae* a *Enterobacter cloacae* (obrázek 4). [25]



Obrázek 4 *Enterobacter cloacae* [38]

Rod *Klebsiella*

Jsou to gramnegativní rovné tyčky. Mají opouzdřené buňky. Na rozdíl od mnoha enterobakterií jsou nepohyblivé. Jsou fakultativně anaerobní a většina z nich využívá citrát a glukózu. [33] Tyto organizmy jsou v životním prostředí velmi rozšířené. Některé jsou lidskými patogeny, zatímco některé druhy jsou symbiotické. Nalézají se v půdě a ve vodě a jsou rostlinnými patogeny. *Klebsiella pneumoniae* (obrázek 5) způsobuje těžký zápal plic u lidí, kteří jsou oslabení ať už fyzicky nebo v důsledku nadměrné konzumace alkoholu. *Klebsiella* se běžně vyskytuje v domácnostech a kontaminuje kosmetiku při běžném používání spotřebitelů. [25]

Obrázek 5 *Klebsiella pneumoniae* [39]

Rod *Proteus*

Jsou to gramnegativní rovné tyčky. Pohybují se pomocí peritrichálních bičičků. Jsou fakultativně anaerobní. [33] Produkují plynný sirovodík a rozkládají močovinu na amoniak a oxid uhličitý. *Proteus* se obvykle nachází v zažívacím traktu člověka a zvířat a nachází se v oblastech kontaminovaných výkaly. *Proteus* je spojován s infekcí močových cest, avšak může způsobovat hnisavé infekce na ostatních částech těla, pokud se tam náhodou dostane (infekce ran). Přítomnost v kosmetice by znamenala buď kontaminaci suroviny, jako je povrchově aktivní látka, nebo použití vody s vysokým stupněm znečištění. [25] Na obrázku 6 je *Proteus mirabilis*.

Obrázek 6 *Proteus mirabilis* [40]

5.1.2 Grampozitivní bakterie kontaminující KP

Rod *Staphylococcus*

Stafylokoky jsou grampozitivní mikroorganismy. Mají nepohyblivé, nesporující sférické buňky. Jsou fakultativně anaerobní. Jsou všudypřítomné a vyskytují se zejména na kůži a sliznici teplokrevných obratlovců. Některé druhy jsou patogenní a produkují extracelulární toxiny. Za patogenní jsou obecně považovány koaguláza pozitivní druhy, koaguláza negativní druhy jsou podmíněnými patogeny. [33] Některé druhy (*S. aureus*) způsobují vředy a podílejí se na vzniku impetiga, způsobují zánět spojivek a mohou způsobit otravu jídlem. Charakteristickým rysem stafylokokových infekcí je sklon k tvorbě ohraničených zánětlivých ložisek (abscesů). Asi nejčastější jsou hnisavá onemocnění kůže obecně označovaná jako pyodermie. Z nich jsou nejčastější impetigo, folikulitida a furunkl. Při kultivaci na krevním agaru, *S. aureus* (obrázek 7) produkuje jasnou zónu hemolýzy známé jako beta-hemolýza. Důvod této hemolýzy je produkce toxinu, který lyzuje červené krvinky. Úloha hemolysinu v onemocnění není zcela známa. Stafylokoky také produkují celou řadu enzymů jako hyaluronidáza, proteinázy, lipázy, koagulázy a penicilinázy. Jeho přítomnost v kosmetických přípravcích indikuje lidskou kontaminaci. [31; 25]



Obrázek 7 *Staphylococcus aureus* [41]

Rod *Streptococcus*

Streptokoky jsou grampozitivní nepohyblivé koky. Jsou fakultativně anaerobní a netvoří spory. Rozkládají červené krvinky buď do nazelenalé barvy (alfahemolýza) nebo do úplného projasnění (betahemolýza). Pro člověka jsou některé druhy vysoce patogenní. [33] Mohou způsobovat infekce poranění a mohou způsobit otravu krve po porodu (puerperální

sepe). Přirozený rezervoár je v krku bacilonosičů, většinou dětí. Mohou způsobovat spálu a revmatické horečky.

Streptococcus spp. v kosmetických přípravcích je vzácný. Jeho přítomnost v kosmetických přípravcích by mohla být důsledkem nedostatku správných hygienických postupů ze strany zaměstnanců, kteří se dotkli výrobku nebo obalu. [25] Na obrázku 8 je *Streptococcus pyogenes*.



Obrázek 8 *Streptococcus pyogenes* [42]

Rod *Bacillus*

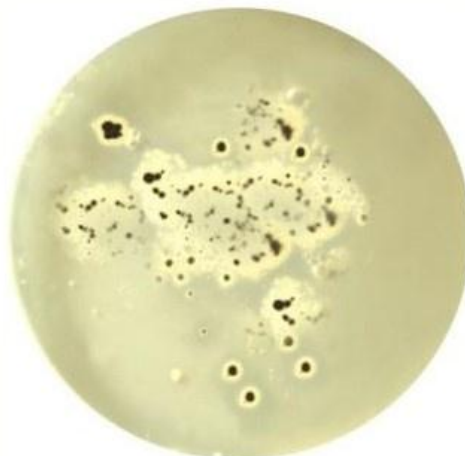
Bakterie rodu *Bacillus* jsou grampozitivní rovné tyčky, které se pohybují pomocí peritrichálních bičičků. Tvoří velmi rezistentní endospory. Jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní. Některé druhy jsou patogenní. [33] Mezi patogenní druhy patří *Bacillus anthracis* a *Bacillus cereus* (obrázek 9). Mikroorganismy rodu *Bacillus* jsou rozšířeny ve všech lokalitách na Zemi. Žijí primárně v půdě a kladou různé požadavky na výživu, ale nejsou náročné. V kosmetickém průmyslu mohou být některé z běžných surovin kontaminovány spory *Bacillus*. Mezi ně patří gel aloe vera a řada tixotropních činidel (kvarternizované jíly). Pasterizace gelu aloe vera neeliminuje *Bacillus*, protože nedochází ke zničení spor. Místo toho je nutná tyndalizace, kde je topný postup opakován ve třech po sobě jdoucích dnech, aby spory vyklíčily a staly se citlivé ke zvýšeným teplotám. [25]

Obrázek 9 *Bacillus cereus* [43]

Rod *Clostridium*

Jsou to grampozitivní pleomorfní tyčky. Většinou se pohybují pomocí peritrichálních bičíků. Tvoří endospory. Jejich metabolismus je obligátně anaerobní, i když některé druhy mohou vykazovat toleranci ke kyslíku. Produkují směs organických kyselin a alkoholů. [33] Často se vyskytují v odpadní vodě, na vegetaci a dokonce i jako symbiotické organismy na lidech. Nejsou běžně přenosné, ale může docházet k infekci, když jsou zavedeny do těla vpichem, ranami nebo jinými poraněními kůže, které se mohou dostat do styku s půdou obsahující spory. Infekce ran, především z *Clostridium perfringens* (obrázek 10), *Clostridium novyi* a *Clostridium septicum*, mohou vést ke vzniku plynaté sněti. Vzhledem k tomu, že *Clostridia* nejsou vysoce invazivní, obvykle získávají přístup k tělu přes mrtvé nebo poškozené tkáně, které poskytují ideální anaerobní prostředí obohacené o růstové faktory. Dochází k rychlému vegetativnímu růstu a produkci exotoxinů a různých enzymů. Uvolněné toxiny způsobují rozsáhlé destrukce tkáně. Vzhledem k tomu, že organismus fermentuje sacharidy v tkáních, dochází k tvorbě plynu.

Hlavními druhy, které způsobují problémy, jsou *C. perfringens* a *C. tetani*, protože představují potenciální zdroj špíny v produktu (z půdy). Pokud je produkt znečištěn těmito mikroorganismy, mohl by být také považován za potenciální hrozbu pro zdraví spotřebitele, pokud by byl použit takovým způsobem, že by došlo k infekci. Klasickým příkladem mohou být produkty spojené s holením a aplikováním na kůži (holící krémy, vody po holení a parfémy, pleťové vody, antiperspiranty a deodoranty). [25]



Obrázek 10 *Clostridium perfringens*
[44]

5.2 Mikroskopické houby

Jako mikroskopické houby jsou označovány eukaryotické mikroorganismy náležící do dvou skupin, kvasinky a vláknité mikroskopické houby (plísně). V malém množství produktů, kde je omezené množství vody a nízké pH, jsou houby typickými kontaminanty. Mnohé z těchto produktů jsou lotiony a krémy.

Mikroskopické houby mají eukaryotický typ buňky, což znamená, že obsahují organelly oddělené membránami a to zejména na membránu vázané jádro, ve kterém je DNA. Mezi ostatní membránové organelly patří mitochondrie, Golgiho aparát, endoplazmatické retikulum, lysozom a jadérko. [25]

Většina hub není patogenních; jsou to saprofyty a pro své množení nepotřebují hostitele. Jedná se spíše o oportunní patogeny, které vyžadují správnou kombinaci náhodné expozice a oslabené imunity pro infekci. [25]

Nejčastější kontaminanty kosmetiky ze skupiny mikroskopických hub jsou plísně rodu *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus* nebo *Mucor*, z kvasinek pak především rody *Candida* a *Saccharomyces*. [9]

Nežádoucí je například kontaminace KP plísni rodu *Fusarium*, a to především v produktech, které jsou používány v oblasti očí. Byly zaznamenány infekce rohovky spojené s používáním kontaminované maskary. [9] Potenciální nebezpeční představují i toxinogenní

plísň. Aflatoxiny, které produkuje rod *Aspergillus*, jsou hrozbou v produktech, které by mohly být pozřeny, ale bývají izolovány i z různých typů kosmetických přípravků. [25]

Další plísň kontaminující KP je rod *Cladosporium*. Ke kontaminaci touto plísň dochází nejčastěji až během užívání výrobku konečným spotřebitelem, zejména pokud je přípravek skladován v koupelně, tedy prostoru s vysokou vzdušnou vlhkostí. Rody plísň *Absidia*, *Rhizopus* a *Mucor* mohou způsobit mucormykózu, která je obvykle způsobena kontaminací kosmetiky prachem a půdou. Je zřejmé, že fungicidní konzervační látky jsou pro kontrolu důležité. [25]

Kvasinky jsou velmi častým kontaminantem vlasové kosmetiky, především různých typů kondicionérů nebo výživných a regeneračních emulzí. Příčinou je nízké pH těchto produktů, které je nutné pro kvartérní amoniové sloučeniny a jejich kondičiační působení. [34]

6 KONZERVACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ

Kosmetické přípravky pro osobní péči jsou velmi sofistikované a mají různorodé složení. Často zahrnují širokou škálu přírodních a syntetických přísad, které jsou používány za účelem uspokojení estetických přání spotřebitelů. Tyto složky mají nějaké pH, vlhkost a nutriční podmínky, které podporují růst mikroorganismů. Díky této potenciální náchylnosti obsahuje mnoho kosmetických přípravků chemické konzervační látky, aby se zabránilo jejich znehodnocení. [28]

Čistota výroby a konzervace by se měly navzájem doplňovat. Nikdy by se neměla používat konzervace k maskování nehygienické výroby. Konzervace je především způsob, jak ochránit spotřebitele při použití kosmetického přípravku. Kromě toho pomáhá konzervace prodloužit trvanlivost výrobku. [11]

Kosmetické přípravky nemusí být úplně sterilní, ale musí být bez patogenů a úroveň nepatogenních mikroorganismů musí být nízká. Každý kosmetický přípravek a speciálně kosmetické přípravky pro oční okolí, musí být během vývoje testovány pro vhodnost konzervace. Většina výrobců a mikrobiologů ví, že provádění testů poskytne představu, zda je produkt správně konzervován. To platí pro emulze o/v a pro systémy, kde je voda kontinuální fází. [26] Cílem konzervace je chránit všechny aspekty výrobku proti mikrobiálnímu napadení před a během použití spotřebiteli. Musí být zachována integrita produktů, pokud jde o jejich účinnost, vůni, vzhled a stabilitu. [1] Nejpodstatnějším následkem mikrobiální kontaminace v kosmetických přípravcích je ohrožení zdraví spotřebitelů. Výrobci vyvíjí značné úsilí, aby zajistili účinnou ochranu před kontaminací, a obvykle jsou úspěšní. Incidentsy ohrožující zdraví při používání kosmetických přípravků jsou velmi vzácné. [25]

6.1 Konzervační látky v kosmetických přípravcích

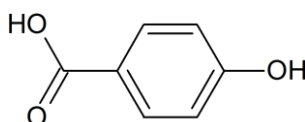
Kosmetický průmysl využívá celou řadu konzervačních látek, které brání růstu a množení nežádoucích mikroorganismů. Při výběru konkrétních látek je třeba vzít v úvahu vlastnosti výrobku, jejich složení, pH, vodní aktivitu, proces výroby, obalové materiály a další faktory. Zároveň je nutné zvážit, jaké skupiny mikroorganismů mohou daný výrobek kontaminovat, a zvolit konzervační látky s vhodným antimikrobiálním spektrem účinnosti. Lze říci, že ideální konzervační látka, která by splňovala všechny požadavky výrobce, neexistuje. Proto je konkrétní výrobek většinou konzervován směsí konzervačních látek, jejichž vlastnosti se vzájemně vhodně doplňují. Charakteristiky ideální konzervační látky jsou:

1. Měla by mít široké spektrum aktivity. Ideální konzervační látka by byla účinná proti všem druhům mikroorganismů tak, aby mohla být použita jako jediná konzervační látka v přípravku.
2. Měla by být efektivní v celém rozmezí hodnot pH použitých v kosmetických a lékových formách a měla by být stabilní po celou dobu trvanlivosti.
3. Měla by být kompatibilní s ostatními složkami v prostředí a s obalovými materiály.
4. Neměla by mít vliv na fyzikální vlastnosti výrobku (barvu, čírost, chuť, zápach, viskozitu, texturu).
5. Je třeba zajistit, že účinná koncentrace konzervační látky zůstává ve vodné fázi. Biochemické reakce se uskutečňují ve vodném systému nebo na rozhraní o/v systému, takže je nutné mít k dispozici účinnou koncentraci ve vodné fázi produktu.
6. Je třeba deaktivovat mikroorganismy dostatečně rychle, aby se zabránilo adaptaci mikroorganismů.
7. Měla by být bezpečná. To zahrnuje manipulaci s konzervační chemickou látkou ve výrobních provozech, stejně jako spotřebitelské použití konečného produktu. Bezpečné použití také znamená, že je netoxická, nedráždivá a nesenzibilizující a nemá nepříznivou teratogenní nebo endokrinní činnost.
8. Měla by být v souladu s právními předpisy.
9. Použití by mělo být nákladově efektivní. [8]

V dalším textu jsou blíže charakterizovány konzervační látky, které jsou do kosmetických přípravků přidávány nejčastěji.

6.1.1 Parabeny

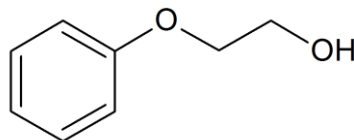
Parabeny jsou estery p-hydroxybenzoové kyseliny. Patří mezi nejpoužívanější konzervační přísady v kosmetických přípravcích. Nejčastěji se využívají methylparaben, propylparaben a butylparaben, které jsou součástí formulace buď samostatně, nebo v kombinaci. Jsou aktivní v širokém rozmezí pH (3 a 9,5). Mechanismem působení je narušení integrity cytoplazmatické membrány. Následkem je potom vytékání intracelulárního obsahu buňky. [25] Jsou účinné proti houbám a grampozitivním bakteriím, ale jsou málo účinné proti gramnegativním bakteriím. [17] Vzorec parabenu je na obrázku 1, za R můžeme dosadit methyl, propyl nebo butyl.



Obrázek 11 Obecný vzorec parabenu

6.1.2 Alkoholy

Pouze několik druhů alkoholů je použitelných jako konzervační přísady v kosmetických prostředcích. Mezi ty nepoužívanější patří fenoxylethanol a benzylalkohol.[25] Optimální pH pro použití fenoxylethanolu je velmi široké u benzylalkoholu je nad 5. Fenoxylethanol je kompatibilní s anionickými a kationickými tensidy. [25] Fenoxylethanol působí zejména na gramnegativní bakterie. Benzylalkohol je účinný proti grampozitivním bakteriím, má omezenou aktivitu vůči gramnegativním bakteriím a kvasinkám a má špatnou účinnost proti plísním. [18]Vzorec fenoxylethanolu je na obrázku 3. Mechanismus působení těchto alkoholů je narušení membrány solubilizací lipidů a případně i denaturací proteinů. [25]

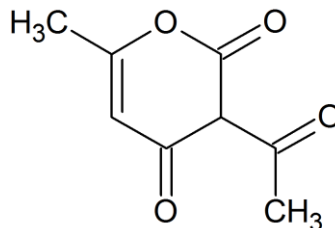


Obrázek 12 Chemický vzorec fenoxylethanolu

6.1.3 Organické kyseliny a jejich soli

Nejpoužívanějšími zástupci této skupiny konzervačních látek jsou kyselina benzoová a její sodná sůl, kyselina sorbová a její draselná sůl a kyselina dehydrooctová a její sodná sůl. Soli jsou často upřednostňovány z důvodu větší rozpustnosti. [25] Kyselina benzoová působí nejlépe v kyselém prostředí, má optimální pH od 2 do 5. Její aktivita klesá v přítomnosti proteinů a glycerolu a je nekompatibilní s neionickými tensidy a kvartérními sloučeninami. [25] Kyselina benzoová je nejvíce účinná proti houbám, ale má určitou aktivitu i proti bakteriím. [17] Kyselina dehydrooctová má optimální pH od 5 do 6,5 a se zvyšujícím pH se její aktivita snižuje. [25] Je neúčinnější proti houbám, má i malou antimikrobiální aktivitu, ale je naprosto neúčinná proti rodu *Pseudomonas*. [17] Její vzorec je na obrázku 5. Optimální pH kyseliny sorbové je pod 6,5. Není kompatibilní s neionickými tensidy. [25] Kyselina sorbová je účinná proti plísním, méně účinná proti kvasinkám a má velmi špatný

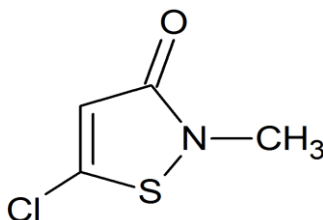
účinek proti většině bakterií. Mechanismus působení těchto kyselin je narušení elektrického potenciálu buněčné membrány disociací protonů sloučenin v cytoplazmě buňky. Také mohou denaturovat proteiny. [25]



Obrázek 13 Chemický vzorec
kyseliny dehydrooctové

6.1.4 Sloučeniny isothiazolinonu

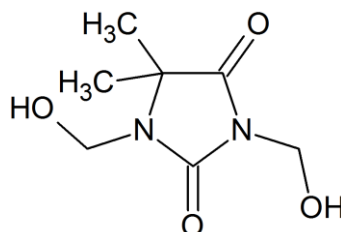
Sloučeniny izothiazolinonu jsou zejména v posledním desetiletí hojně používány jako konzervační přísady v kosmetických přípravcích. V mnoha aplikacích poskytují odpovídající ochranu při velmi nízkých koncentracích. Tento faktor v kombinaci s účinností proti širokému spektru mikroorganismů, je zodpovědný za jejich široké využití. Směs chlormethylisothiazolinonu (CMIT) a methylisothiazolinone (MIT) se prodává jako Kathon CG pro konzervaci kosmetických prostředků. Optimální pH pro tyto sloučeniny je od 4 do 8 a jejich stabilita se snižuje v systémech s alkalickým pH. Jsou kompatibilní s anionickými, kationickými i neionickými tenzidy a emulgátory. Isothiazolinony inhibují aktivní transport a oxidaci glukózy reakcí s thiolovými skupinami buněčných proteinů a denaturují je. [25] Chlormethylisothiazolinon má výbornou účinnost proti všem mikroorganismům, zatímco methylisothiazolinon je účinný proti bakteriím a má malou účinnost proti houbám. [17] Na obrázku 6 je vzorec chlormethylisothiazolinonu.



Obrázek 14 Chemický
vzorec CMIT

6.1.5 Donory formaldehydu

Použití formaldehydu jako antimikrobiálního činidla má dlouhou historii. Vodné roztoky formaldehydu jsou dnes využívány jen zřídka jako kosmetické konzervační látky. Místo toho se používají organické sloučeniny, které se postupně hydrolyzují ve vodných produktech, čímž se získá antimikrobiálních množství formaldehydu. Mezi nejvíce používané formaldehydové donory se řadí dimethyloldimethyl hydantoin (DMDM hydantoin), deriváty imidazolidinyl močoviny, polymethoxylované cyklické oxazolidiny a Quaternium 15. Tyto sloučeniny se liší v množství formaldehydu uvolněného do roztoku. DMDM hydantoin má optimální pH od 3,5 do 10,0. Je kompatibilní s anionickými, kationickými, neionickými a proteiny. [25] Je účinný proti bakteriím, ale málo účinný proti houbám [17] Vzorec je na obrázku 7. Imidazolidinyl urea má široký rozsah optimálního pH. Je kompatibilní s ionickými i neionickými sloučeninami a proteiny. [25] Imidazolidinyl urea je účinná proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím a málo účinná proti houbám. [17] Optimální pH použití dimethyl oxazolidinu je od 6,0 do 11,0. Je kompatibilní s anionickými, kationickými a neionickými systémy v rozsahu optimálního pH. Quaternium 15 je kvartérní adamantan. Optimální pH použití je od 4,0 do 10,0. Je kompatibilní s anionickými, kationickými a neionickými sloučeninami a proteiny. [25] Quaternium 15 má největší účinek proti gramnegativním bakteriím, ale má malý účinek proti houbám. [17] Formaldehyd uvolňovaný z těchto sloučenin alkyluje aminoskupiny a sulfhydrylové skupiny aminokyselin, stejně jako purinové báze, což vede k denaturaci proteinů a DNA. [25]



Obrázek 15 Chemický vzorec DMDM hydantoinu

6.1.6 Sloučeniny bromu

Bromované sloučeniny, jako je 2-brom-2-nitropropan-1,3-diol (Bronopol) a 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxan (Bronidox) jsou účinné proti bakteriím a plísním již v nízkých koncentracích. Antimikrobiální aktivita spočívá ve skupině Br-C-NO₂. [25] Optimální pH použití

Bronopolu je od 5,0 do 7,0. Není ovlivněn anionickými, kationickými a neionickými tenzidy ani proteiny. Denaturuje proteiny tvorbou disulfidových vazeb s thiolovými skupinami. [25] Bronopol je nejúčinnější proti bakteriím a méně účinný proti houbám. [17] Bronidox má optimální pH použití stejné jako Bronopol. Je kompatibilní neionickými sloučeninami. [25] Bronidox je účinný proti všem mikroorganismům, zejména proti houbám. [17] Tyto sloučeniny bromu mění thiolové skupiny proteinů na disulfidy, což vede k denuraci proteinů se sulfhydrylovými skupinami v aktivních místech. [25]

ZÁVĚR

Mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků je jedním z největších problémů při výrobě, ať už se jedná o kontaminaci způsobenou surovinami, výrobním prostředím nebo lidským faktorem. Přípravek nemusí být sterilní, ale přítomné mikroorganismy musí být v takovém počtu, formě nebo složení, které neohrozí přípravek ani spotřebitele. Některé skupiny mikroorganismů jsou nebezpečnější než jiné a při výskytu v kosmetických přípravcích mohou znamenat vážné riziko pro spotřebitele. Mezi tyto nebezpečné mikroorganismy patří především *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* a *Pseudomonas aeruginosa*. Tyto mikroorganismy se v kosmetických přípravcích nesmí vyskytovat vůbec. Zvláště důležitá je čistota u kosmetických přípravků pro oční okolí a u přípravků používaných při holení. Je tedy potřebné zavést a dodržovat opatření, která snižují riziko mikrobiální kontaminace v průběhu výroby. Jedná se především o čistotu vstupních surovin a vody a dodržování Správné výrobní praxe.

Z výše uvedených důvodů je také důležitá správná konzervace kosmetických přípravků. Seznam konzervačních látek, které jsou povoleny pro použití v kosmetických přípravcích, je uveden v Nařízení 1223/2009 v Příloze V. Je zde uvedena také maximální povolená koncentrace a druhy kosmetických přípravků, ve kterých se mohou jednotlivé látky používat. Mezi často používané konzervační látky patří parabeny, které mají širokou škálu působnosti proti mikroorganismům a jsou účinné již v nízkých koncentracích. V poslední době se však objevily pochybnosti o zdravotní nezávadnosti parabenů a spotřebitelé vyhledávají kosmetické přípravky, které parabeny neobsahují. Je prokázáno, že jsou parabeny neškodné v koncentraci, ve které jsou v daném přípravku použity. Není však zjištěno, zda jsou stejně nezávadné, i pokud spotřebitel používá více druhů přípravků s parabeny.

U některých kosmetických přípravků je riziko mikrobiální kontaminace výrazně sníženo. Jedná se o přípravky s nízkou aktivitou vody, příliš nízkým nebo příliš vysokým pH, přípravky s vysokým obsahem alkoholů nebo s vysokým osmotickým tlakem. U některých kosmetických přípravků se může snížit i riziko kontaminace během používání spotřebitelem. Toho lze docílit výběrem vhodného obalu tak, aby se co nejvíce omezil přímý kontakt mezi přípravkem v obalu a spotřebitelem (dávkovače, pumpičky). Tyto metody však není možné použít u všech druhů kosmetických přípravků, proto není doporučeno používat kosmetické přípravky déle, než je uvedeno na obalu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] AREL, André O, Howard I MAIBACH a Marc PAYE. *Handbook of cosmetic science and technology*. New York: Marcel Dekker, 2001, xvi, 886 s. ISBN 0-8247-0292-1.
- [2] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009, ze dne 30. listopadu 2009, o kosmetických přípravcích. Sbirka zákonů.
- [3] KREJČÍ, Jiří. Kosmetika a kosmetologie. In: *Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a detergentů: Fakulta technologická UTB ve Zlíně* [online]. 2013[cit. 2016-05-13]. Dostupné z: <http://kosmetika.ft.utb.cz/EntityDisplayTab.aspx?id=19>
- [4] Borderline products [online]. [cit. 2016-05-03]. Dostupné z: http://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/products/borderline-products/index_en.htm
- [5] SEIDEL, Arza, Raymond E. KIRK a Donald F. OTHMER. *Kirk-Othmer chemical technology of cosmetics*. Hoboken, New Jersey: Wiley, c2013. ISBN 9781118406922.
- [6] Požadavky pro uvádění do oběhu [online]. [cit. 2016-05-13]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/bezpecnost-potravin/pozadavky-pro-uvadeni-do-obehu>
- [7] Provděcí Rozhodnutí Komise ze dne 25. listopadu 2013, o pokynech k příloze I. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009, o kosmetických přípravcích. Dostupné z: http://www.khshk.cz/articles.php?article_id=828
- [8] ORTH, Donald S. *Insights into cosmetic microbiology*. Carol Stream: Allured Books, c2010. ISBN 978-1-932633-62-7.
- [9] BAIRD, R. M. a S. F. BLOOMFIELD. *Microbial quality assurance in cosmetics, toiletries and non-sterile pharmaceuticals*. 2nd ed. Bristol, PA: Taylor & Francis, c1996. ISBN 0131012479.
- [10] SCHLOSSMAN, Mitchell L. *The chemistry and manufacture of cosmetics*. 4th ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, c2009. ISBN 978-1-932633-47-4.
- [11] BRANNAN, D.K. a P.A. GEIS. Cosmetics Microbiology. *Encyclopedia of Microbiology* [online]. Elsevier, 2009, s. 270 [cit. 2016-03-21]. DOI: 10.1016/B978-012373944-5.00142-5. ISBN 9780123739445

- [12] SALVADOR, Amparo. a Alberto. CHISVERT. *Analysis of cosmetic products*. London: Elsevier, 2007. ISBN 0444522603.
- [13] Česká technická norma ČSN EN ISO 17516, *Mikrobiologické limity*. Sbírká zákonů
- [14] Česká technická norma ČSN EN ISO 21149, *Stanovení počtu a průkaz aerobních mezofilních bakterií*. Sbírká zákonů
- [15] Česká technická norma ČSN EN ISO 16212, *Stanovení počtu kvasinek a plísni*. Sbírká zákonů
- [16] SCHIRALDI, Alberto; FESSAS, Dimitrios; SIGNORELLI, Marco. Water Activity in Biological Systems - a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2012, vol. 62, no. 1 s. 5-13. ISSN:1230-0322.
- [17] STEINBERG, D. *Preservatives for cosmetics*. 3rd ed. Carol Stream, IL: Allured Books, c2012. ISBN 978-1-932633-94-8.
- [18] KOZLOWSKI, Angela C. *Formulating strategies in cosmetic science*. Carol Stream, IL: Alluredbooks, c2009. ISBN 9781932633528.
- [19] JAMES M. JAY. *Modern Food Microbiology*. Fifth edition. Boston, MA: Springer US, 1995. ISBN 9781461574767.
- [20] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologie*. Vyd. 3. [i.e. 4.], opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. [i.e. 2. vyd.]. Praha: Academia, 2008. ISBN 978-80-200-1703-1.
- [21] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přeprac. vyd. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
- [22] GEIS, Philip A. *Cosmetic microbiology: a practical approach*. Second edition. New York: Informa Healthcare, 2010. ISBN 978-0-8493-1453-7.
- [23] PRESCOTT, Lansing M., John P. HARLEY a Donald A. KLEIN. *Microbiology*. 5th ed. Boston: McGraw-Hill, c2002. ISBN 0071122591.
- [24] JAY, James M., Martin J. LOESSNER a David Allen GOLDEN. *Modern food microbiology*. 7th ed. New York: Springer, c2005. ISBN 0387234136.
- [25] BRANNAN, Daniel K. *Cosmetic Microbiology: A Practical Handbook*. 1st ed. Boca Raton: CRC Press, 1997. ISBN 0849337135.

- [26] O'LENICK, Anthony J. *Microorganisms and cosmetics*. Carol Stream, IL: Allured Business Media, c2009. ISBN 1932633561.
- [27] RASHID, Mamun-Ur; WEINTRAUB, Andrej; NORD, Carl Erik. Effect of New Antimicrobial Agents on the Ecological Balance of Human Microflora. *Anaerobe*. 2012, vol. 18, no. 2 s. 249-253. ISSN:1075-9964.
- [28] BRAKS, M.A.H; ANDERSON, R.A; KNOLS, B.G.J. Infochemicals in Mosquito Host Selection: Human Skin Microflora and Plasmodium Parasites. *Parasitology Today*. 1999, vol. 15, no. 10 s. 409-413. ISSN:0169-4758.
- [29] GÖPFERTO VÁ, Dana. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena: pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy*. 3. dopl. vyd. Praha: Triton, 2002. ISBN 80-7254-223-0.
- [30] MAĎAR, Rastislav, Renata PODSTATOVÁ a Jarmila ŘEHOŘOVÁ. *Prevence nozokomiálních nákaz v klinické praxi*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1673-9.
- [31] NOBLE, W. C. *The Skin microflora and microbial skin disease*. Cambridge [England]: Cambridge University Press, 2004. ISBN 0521612063.
- [32] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.
- [33] SEDLÁČEK, Ivo. *Taxonomie prokaryot*. 1. vyd. Ilustrace Petr Ondrovčík. Brno: Masarykova univerzita, 2007. ISBN 80-210-4207-9.
- [34] ABU SHAQRA, Qasem M; AL-GROOM, Rania M. Microbiological Quality of Hair and Skin Care Cosmetics Manufactured in Jordan. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2012, vol. 69 s. 69-72. ISSN:0964-8305
- [35] *Pseudomonas aeruginosa*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.himedialabs.com/intl/en/products/Pharmaceutical-Industry/MLT-Other-media-Pseudomonas/Cetrimide-Agar-Base-M024>
- [36] *Serratia marcescens*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://microculture.tumblr.com/post/580009812/this-weeks-microbe-serratia-marcescens-whats>
- [37] *Escherichia coli*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=10792>

- [38] *Enterobacter cloacae*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-photos/enterobacter-cloacae-photos/enterobacter-cloacae-on-blood-agar-plate.html>
- [39] *Klebsiella pneumoniae*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-photos/klebsiella-pneumoniae-photos/klebsiella-pneumoniae-colonies-appearance.html>
- [40] *Proteus mirabilis*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://202.195.144.50/ASM/122-Introduce.htm>
- [41] *Staphylococcus aureus*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria%20photos/staphylococcus%20aureus%20photos/STAU2.html>
- [42] *Streptococcus pyogenes*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria%20photos/streptococcus%20pyogenes%20photos/streptococcus%20pyogenes%2003.html>
- [43] *Bacillus cereus*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/bakterie/kolonie/bcereush.jpg>
- [44] *Clostridium perfringens*. [online]. [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: <http://www.himedialabs.com/intl/en/products/Microbiology/Media-Supplements-Identification-and-Growth-Clostridia-Perfringens-Supplement-I/Perfringens-Agar-Base-O-P-S-P--M579>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

a_w	Aktivita vody
CAS	Chemical Abstract Service
CMIT	chlormethylisothiazolinon
DMDM	dimethyloldimethyl
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EINECS	European Inventory of Existing Chemical Substances
ELINCS	European List of Notified Chemical Substances
EU	Evropská Unie.
GI	Gastrointestinální
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
KP	Kosmetický přípravek/kosmetické přípravky
KTJ	Kolonie Tvořící Jednotka
MIT	methylisothiazolinon
μm	mikrometr
MoS	Margins of Safety
nm	nanometr
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
o/v	emulze olej ve vodě
R	alkylový radikál

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> [35]	33
Obrázek 2 <i>Serratia marcescens</i> [36]	34
Obrázek 3 <i>Escherichia coli</i> [37]	34
Obrázek 4 <i>Enterobacter cloacae</i> [38].....	35
Obrázek 5 <i>Klebsiella pneumoniae</i> [39]	36
Obrázek 6 <i>Proteus mirabilis</i> [40]	36
Obrázek 7 <i>Staphylococcus aureus</i> [41]	37
Obrázek 8 <i>Streptococcus pyogenes</i> [42].....	38
Obrázek 9 <i>Bacillus cereus</i> [43].....	39
Obrázek 10 <i>Clostridium perfringens</i> [44].....	40
Obrázek 11 Obecný vzorec parabenu	44
Obrázek 12 Chemický vzorec fenoxylethanolu	44
Obrázek 13 Chemický vzorec kyseliny dehydrooctové	45
Obrázek 14 Chemický vzorec CMIT	45
Obrázek 15 Chemický vzorec DMDM hydantoinu	46

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Mikrobiologické limity pro kosmetiku [13]	20
Tabulka 2. Specifická aktivita vody pro růst mikroorganismů kontaminujících kosmetické přípravky [17].....	23
Tabulka 3. Aktivita vody některých kosmetických přípravků [17]	24
Tabulka 4. Potenciální kontaminanty kosmetických přípravků [25]	26
Tabulka 5. Mikroorganismy izolované z kosmetických přípravků [34]	31