

Mýdla s antibakteriálními vlastnostmi

Bc. Dita Hofrichterová

Diplomová práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Dita Hofrichterová
Osobní číslo:	T18359
Studijní program:	N2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor:	Technologie tuků, detergentů a kosmetiky
Forma studia:	Kombinovaná
Téma práce:	Mýdla s antibakteriálními vlastnostmi

Zásady pro vypracování

Student/ka na základě literární rešerše určí potenciální antibakteriální látky, které jsou vhodné pro využití při přípravě mýdel. Popíše mechanismy jejich účinku i možnosti zavedení do výroby antibakteriálních mýdel. Součástí literární rešerše pak bude také zhodnocení možných způsobů stanovení antibakteriální účinnosti mýdel. Na základě provedené literární rešerše pak vybere vhodné látky s antibakteriálním účinkem a zajistí přípravu vzorků mýdel. Jednotlivé vzorky pak podrobí testu antibakteriální účinnosti a srovná jejich aktivitu s mýdly bez antibakteriální látky.

Forma zpracování diplomové práce: **Tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- Handayani, Sri, Susila Kristianingrum, and Anna Rakhmawati. „Standard Quality and Antibacterial Activity Tests of Clove Oil in Solid Soap Production Against Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis and Escherichia coli.“ *Oriental Journal of Chemistry* 34.5 (2018): 2410.
- Aiello, A. E., Larson, E. L., & Levy, S. B. (2007). Consumer antibacterial soaps: effective or just risky?. *Clinical Infectious Diseases*, 45(Supplement_2), S137-S147.
- Karleskind, A., & Wolff, J. P. (1996). Oils and fats manual. A comprehensive treatise: properties, production, applications
- Spitz, L. (Ed.). (2016). *Soap manufacturing technology*. Elsevier.
- Bednář, M., Fraňková, V., Schindler, J., Souček, A., & Vávra, J. (1996). *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Marvil.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Zdenka Capáková, PhD.**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou 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);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá srovnáním antimikrobních účinků přírodních toaletních mýdel bez aktivní složky a přírodních toaletních mýdel, kde aktivní složku tvoří přírodní surovina. Jako přírodní suroviny s potenciálně antimikrobním účinkem byly vybrány esenciální oleje a rostlinné oleje. Samostatně jsou také testovány antimikrobní účinky jednotlivých aktivních složek. Inhibiční účinky byly testovány na grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 4516 a gramnegativní bakterii *Escherichia coli* CCM 4517. Testování antimikrobiální citlivosti bylo prováděno plotnovou metodou. Výsledky ukázaly, že přírodní toaletní mýdla bez aktivní složky vykazují inhibiční účinek oproti referenčnímu vzorku a přírodní toaletní mýdla s antimikrobní složkou vykazují vyšší inhibiční účinek oproti přírodním toaletním mýdlům bez aktivní složky.

Klíčová slova: mýdlo, antibakteriální mýdlo, antimikrobní účinek, esenciální olej, plotnová metoda

ABSTRACT

Diploma thesis is focused on the comparison of the antimicrobial effects of natural toilet soaps with and without active ingredients. Natural products such as an essential oils or vegetable oils were chosen as active ingredients with antimicrobial potential. Antimicrobial effects of individual active ingredient were also determined. Inhibitory effects were tested on the gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 4516 and gram-negative bacteria *Escherichia coli* CCM 4517. Antimicrobial susceptibility testing was performed by the plate method. The results showed that natural toilet soaps without active ingredients provided an inhibitory effect compare to the reference sample. The natural toilet soaps with active ingredients showed a higher inhibitory effect than natural toilet soaps without active ingredients.

Keywords: soap, antibacterial soap, antimicrobial effect, essential oil, plate method

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Zdence Capákové, Ph.D. za vedení mé diplomové práce, poskytnutí odborných rad, ochotu a vstřícný přístup.

Dále bych chtěla poděkovat panu Mgr. Janu Vajdákovi za jeho ochotu a především čas, který mi věnoval.

Velké poděkování náleží také mé rodině a blízkým za morální podporu během studia.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 HISTORIE HYGIENY TĚLA A RUKOU	13
1.1 STAROVĚK.....	13
1.2 ŘECKO A ŘÍM	13
1.3 STŘEDOVĚK.....	14
1.4 NOVOVĚK.....	15
1.5 20. A 21. STOLETÍ	15
2 KOSMETIKA A ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI	17
2.1 ESENCIÁLNÍ OLEJE.....	17
2.2 ROSTLINNÉ OLEJE A EXTRAKTY Z ROSTLIN	21
2.3 VĚTŠINOVÉ SLOŽKY ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ A EXTRAKTŮ Z ROSTLIN	23
2.3.1 Karvakrol (Carvacrol)	23
2.3.2 Thymol	23
2.3.3 Eugenol	24
2.3.4 Cinnamaldehyde.....	24
3 KŮŽE	26
3.1 KŮŽE JAKO BARIÉRA A BUNĚČNÁ IMUNITA PROTI MIKROORGANIZMŮM	26
3.2 ROZDÍLNÉ VLASTNOSTI KŮŽE V ZÁVISLOSTI NA MÍSTĚ TĚLA	26
4 MIKROBIOM	29
4.1 CHARAKTERIZACE KOŽNÍHO MIKROBIOMU.....	30
4.2 REZIDENTNÍ DRUHY MIKROORGANIZMŮ	32
4.3 KOMENZÁLNÍ MIKROORGANIZMY	32
4.4 PATOGENNÍ MIKROORGANIZMY	33
4.5 DRUHY MIKROBIÁLNÍ KOLONIZACE.....	33
4.6 DRUHY MIKROORGANIZMŮ	34
4.6.1 <i>Staphylococcus epidermis</i>	34
4.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	35
4.6.3 <i>Propionibacterium acnes</i>	36
4.6.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
5 HYGIENA RUKOU	38
5.1 NEMOCI ZPŮSOBENÉ ŠPATNOU HYGIENOU RUKOU	39
5.1.1 Hepatitida A	39
5.1.2 Chřipka	39
5.1.3 Průjemová onemocnění.....	39
5.2 TECHNIKA MYTÍ RUKOU	40

5.2.1	Jak si správně mýt ruce	40
6	PŘEHLED TESTOVANÝCH ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK	42
6.1	ESENCIÁLNÍ OLEJ HŘEBÍČEK (INCI: <i>SYZGIUM AROMATICUM</i>).....	42
6.2	ESENCIÁLNÍ OLEJ TYMIÁN (INCI: <i>THYMUS VULGARIS</i>)	43
6.3	ESENCIÁLNÍ OLEJ LEVANDULE (INCI: <i>LAVANDULA ANGUSTIFOLIA</i>).....	44
6.4	ESENCIÁLNÍ OLEJ ČAJOVNÍK (INCI: <i>MELALEUCA ALTERNIFOLIA</i>)	45
6.5	NIMBOVÝ OLEJ (INCI: <i>AZADIRACHTA INDICA</i>).....	46
II	PRAKTICKÁ ČÁST	48
7	CÍL PRÁCE	49
8	MATERIÁL A METODY PŘÍPRAVY VZORKŮ MÝDEL.....	50
8.1	VÝROBA VZORKŮ MÝDEL	50
8.2	PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	50
8.3	SUROVINY	51
8.4	PŘÍPRAVA VZORKŮ.....	53
9	MATERIÁL A METODY TESTOVÁNÍ ANTIBAKTERIÁLNÍCH VLASTNOSTÍ	61
9.1	BAKTERIÁLNÍ KMENY	61
9.2	TESTOVANÉ PŘÍPRAVKY	61
9.3	PŘÍSTROJE A VYBAVANÍ	61
9.4	KULTIVAČNÍ MÉDIA.....	62
9.4.1	Plate count-agar.....	62
9.5	ROZTOKY	62
9.6	METODA STANOVENÍ CITLIVOSTI K ANTIMIKROBIÁLNÍM LÁTKÁM	63
9.6.1	Příprava vzorků	63
9.6.2	Příprava suspenze testovaných bakteriálních kmenů	63
9.6.3	Stanovení inhibičního účinku plotnovou metodou	64
10	VÝSLEDKY	66
10.1	ANTIBAKTERIÁLNÍ ÚČINKY TESTOVANÝCH MÝDEL	66
11	DISKUZE	68
11.1	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ ČISTÝCH ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ	69
12.2	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ MÝDEL	70
	ZÁVĚR	73
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	74
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	83
	SEZNAM OBRÁZKŮ	84

SEZNAM TABULEK.....	85
----------------------------	-----------

ÚVOD

Mýdlo je jednou z nejzákladnějších věcí, kterou používáme každý den. Má čistící účinky, proto je určeno pro mytí pokožky těla a obličeje. Co se týče základních hygienických opatření, mytí rukou mýdlem může zabránit vážným onemocněním a napomáhá udržet pokožku zdravou. [1]

V této diplomové práci jsou základní suroviny pro výrobu mýdla různé oleje a másla. Mýdla jsou vyráběna zmýdelňováním (saponifikací), což je působení alkalických činidel, v našem případě hydroxidu sodného, na danou surovinu. Pro zmýdelnění jedné molekuly triacylglycerolu je potřeba tří molekul hydroxidu sodného, vznikne jedna molekula glycerolu a tři molekuly sodných solí mastných kyselin. Při správně provedeném zmýdelnění v mýdle nezůstává žádný volný hydroxid. Mýdlo vyrobené za pomoci hydroxidu sodného je pevné a tvrdé. [2]

Antimikrobiální aktivita je definována jako schopnost zabíjet mikroorganismy nebo inhibovat jejich růst. Antimikrobiální aktivita je významná s ohledem na lidský organismus při prevenci onemocnění a kožních infekcí. Mýdla se používají k odstranění nečistot, včetně prachu, mikroorganismů, skvrn, potu a zápachů a to nejen z pokožky, ale i z oblečení. Mýdla obsahují amfifilní molekuly, což znamená, že mají hydrofilní i hydrofobní vlastnosti. To dává mýdlu schopnost rozpouštět většinu typů molekul. Amfifilní povaha mýdla uvolňuje bakterie a viry z rukou, takže je lze snáze smýt. Při použití mýdla lze pozorovat tendenci oplachování rukou delší dobu pro důkladné opláchnutí. Pravidelné používání mýdla tedy nutně nemusí zabíjet mikroorganismy, ale napomáhá jejich smytí z pokožky. [3]

Antimikrobiální mýdla mají stejné vlastnosti jako běžná mýdla, ale obsahují přidanou přísadu, která má zabránit tomu, aby se mikroorganismy na pokožce dále množily. Principem je, že tato přísada bude chránit pokožku před škodlivými mikroorganismy ve srovnání s běžným mýdlem. [3] V této práci se zaměřujeme na účinky proti modelovým bakteriím *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.

Bylo prokázáno, že mytí pokožky mýdlem a vodou snižuje přítomnost mikroorganismů na pokožce. Zároveň je mnohem účinnější při odstraňování bakterií z rukou než pouhé mytí vodou. [4] Vlastnosti běžného přírodního mýdla a jeho tendence k delšímu mytí rukou jsou dostatečné k tomu, aby zvýšily zdraví spotřebitelů bez nutnosti přidání syntetických antimikrobiálních sloučenin. Přírodní antimikrobiální látky jsou tedy dostatečnou náhradou

za syntetické složky. Přidáním antimikrobiálních složek přírodního původu docílíme dostatečné ochrany při mytí rukou. [3]

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 HISTORIE HYGIENY TĚLA A RUKOU

1.1 Starověk

Z pravěku se nám nezachovaly žádné doklady o celkové hygieně těla. Zato o nejnávštěvnějších zemích starověku se dochovalo velké množství informací. Tehdejší vyspělé civilizace představovaly vrchol v rámci životní úrovně. Dochované archeologické nálezy z této doby i písemné zmínky vypovídají o vysoké úrovni péče o tělo. [5]

O životním stylu mezopotamské kultury (území dnešního Íránu, Iráku a Sýrie) víme především z archeologických vykopávek. Je jisté, že se lidé v této době pravidelně myli, prali si oděvy a používali kosmetiku. [5] Ke kosmetickým účelům sloužily i přírodní materiály jako pemza, sloužící k obrušování pokožky a přírodní houby z teplých moří, používané k omývání těla. [6] Egypťané byli až úzkostlivě čistotní a v jejich denním životě nalezneme prakticky totožné návyky jako v dnešní době, přestože hovoříme o civilizaci staré pět tisíc let. [5] Egypt byl v této době hlavním střediskem kosmetických řemesel. Běžně se používaly rostlinné oleje a masti na bázi rozpuštěného sádla, do něhož se přidávaly aromatické látky a barviva. Na vodu a další kapaliny se používaly bronzové nádoby, talířky, misky na oplachování prstů po jídle, umyvadla na ruce a nohy, vědra a vany. K osušování pokožky sloužily koupelové osušky, ručníky a žínky na obličej. [6]

1.2 Řecko a Řím

Řekové byli neobyčejně čistotní. Mytí a celková očista těla patřily ke starořecké kultuře. Staří Řekové se každé ráno myli, přes den se koupali a vzhled těla udržovali kosmetikou. [5]

Zajištění dodávky čisté vody bylo důležitou součástí veřejné politiky a známkou růstu a prosperity společnosti. Budovaly se veřejné vodovody. Velký rozvoj zažila také balneologie, která se opírala o dávné znalosti s používáním vody ke koupeli v místech přirozených vodních zdrojů. Původ řecké balneologie můžeme hledat již v Mezopotámii. Řekové měli tři důvody, proč se koupat: pečovat o čistotu svého těla a tím být krásný, cítit náboženské obyčeje a posílit tělo. [7]

V 5. století př. n.l. si už horkou lázeň dopřávala v Řecku třetina domácností. Koupelna sousedila s kuchyní na straně, kde bylo ohniště. Voda se ohřívala v trubce, která procházela horkým kuchyňským komínem. V koupelnách byly vestavěny terakotové sedací vany. Řekové však dávali přednost sprše, tedy umytím pod proudem vody a na hlubší vany si zvykali pomalu. Mnohem běžnější bylo mytí v širokém, mělkém půlmetrovém umyvadle z lehkého kovu. Výhodou bylo jeho snadné čištění a rychlé ohřátí vody. Z tohoto základního modelu se v 5. století př. n.l. postupně vyvíjely další typy nádob na mytí, jedna z nejoblíbenějších byla nožní lázeň, tedy kovová nádoba na třech nožkách. [6]

Pravidelné mytí bylo od nejstarších časů běžné i ve starověkém Římě. Přesto existoval rozdíl v hygienických návycích mezi Řeky a Římany. I když Římané znali lázně s horkou vodou od nejstarších časů, myli se pravidelně ve studené vodě. Římané byli duší vojáci a otužilost patřila k základním atributům mužů. Koupel ve studené vodě patřila mezi společenské události. Od 3. století př. n. l. přijímala starořímská společnost většinu kulturních návyků od svých řeckých sousedů. To platilo i o celkovém pojetí hygieny těla. [5]

1.3 Středověk

Stěhováním národů a zánikem Římské říše se Evropa propadla do období temna. Pro hygienu platí toto tvrzení dvojnásobně. Pouze ve společnosti nejbohatších obyvatel, žijících na území dřívější Římské říše, se ještě určitou dobu podařilo udržet povědomí o hygienických návycích. Většina obyvatel však rychle podlehla vlivu, který s sebou přinesl zánik centrální vlády. Lidé především bojovali o holou existenci a péče o vzhled a očista těla byly odsunuty do ústraní. Přesto se ještě v 8. století stavěly v některých jihoevropských palácích teplé i studené lázně a panovníci se pravidelně koupali, obvykle to bylo v sobotu. V tento den si také měnili špinavý oděv za čistý. Čistota však byla výsadou panovníků a neplatila pro jejich služebnictvo. Pravidelné mytí se však nakonec přestalo dodržovat i v panovníckých kruzích. [5]

Středověkou osobní hygienu nejvíce ovlivnil vynález spodního prádla a přiléhavých oděvů. Hygiena byla ve středověku na velmi nízké úrovni. Ve 12. a 13. století lidé chodili v nepraných šatech, jen občas si umyli ruce a obličej. Zbytek těla si myli jen zřídka. Z tohoto období se dochovalo jen málo informací, jelikož kronikáři považovali za zbytečné psát o něčem tak bezvýznamném jako je mytí. I přes absenci smyslu pro hygienu si lidé ve středověku často myli ruce před jídlem, ovšem pouze v případě, kdy zasedali ke stolu, obvykle při větších hostinách. Smyslem ovšem nebyla očista rukou, nýbrž šlo o dávný rituál, který byl symbolickou upomínkou na poslední večeři Páně, před níž si Kristus a apoštolové omývali ruce. Ve středověku se k mytí rukou používaly velké mísy, které sloužící přinášeli přímo ke stolu. [5]

1.4 Novověk

Čistota a hygiena nebyla v raném novověku v centru pozornosti, což platilo pro všechny vrstvy obyvatelstva. Všeobecně chybělo povědomí o nezbytnosti hygieny a jen nejbohatší vrstvy měly vlastní zdroj vody v bezprostředním dosahu. Voda se často nosila až ze vzdálené studny. Lékaři sice již od 16. století poukazovali na nezbytnost čistoty a umývání, ale až do 18. století se tyto zásady do obecného povědomí neprosadily. Nejdříve se rozšířilo praní oděvů a mytí nádobí. Udržování osobní čistoty mělo daleko menší význam. [8]

V dějinách mytí není zásadní zlomové období, kdy se změnila hygienická návyky. Až v období baroka docházelo pozvolna ke změně a lepší péči o tělo přijaly nejprve zámožnější vrstvy společnosti. Jak se šířil blahobyť, přijímaly nové hygienické návyky i další lidé. Ke konci 18. století se prosadilo pravidelné mytí a zcela se změnil názor na hygienu. Jak pro šlechtu, tak i pro běžné obyvatele se čistota stala společenskou normou. Být špinavý znamenalo být nedůvěryhodný nebo dokonce i podezřelý. [5]

1.5 20. a 21. století

Dvacáté a jednadvacáté století patří mezi nejlépe zdokumentovaná období, co se historie čistoty týče. Stejně jako ve všech předchozích historických obdobích, i tady platí rovnice

mezi osobní čistotou a příjmy domácnosti. Stále větší procento obyvatel si ovšem může dovolit žít hygieničtějšíм způsobem života. Dvacáté století je považováno v průmyslových zemích za nejhygieničtější období. Poznamenaly ho dvě světové války, po kterých následovala období významných sociálních změn. Zvláště po 2. světové válce došlo k výraznému zvýšení spotřeby nejrůznějšího hygienického zboží. První televizní reklama byla na mýdlo, prádlo vybělené šmolkou bylo „bělejší než bílé“ a velký důraz se kladl na to, aby „svěže“ vonělo. V poválečných letech prudce vzrostl prodej kosmetiky, z USA se do Evropy prostřednictvím reklamy rozšířilo povědomí o nových produktech. Na trhu se objevily deodoranty a automatické pračky. To výrazně napomohlo v boji s pachem způsobeným bakteriálním rozkladem. [5]

V 80. a 90. letech 20. století bylo důležité být nejen zdravý, ale i krásný, bez ohledu v jaké zemi člověk žil a na jeho sociálním postavení. V pohledu na péči o tělo se objevuje téma dokonalé čistoty a v kosmetické péči převládl minimalismus. Od 80. let 20. století výrazně roste kosmetický průmysl, výrobci kosmetických přípravků plánují výrobu na roky dopředu. Výroba je zacílená na konkrétní skupiny zákazníků, podle věku, pohlaví, úrovně příjmů. Kosmetické firmy nabízejí své zboží prostřednictvím internetu nebo reklamních kampaní v televizi. Ve všech zemích nadále kupují kosmetické přípravky především ženy. V USA a Evropě však v posledních 20 letech prudce stoupl prodej pánské kosmetiky a je zřejmé, že tento trend bude pokračovat. [5]

2 KOSMETIKA A ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI

Látky s antimikrobiálními účinky se v kosmetickém průmyslu používají převážně pro účely konzervace. [9] Znamená to, že daná látka zabíjí žijící mikroorganismy nebo zastavuje jejich růst. Mezi nejběžnější antimikrobiální aktivity patří antibakteriální aktivita, což představuje zastavení růstu nebo usmrcení bakterií. [10] V posledních letech se kosmetický průmysl snaží přizpůsobit požadavkům spotřebitelů, kteří požadují omezování syntetických konzervačních látek a vyvinout pro ně kosmetické přípravky s konzervačními látkami rostlinného původu. Antimikrobiální čistota je důležitá v přípravcích obsahujících vodní složku, například v krémech a emulzích. [9] Konzervační látky udržují mikrobiologickou čistotu během výroby, balení, skladování, ale zejména po celou dobu používání. Přestože se konzervační látky obvykle používají v malých koncentracích, jsou považovány za jeden z faktorů způsobujících alergie. [11]

Alternativní způsob řešení problému mikrobiální čistoty kosmetických přípravků je použití sloučenin (např. bylinných extraktů a esenciálních olejů), které nejsou konzervačními činidly, ale vykazují antimikrobiální aktivitu. [9]

Jako antimikrobiální látky byly například úspěšně testovány extrakty z rostlin *Matricaria chamomilla*, *Aloe vera*, *Calendula officinalis* a éterické oleje *Lavandula officinallis*, *Melaleuca alternifolia*, *Cinnamomum zeylanicum*. [9] Za působení na mikroorganismy jsou zodpovědné přítomné aktivní složky, především fenolické sloučeniny (karvakrol, thymol a eugenol) a terpenoidy. [12]

2.1 Esenciální oleje

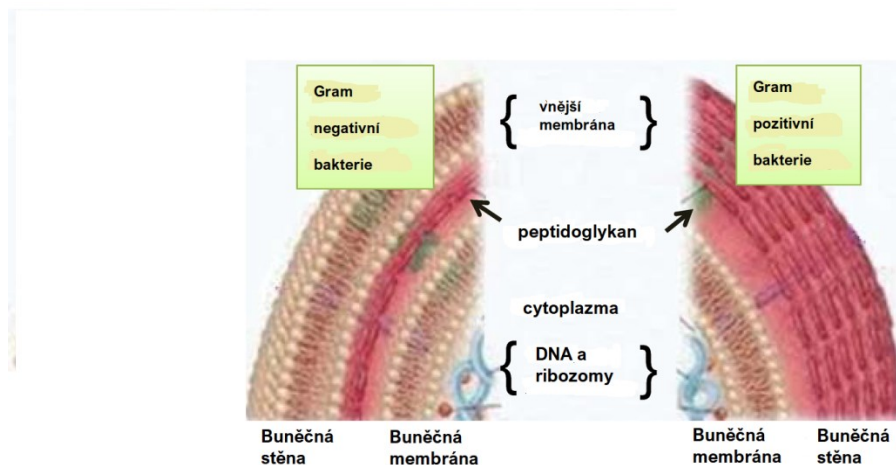
Esenciální oleje (rovněž nazývané éterické oleje) jsou aromatické olejovité kapaliny získané z rostlinného materiálu (z květů, pupenů, semen, listů, větviček, kůry, bylin, dřeva, ovoce a kořenů). Lze je získat lisováním, fermentací, extrakcí, ale nejčastější metodou je parní destilace. Je známo asi tři tisíce druhů esenciálních olejů, z nichž přibližně tři sta je komerčně důležitých, zvláště pro parfumářský průmysl. [13] Bylo prokázáno, že esenciální oleje mají antibakteriální [14], antioxidační [15], virocidní [16], antimykotické [14], antiparazitické [17] a insekticidní vlastnosti [18].

Největší využití esenciálních olejů v rámci Evropské unie je v potravinářském průmyslu (příchutě), v parfumářském průmyslu a farmaceutickém průmyslu (pro jejich funkční

vlastnosti). Znamé použití esenciálních olejů pro aromaterapii pak představuje pouze 2 % z celkového trhu. [13]

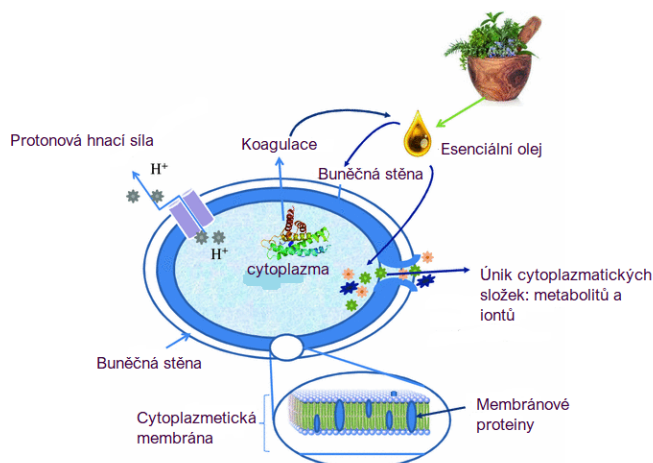
Nejběžnější metodou pro získávání esenciálních olejů je již vzpomínaná parní destilace. Další metodou je extrakce kapalným oxidem uhličitým při nízké teplotě a vysokém tlaku, při které se docílí přirozenějších organoleptických vlastností, ale jedná se o dražší metodu. Rozdíl v organoleptických vlastnostech ukazuje rozdíl ve složení olejů získaných extrakcí a destilací. Způsob získávání esenciálních olejů může ovlivnit jejich antimikrobiální vlastnosti. Esenciální oleje extrahované hexanem vykazují vyšší antimikrobiální aktivitu. [19]

Antimikrobiální mechanismus účinku se liší podle typu esenciálního oleje nebo mikroorganismu. Oproti gramnegativním bakteriím vykazují grampozitivní bakterie vyšší náchylnost oproti esenciálním olejům. [20] Jak lze vidět z obr. 1 gramnegativní bakterie mají tuhou vnější membránu, bohatou na lipopolysacharidy (LPS), což omezuje difúzi hydrofobních sloučenin skrz membránu. Takto komplexní membrána chybí u grampozitivních bakterií, které jsou naopak obklopeny silnou peptidoglykanovou stěnou, které není příliš hustá a nemůže tedy odolávat malým antimikrobiálním molekulám, což usnadňuje přístup k buněčné membráně. [21] Struktura grampozitivních bakterií umožňuje hydrofobním molekulám snadno pronikat do buněk a působit na buněčnou stěnu i v cytoplasmě. Fenolové sloučeniny, které jsou přítomny v esenciálních olejích, obecně vykazují antimikrobiální aktivitu proti grampozitivním bakteriím. Jejich účinek závisí na množství přítomné sloučeniny. Buněčná stěna gramnegativních bakterií je složitější. Má peptidoglykanovou vrstvu o tloušťce 2 až 3 nm, která je tenčí než v buněčné stěně grampozitivních bakterií. Vnější membrána leží mimo tenkou peptidoglykanovou vrstvu. Přítomnost vnější membrány je jedním ze znaků, které odlišují gramnegativní od grampozitivních bakterií. Vnější membrána je však téměř, ale ne zcela, nepropustná pro hydrofobní molekuly, z nichž některé mohou pomalu procházet poriny. [22]



*Obr. 1 Schéma buněčných obalů gramnegativní bakterie a grampozitivní bakterie
[upraveno dle 22]*

Obecně jsou biologické vlastnosti esenciálních olejů určovány jejich hlavními složkami [23] Hlavní skupinu představují terpeny a terpenoidy, druhou skupinu tvoří aromatické a alifatické složky. [24] Aktivita esenciálního oleje může ovlivnit jak vnější obal buňky, tak cytoplazmu. Hydrofobicita typická pro esenciální oleje je odpovědná za narušení bakteriálních struktur, což vede ke zvýšené propustnosti vzhledem k nemožnosti oddělit esenciální oleje od bakteriální buněčné membrány. Mechanizmy působení EO zahrnují degradaci buněčné stěny, poškození cytoplazmatické membrány, koagulaci cytoplazmy, poškození membránových proteinů, zvýšenou permeabilitu vedoucí k úniku obsahu buňky. Pokud je koncentrace EO nebo jiných přírodních antimikrobiálních látek vyšší, dochází k buněčné smrti. Toto je patrnější u grampozitivních bakterií. Naopak buněčná stěna gramnegativních bakterií neumožňuje vstup hydrofobních molekul tak snadno. [22]



Obr. 2 Mechanismus účinku esenciálních olejů na mikrobiální buňky. [upraveno dle 25]

Esenciální oleje je třeba je skladovat ve vzduchotěsných nádobách na tmavém místě, aby se zabránilo jejich rozkladu vlivem UV záření. [13]

Jednotlivé esenciální oleje mohou obsahovat více než šedesát složek, z čehož hlavní složka pak může být zastoupena až z 85 %, zatímco ostatní složky jsou zastoupeny pouze ve stopových množstvích. Za antibakteriální vlastnosti jsou zodpovědné zvláště fenolické složky. [13]

Tabulka č. 1 ukazuje přehled některých esenciálních olejů s prokázanými antibakteriálními vlastnostmi, jejich hlavní složky a procentuální zastoupení těchto složek.

Běžný název esenciálního oleje	Latinský název rostliny	Většinové složky	Přibližné % zastoupení
Cilantro (nať koriandru)	<i>Coriandrum sativum</i> (nezralé listy)	Linalool E-2-decanal	26 % 20 %
Koriandr	<i>Coriandrum sativum</i> (semena)	Linalool E-2-decanal	70 % -
Skořice	<i>Cinnamomum zeylandicum</i>	Trans-cinnamaldehyde	65 %
Oregano	<i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol Thymol	až 80 % až 64 %

		γ -Terpinene	2 - 52 %
		p-Cymene	až 52 %
Rozmarýn	<i>Rosmarinus officinalis</i>	α -pinene	2-25 %
		Bornyl acetate	0-17 %
		Camphor	2-14 %
		1,8-cineole	3-89 %
Šalvěj	<i>Salvia officinalis</i>	Camphor	6-15 %
		α -pinene	4-5 %
		β -pinene	2-10 %
		1,8-cineole	6-14 %
		α -tujone	20-42 %
Hřebíček	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol	75-85 %
		Eugenyl acetate	8-15 %
Tymián	<i>Thymus vulgaris</i>	Thymol	10-64 %
		Carvacrol	2-11 %
		γ -Terpinene	2-31 %
		p-Cymene	10-56 %

Tab. 1 Hlavní složky vybraných esenciálních olejů, které vykazují antibakteriální účinky [13]

2.2 Rostlinné oleje a extrakty z rostlin

Rostlinné extrakty jsou výtažky z rostlin nebo jejich částí, připravené převážně z usušených částí rostlin. Velmi často jsou pak používány listy z rostlin. Extrakce probíhá za pomoci rozpouštědel, které se na konci procesu odpaří, čímž vznikne čistý prášek bez chemických přísad. Jako rozpouštědlo se nejčastěji používá hexan, dále pak petrolether, metanol a etanol. [26]

Rostlinné oleje a extrakty z rostlin jsou lidstvem používány tisíce let. Jejich použití se liší podle způsobu, ke kterému jsou určeny. Díky antimikrobiálním účinkům olejů a výtažků tvoří základ mnoha aplikací, včetně konzervování potravin, léčiv a produktů pro přírodní léčitelství. Účinky některých rostlinných olejů byly velmi dobře zdokumentovány. [27]

V posledních desetiletích se celosvětově zvyšuje zájem o léčivé rostliny a jejich využití, zvláště v souvislosti s jejich antibakteriálním a antioxidačním účinkům, nízké toxicitě a potenciálu na získání levnějších alternativ pro výrobu léků. Stanovení antibakteriální aktivity různých léčivých rostlin má v současné době velký význam kvůli problému zvýšení odolnosti mikroorganismů vůči antibiotikům. [28]

Některé rostliny, používané jako koření, vykazují antimikrobiální aktivitu díky složkám jako je eugenol v hřebíčku, allicin v česneku a cinnamaldehydy a eugenol ve skořici. Některé druhy zeleniny a bylin obsahují složky, které inhibují mikrobiální růst. [29]

Čínská pažitka (*Allium tuberosum*), patřící do stejného rodu jako česnek, cibule a pór, je důležitou složkou v asijské kuchyni. Je prokázáno, že lisovaná šťáva z čínské pažitky je velmi účinná pro inhibici širokého spektra mikroorganismů. Sušená kůra ze skořice (*Cinnamomum cassia*) se používá k ochucení potravin i jako terapeutický prostředek při různých nemocech. Skořice je bohatá na esenciální oleje a taniny, které inhibují mikrobiální růst. Dřín lékařský (*Cornus officinalis*), který je používán v čínské medicíně, obsahuje taniny. Jedná se tedy o rostlinu nejen vynikající pro potravinářské využití, ale i pro antimikrobiální účinky. [29]

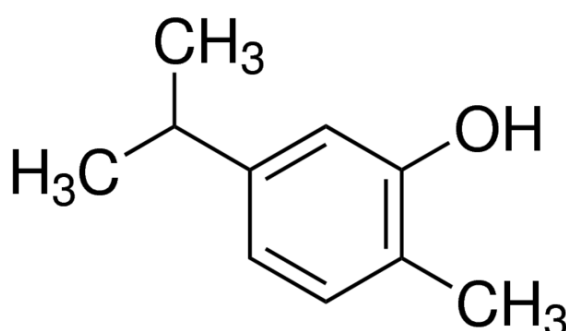
Mezi další zajímavé rostliny patří Provazovka vousatá (*Usnea barbata*) s definovaným obsahem kyseliny usnové. Extrakt z této rostliny může být účinný při léčbě akné, seboroického ekzému a lupů. [30]

Rostlinné extrakty a oleje mají své antibakteriální vlastnosti převážně díky obsahu fenolických složek, tříslovin (taninů), flavonoidů a alkaloidů. Jejich koncentrace se mohou v různých rostlinách lišit. Výsledkem jsou pak jedinečné vlastnosti pro každou konkrétní rostlinu. [28].

2.3 Většinové složky esenciálních olejů a extraktů z rostlin

2.3.1 Karvakrol (Carvacrol)

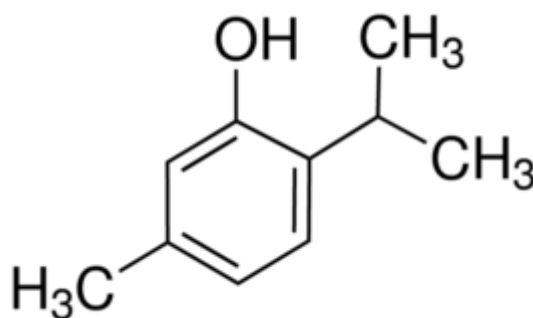
Karvakrol je monoterpenový fenol. Je součástí esenciálních olejů získaných z tymiánu, oregana, řeřichy a bergamotu. Je schopen inhibovat růst vegetativních bakterií, například *Escherichia coli* a *Bacillus cereus*. [31] Je nerozpustný ve vodě, ale vysoce rozpustný v etanolu, acetonu a diethyl etheru. [32] Antimikrobiální účinky Karvakrolu jsou vyšší než u jiných těkavých sloučenin přítomných v esenciálních olejích. Rozhodující je přítomnost volných hydroxylových skupin, hydrofobnost a fenolické složky. [33]



Obr. 3 Karvakrol [34]

2.3.2 Thymol

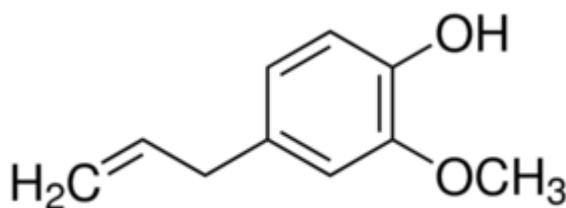
Thymol (2-isopropyl-5-methylfenol) je přírodní monoterpenový fenolový derivát cymenu, izomerický s karvakrolem, obsažený v esenciálním oleji z tymiánu. Má nejvyšší inhibiční účinky při pH 5,5. [31] Antimikrobiální účinky působí na grampozitivní i gramnegativní bakterie, například na rody *Escherichia*, *Listeria*, *Salmonella* nebo *Bacillus*. Thymol má inhibiční účinky na patogenní mikroorganismy souvisejícími s onemocněním dýchacích cest. [35]



Obr. 4 Thymol [36]

2.3.3 Eugenol

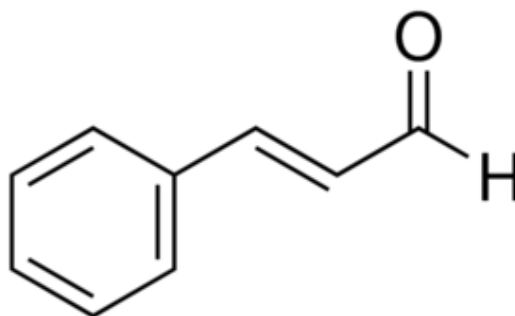
Eugenol patří mezi fenyylpropanoidy. Je to bezbarvá až bledě žlutá olejovitá kapalina extrahovaná z esenciálních olejů hřebíčku, muškátového oříšku, skořice a bobkového listu. Je zodpovědný za charakteristickou vůni hřebíčku. Je částečně rozpustný ve vodě a dobře rozpustný v organických rozpouštědlech. [31] Používá se jako terapeutický prostředek v zubním lékařství, kde působí protizánětlivě i jako lokální anestetikum. Má inhibiční účinky na grampozitivní i gramnegativní bakterie. Ve vysokých koncentracích však může způsobovat alergické reakce v důsledku tvorby fenoxylových radikálů a následně tvorby chininu prostřednictvím své prooxidační aktivity. [37]



Obr. 5 Eugenol [38]

2.3.4 Cinnamaldehyde

Cinnamaldehyde (neboli skořicový aldehyd) je organická sloučenina, která dává skořici charakteristickou chuť a vůni. Je to bledě žlutá viskózní kapalina, vyskytuje se přirozeně v kůře skořice. Inhibuje růst mikroorganismů *Escherichia coli* a *Salmonella typhimurium*. [31]



Obr. 6 Cinnamaldehyde [39]

3 KŮŽE

Kůže je největší lidský orgán. Je to složitý a dynamický ekosystém, obývaný mikroorganismy. Tyto mikroorganismy se liší mezi jednotlivci a mezi jednotlivými místy na kůži. [40]

Kůže je zajímavá z hlediska rozmanitosti svého ekosystému. Je to systém buněčných vrstev, nervů a žláz, působí jako ochrana těla před extrémními podmínkami prostředí, škodlivými chemikáliemi a patogeny. [40] Keratinocyty, které tvoří vnější vrstvu buněk na kůži, uvolňují antibakteriální látky peptidy, které pomáhají předcházet infekci. Nejčastěji se jedná o antimikrobiální peptid katelicidin. [41] Kůže také skrývá množství různých skupin mikroorganismů, které tvoří mikrobiotu lidské kůže. Správná charakterizace této mikrobioty má důležité klinické důsledky kvůli její interakci s jinými mikroorganismy, které mohou hrát roli při onemocnění člověka. [40]

Kůže vykazuje mnoho nerovností a výklenků, ve kterých se nacházejí velké populace mikroorganismů, které jsou vystaveny různým teplotám, tlakům, vlhkosti, pH a antimikrobiálním peptidům a lipidům. Z lipidů se jedná zvláště o triacylglyceroly, vosky, skvalen, volné mastné kyseliny a cholesterol. [42] Kromě toho kůže obsahuje vlasové folikuly, mazové a potní žlázy, které obsahují unikátní mikroflóru. Analýzy topografické rozmanitosti mikroorganismů, které obývají tyto části kůže, odhalily, že místo výskytu má velký vliv na mikrobiální složení. [43]

3.1 Kůže jako bariéra a buněčná imunita proti mikroorganismům

O kožní bariéře uvažujeme jak z hlediska vnější vrstvy epidermis, tak i z pohledu dalších vrstev pod epidermis, které výrazně ovlivňují funkčnost a také jsou nositeli mikroorganismů. Kromě toho je důležitým faktorem, že nad epidermis existuje vodná a lipidová vrstva, což také přispívá k mikrobiálnímu složení povrchu. Všechny vrstvy kůže jako celek musí zabránit infekci a vniknutí škodlivých látek a zároveň kontrolovat ztrátu vody a živin. Jako nejdůležitější v tomto procesu k udržení homeostázy slouží vysoce keratinizovaná epidermis, což je způsobeno keratinocyty, které tvoří hlavní typ buněk v epidermální bariéře. [44]

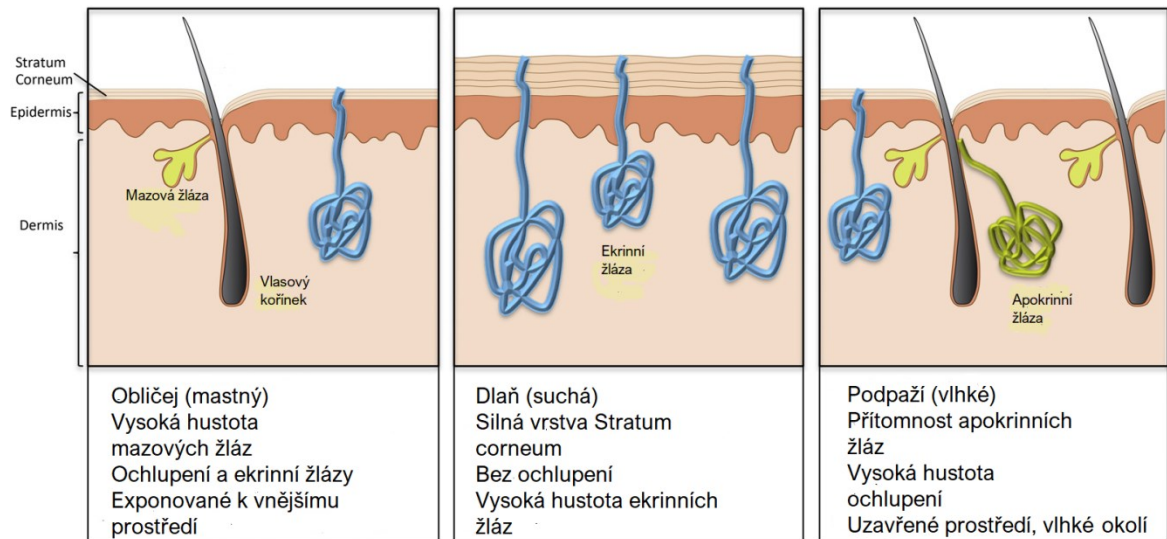
3.2 Rozdílné vlastnosti kůže v závislosti na místě těla

Povrch pokožky je tvořen zesíťnými buněčnými obaly a specializovanými lipidovými molekulami vytvářejícími strukturu epidermis „cihly a malta“. Dermis je protkána

krevními a lymfatickými cévami, obsahuje velké množství nervových zakončení, potních žláz, vlasových folikulů a mazových žláz. Existují dva typy potních žláz: ekrinní a apokrinní. Ekrinní potní žlázy, které jsou distribuovány téměř na celém povrchu kůže, hrají klíčovou roli při termoregulaci. Vylučují pot přímo na povrch pokožky, kde dochází k odpařování potu, čímž je umožněno tělu ochlazování. Pot obsahuje elektrolyty, které pracují na okyselení pokožky. Celkově je výsledkem tohoto procesu bariéra, která je chladná, suchá a mírně kyselá. Toto prostředí hraje hlavní roli při omezování složení mikroorganismů, které mohou přežít a proliferovat. [44]

Hustota ekrinních potních žláz tedy ovlivňuje mikrobiální osídlení kůže. Apokrinní potní žlázy, které existují již při narození, ale jsou aktivní až od puberty, mají omezenější výskyt, najdeme je v lokalitách, jako jsou podpaží, genitálie a perianální oblasti. Tyto žlázy vylučují jejich obsah – mastnou směs bílkovin, lipidů a steroidů - do vlasového kanálu. Charakteristickým zápachem potu je degradace těchto sloučenin odvozených od apokrinů. Mazové žlázy jsou spojeny s vlasovými folikuly. Sebaceózní žlázy vylučují látku bohatou na lipidy zvanou sebum, která způsobuje promaštění vlasů a pokožky. Pilosebaceózní jednotka obsahuje mikrobiální společenství, v nichž dominují bakterie schopné působit v anoxickém prostředí bohatém na lipidy, jako je *Propionibacterium acnes*. [44]

Rozdíly ve fyzikálních vlastnostech kůže na různých místech těla jsou snadno makroskopicky pozorovány. V některých místech, jako jsou dlaně nebo chodidla, je vrstva silná a bez ochlupení; jiná místa jsou tenká a jemná, jako například oční víčka. Místa, jako je vlasová pokožka nebo podpaží, mohou podporovat hustý růst vlasů a ochlupení a na jiných místech se produkuje více mazu, jako je obličej, záda a hrudník. Tyto anatomické rozdíly mohou silně ovlivnit mikrobiální společenství, která se nachází na pokožce. Obr. 7 ukazuje některé základní rozdíly v anatomii kůže na různých místech těla. Fyzikální a chemické vlastnosti kůže nejsou po celém těle jednotné; odlišné anatomické umístění vykazuje velkou rozmanitost v organizaci a distribuci žlázových struktur. Další faktory, které je třeba vzít v úvahu, jsou individuální zvyklosti v chování, které mění podmínky povrchu kůže. Například množství a frekvenci použití mycích prostředků, aplikace pleťových vod nebo kosmetických přípravků, povolání a místo bydliště. Mikroflóra bude tedy ovlivňována strukturou a složením epidermis, jakož i individuálním chováním, které určuje celkovou kulturu tohoto prostředí. Pokožka na rozhraní s vnějším prostředím je proto nejvíce vystavena vlivům prostředí, které ovlivňují kožní mikroflóru. [44]



Obr. 7 Rozmanitost kůže na různých částech těla. [upraveno dle 44]

4 MIKROBIOM

Složení kožní mikroflóry je ovlivněno demografií, genetikou, lidským chováním, místním a regionálním prostředím. Kožní mikroflóra může být velmi variabilní a měnit se v průběhu dětství a dospívání. Jelikož je lidská pokožka v přímém kontaktu s okolním prostředím, je obydlena a nepřetržitě vystavována mikroorganizmům z okolního prostředí. Mikroorganismy přirozeně osidlující naši pokožku reagují s jinými mikroorganismy, s lidskými buňkami a imunitním systémem, a to různými způsoby, které přinášejí rizika nemocí. [43]

Mikroflóra se na kůži začíná vytvářet během porodu až do věku několika týdnů a je specifická podle místa na těle. Mění se v průběhu puberty, kdy převažují *Corynebacterium* a *Cutibacterium* (dříve *Propionibacterium*) a snižuje se výskyt *Firmicutes* (včetně druhů *Staphylococcus* a *Streptococcus*). V dospělosti, přestože je kůže vystavována nepřetržitému působení vnějšího prostředí, zůstává mikroflóra stabilní. To naznačuje, že mezi hostitelem a komenzálními mikroorganismy existují stabilní, vzájemně prospěšné interakce. [45]

V roce 1938 zjistil Philip B. Price, že bakterie získané z rukou lze rozdělit do dvou kategorií, a to rezidentní nebo přechodné. Rezidentní mikroflóra (rezidentní mikrobiota) sestává z mikroorganismů, které sídlí pod povrchovými buňkami stratum corneum a lze je také nalézt na povrchu kůže. Dominantní druh je *Staphylococcus epidermidis*. [43]

Po mnoho desetiletí se vědci zajímali o definování mikroflóry lidské kůže se zaměřením na popisné funkce, jako je jejich spojení s infekcí, jejich stabilita v čase a jejich vztahy s jinými mikroorganismy. V současné době je naše porozumění lidské mikrobiotě na velmi vysoké úrovni. Aplikace vysoce propracovaného sekvenování DNA ke sběru jednotlivých genomů mikroorganismů, které obvykle obývají lidské tělo, umožňuje charakterizaci jak mikrobiálních komunit, tak i jednotlivých mikroorganismů. [43]

Za běžných fyziologických podmínek musí ekologický systém udržovat homeostázu mezi mikroflórou a hostitelem. Mechanismy odpovědné za tuto rovnováhu jsou převážně neznámé, a jsou ztíženy skutečností, že přesné složení kožní mikroflóry se liší u každého jednotlivce. Vzájemné působení neprobíhá pouze mezi kožní mikroflórou a hostitelem, ale

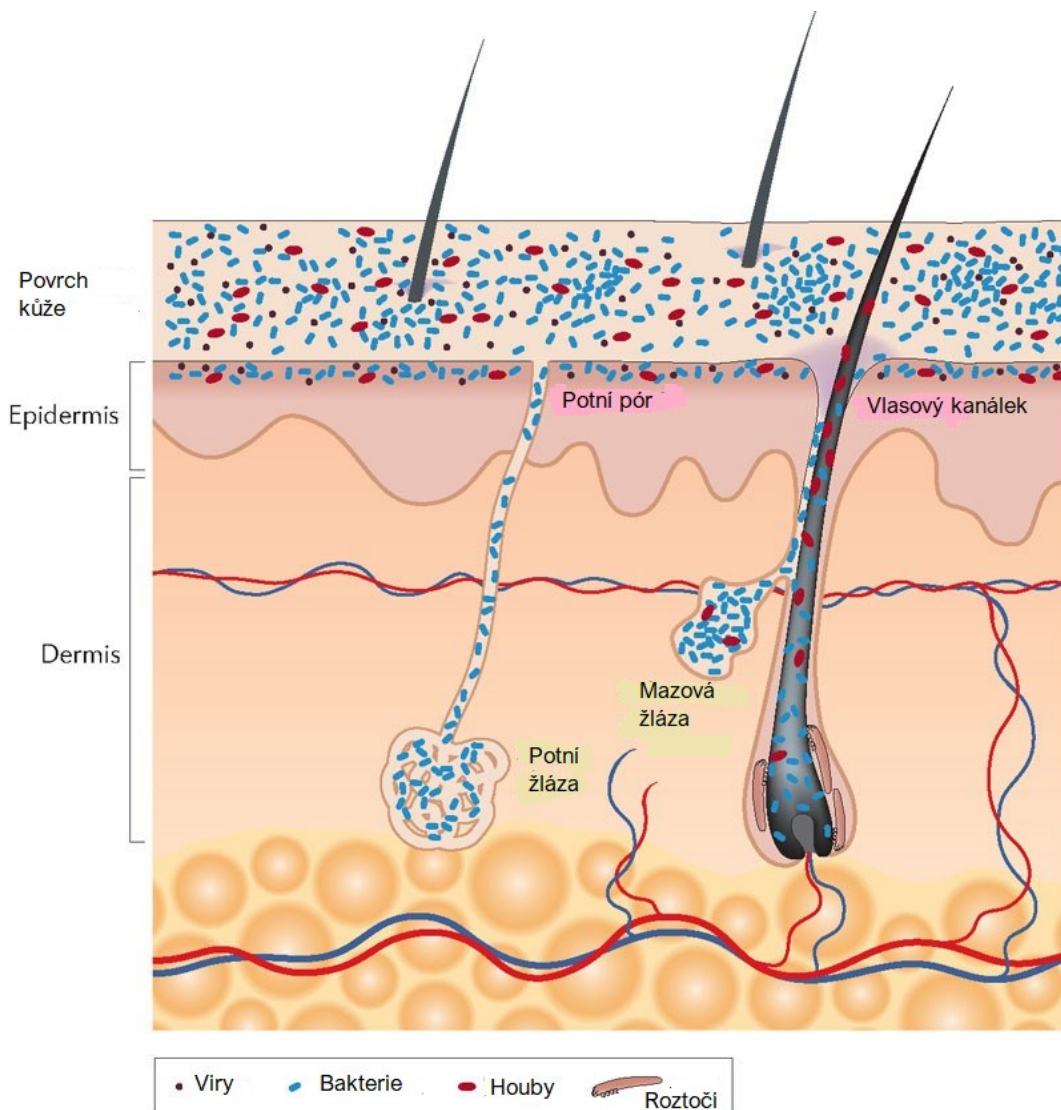
i mezi mikrobiálními druhy navzájem. Vzájemné působení mezi mikrobiálními druhy je důležité pro vývoj a údržbu zdravé mikroflóry. [40]

4.1 Charakterizace kožního mikrobiomu

Z různých studií vyplývá, že stejně jako se mikrobiom kůže výrazně liší od mikrobiomu gastrointestinálního traktu nebo ústní dutiny, liší se i mikrobiom kůže podle různých oblastí těla kde se nachází. Fyzikální a chemické vlastnosti pokožky stanovují určité typy mikroorganismů, které jsou přizpůsobeny konkrétnímu místu, které obývají. [44]

Na rozdíl od mikroorganismů ve střevech, role mikroorganismů a základní biologie kožní mikroflóry na povrchu kůže nebyla prozatím příliš prostudována. Existující klinické studie poskytující informace o četnosti a typech mikroorganismů na kůži a jejich funkci. V důsledku symbiotických vztahů mikroorganismů ve střevech a důležité potřeby pro lidské zdraví vyvstává potřeba i nadále rozšiřovat výzkum na oblast kůže. [46]

Na Obr. 8 vidíme schéma průřezu kůže s mikroorganismy a kožními parazity. Mikroorganismy a roztoči pokrývají povrch kůže a nacházejí se i ve vlasových folikulech a mazových žlázách. Jsou zde bakterie kulatého tvaru (*Proteobacteria* a *Staphylococcus*), komenzální houby (např. *Malassezia*) rostou jako větvíci se vlákna. Virové částice (např. papilomavirusy) žijí volně i v bakteriálních buňkách. Roztoči (*Demodex folliculorum* a *Demodex brevis*) jsou jedny z nejmenších členovců a žijí ve vlasových folikulech nebo v jejich blízkosti. [47]



Nature Reviews | Microbiology

Obr. 8 Schéma průřezu kůže s mikroorganismy a parazity [upraveno dle 47]

Stejný mikroorganismus může nabývat různých rolí v různých časech. Pochopení tohoto předpokladu a faktory, které určují typ symbiózy mikroorganismů a hostitelů, může vést k účinným léčebným a preventivním strategiím proti infekci kůže. Je také důležité pochopit, že rozdíl mezi tím, co považujeme za neškodnou mikroflóru nebo patogenní mikroorganismy často spočívá ve schopnosti kůže odolávat infekcím, a ne pouze na samotné vlastnosti mikroorganismu. Ochrana kožní mikroflóry závisí na fyzické bariéře, pH pokožky a aktivní syntéze kódovaného genomu obranné molekuly hostitele (například antimikrobiální peptidy, proteázy, lysozomy aj.). [46]

4.2 Rezidentní druhy mikroorganismů

Na mazových místech na obličejí dominuje *Propionibacterium* a druhy *Staphylococcus*. Na vlhkých místech, jako je podpaží, dominují druhy *Corynebacterium*, i když jsou také přítomny druhy stafylokoků. Naopak, v suchých lokalitách se vyskytují smíšené populace bakteriálních druhů β -*Proteobacteria* a *Flavobacteriales* jako součást rezidentní mikrobioty. [40]

Mezi další rezidentní bakterie patří *Staphylococcus hominis* a další koaguláza-negativní stafylokoky, následované koryneformními bakteriemi (propionibakterie, korynebakterie, dermobakterie a mikrokoky). Mezi houbami patří mezi nejčastější rod rezidentní kožní flóry, *Pityrosporum (Malassezia) spp.* Rezidentní flóra má dvě hlavní ochranné funkce: mikrobiální antagonismus a soutěžení o živiny v ekosystému. Obecně je rezidentní mikroflóra méně spojena s infekcemi, ale může způsobit infekce ve sterilních tělních dutinách, očích nebo na jiných místech neporušené kůže. [48]

4.3 Komenzální mikroorganizmy

Jedním ze způsobů, jak komenzální mikroorganizmy přispívají k imunitě hostitele, je inhibice růstu patogenních mikroorganismů. Přítomnost komenzálních mikroorganismů na kůži vede k boji o živiny a prostor, čímž výrazně ovlivňuje potenciál růstu, v případě kdy jsou patogeny zavedeny na povrch kůže. Kromě toho je známo velké množství bakterií, které přímo omezují růst konkurenčních mikroorganismů produkcí antimikrobiálních sloučenin. Tyto proteinové faktory, nazývané bakteriociny, jsou schopny inhibovat růst bakterií, které jsou příbuzné, aniž by ovlivňovaly organismy, které je produkují. [48]

Komenzální mikroorganizmy metabolizují hostitelské proteiny a lipidy a produkují bioaktivní molekuly, jako volné mastné kyseliny, antimikrobiální peptidy, moduly rozpustné ve fenolu, složky buněčné stěny a antibiotika. [49] Zejména moduly rozpustné ve fenolu mají silné antimikrobiální účinky, zvláště mají schopnost silně interagovat a způsobit únik mikrobiálních lipidových membrán. Tyto molekuly odvozené od *Staphylococcus epidermidis* selektivně zabíjejí kožní patogeny *Streptococcus pyogenes* a *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus epidermidis* má tedy několik zbraní, které přispívají k vrozenému imunitnímu obrannému systému přítomnému v lidské kůži. [50].

Další běžnou kožní komenzální bakterií je *Propionibacterium acnes*. Tato bakterie je schopna inhibovat růst MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*). *P. acnes* fermentuje glycerol, metabolit, který se přirozeně vyskytuje v lidské kůži, na řadu mastných kyselin s krátkým řetězcem, které mají za následek snížení intracelulárního pH v *S. aureus*, které brání jeho růstu. Tato zjištění naznačují, že *P. acnes* může působit jako prevence růstu patogenu v lidské kůži, a může být také použit jako nová probiotická léčba infekcí MRSA. [51]

4.4 Patogenní mikroorganismy

Patogenní mikroorganismy jsou takové mikroorganismy, které jsou schopny vyvolat v hostiteli onemocnění. Mají určité vlastnosti, které mohou způsobovat infekce nebo nemoci hostitelů v průběhu interakcí. Mají vyvinutou řadu mechanismů, které využívají oslabené odolnosti organismu vůči kolonizaci. Patogenitu mikroorganismů určuje povaha a typ virulenčních faktorů. Virulenčními faktory mohou být enzymy, toxiny, lipidy, exopolysacharidy atd. [52]

Mezi nejběžnější příklady patogenních mikroorganismů na kůži patří *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* a *Malassezia spp.* Všechny tyto mikroorganismy jsou známé kožní komenzální organismy, všechny však vykazují za určitých podmínek patogenní potenciál. Mezi další patří například *Trichophyton*, způsobující onychomykózu a *Tinea pedis*, *Corynebacterium minutissimum* způsobující erythrasma, papilomaviry způsobující bradavice, *Pseudomonas aeruginosa* způsobující syndrom zelených nehtů a infekci prstů na nohou. Přejít mezi zdravou a nemocnou pokožkou ovlivňují mnohé faktory jako imunitní systém, prostředí a genetická výbava. Existuje komplexní souhra mezi naším imunitním systémem a mikrobiomem. [53]

4.5 Druhy mikrobiální kolonizace

Přestože mezi rezidentní mikroflóru na pokožce patří bakterie, viry a houby, budeme se nyní věnovat bakteriím. Mezi nejlépe prozkoumané mikroorganismy patří *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Streptococcus* a *Pseudomonas* (Tab. 2). Jelikož je známo jen velmi málo informací o jiných bakteriálních druzích na kůži, hlavně kvůli jejich nízké četnosti a zjevné neškodnosti, zaměříme se na nejlépe prozkoumané druhy. [46]

Mikroorganismus	Klinická izolovaná detekce	Molekulární detekce
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Časté, příležitostně patogenní	častá
<i>Staphylococcus aureus</i>	Zřídka, obvykle patogenní	častá
<i>Staphylococcus warneri</i>	Zřídka, občas patogenní	Příležitostná
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Zřídka, obvykle patogenní	Příležitostná
<i>Streptococcus mitis</i>	Časté, příležitostně patogenní	častá
<i>Propionibacterium acnes</i>	Časté, příležitostně patogenní	časté
<i>Corynebacterium spp.</i>	Časté, příležitostně patogenní	časté
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	Časté, příležitostně patogenní	časté
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Zřídka, občas patogenní	časté

Tab. 2 Frekvence mikrobiální kolonizace pomocí metod klinické a molekulární detekce [46]

4.6 Druhy mikroorganismů

4.6.1 *Staphylococcus epidermis*

Staphylococcus epidermidis je nejběžnější kožní mikroorganismus. Je to grampozitivní kok. Jako hlavní mikroorganismus na kůži a sliznici představuje více než 90% aerobní rezidentní mikroflóry. Vytváří malé bílé nebo béžové kolonie 1–2 mm v průměru. Přes svou neškodnou povahu se *S. epidermis* objevil v uplynulých letech jako častá příčina nozokomiální infekce. Bakterie primárně infikují ohrožené pacienty včetně uživatelů drog, pacienty podstupující imunosupresivní terapii, pacienty s nemocí AIDS, předčasně narozené děti, aj. Vysokou náchylnost k infekci *S. epidermis* mají pacienti s nádorovými onemocněními jako karcinomy hlavy a krku a karcinomy prsu. [46]

Hlavní místa vstupu pro tyto infekce jsou cizí tělesa, jako jsou katétrů a implantáty. Po vstupu do těla se vytvoří biofilm virulentních kmenů *S. epidermidis*, který částečně chrání dělící se bakterie před imunitním systémem hostitele a exogenními antibiotiky. *S. epidermidis* může způsobit sepsi, nativní endokarditidu chlopně, nebo jiné subakutní nebo chronické stavy u rizikových skupin pacientů. Hlavní komplikací v rámci EU pro zvládnutí krevních infekcí způsobených *S. epidermidis* je nedostatečnost působení mnoha běžných antibiotických přípravků. Tvorba biofilmu snižuje přístup antibiotik k bakteriím. Pro běžnou zdravou populaci je *S. epidermis* neškodný. Infekce vznikají pouze ve spojení s konkrétní predispozicí hostitele. [46]

Přestože *S. epidermidis* málokdy poškozují keratinocyty v epidermis, produkuje tento mikroorganismus peptidy toxické pro jiné organismy, jako je *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus* skupiny A. Odstranění *S. epidermidis* (např. nadužíváním topického antibiotika) může být pro hostitele škodlivé ze dvou důvodů. Za prvé, odstranění *S. epidermidis* eliminuje endogenní bakterie a antimikrobiální peptidy, umožňuje potenciálně patogenním mikroorganismům, aby účinněji kolonizovaly pokožku. Za druhé, bez přítomnosti *S. epidermis* na kůži může být pro hostitele obtížnější odvrátit infekci. *S. epidermidis* podporuje u člověka vrozený imunitní systém. Pochopení jeho působení může rozvíjet naše znalosti o kožních nemocech a infekční náchylnosti k chorobám. [46]

4.6.2 *Staphylococcus aureus*

Je charakterizován kruhovými, zlatožlutými koloniemi a β -hemolýzou krevního agaru, koaguláza pozitivní. *S. aureus* je hlavní lidský patogen. Klinická onemocnění způsobená *S. aureus* sahají od menších kožních infekcí až po invazivní a život ohrožující nemoci. Mezi kožní infekce patří impetigo, folikulitidu, furunkuly a subkutánní abscesy. Mezi závažná onemocnění patří septická artritida, osteomyelitida, pneumonie, meningitida, septikémie a endokarditida. *S. aureus* může rovněž způsobovat infekce jako atopická dermatitida. Stejně jako *S. epidermidis* je i *S. aureus* častá příčina infekce u katetrizovaných pacientů. V současné době jsou infekce způsobené *S. aureus* léčeny antibiotiky a podle potřeby dochází k odstranění infikovaných implantátů. Dochází však k dramatickému nárůstu rezistence vůči antibiotikům včetně MRSA (methicilin-rezistentního *S. aureus*). [46]

Staphylococcus aureus nalezený na zdravé lidské kůži a v nosních pasážích působí spíše jako komenzální organizmus než jako patogen. Kmeny *S. aureus* produkují bakteriociny jako je staphylococcin 462, peptid zodpovědný za inhibici růstu ostatních kmenů *S. aureus*. Jelikož *S. aureus* je všeobecně považován za patogen, výzkumy se zaměřují na jeho virulenci, čímž se minimalizují studie zaměřené na jeho roli mikroorganismu běžné mikroflóry. [46]

4.6.3 *Propionibacterium acnes*

P. acnes je obvykle příčinou Acne vulgaris. Je to aerotolerantní, anaerobní, grampozitivní bakterie, která produkuje kyselinu propionovou, jako metabolický vedlejší produkt. Tato bakterie sídlí v mazových žlázách, získává energii z tuku, a je náchylná k ultrafialovému záření kvůli přítomnosti endogenních porfyrinů. *Propionibacterium acnes* se podílí na různých projevech jako je folikulitida, sarkoidóza a systémové infekce, což má za následek endokarditidu. Příležitostně způsobuje *P. acnes* SAPHO syndrom (synovitida, akné, pustulóza, hyperostóza a osteitida). V mazových žlázách *P. acnes* produkuje volné mastné kyseliny jako výsledek metabolismu triacylglycerolů. Tyto vedlejší produkty mohou způsobit podráždění folikulární stěny a indukují zánět neutrofilní chemotaxi do místa určení.

Zánět způsobený poškozením tkáně hostitele, případně produkce imunogenních faktorů způsobených *P. acnes* následně vede ke kožním infekcím. [46]

4.6.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa je gramnegativní aerobní bakterie ve tvaru tyčinek. Produkuje fluorescenční molekuly. Právě schopnost fluorescence a sladký zápach umožňují snadné odlišení této bakterie od jiných gramnegativních bakterií. Podobně jako *S. epidermis* je běžnou součástí kožní mikroflóry člověka a součástí dutiny ústní. Bakterie *P. aeruginosa* může být nebezpečná převážně pro pacienty s AIDS, cystickou fibrózou, bronchiektázií, hematologickými a onkologickými onemocněními. Pacienti jsou ohroženi převážně při hospitalizaci v nemocnicích. Hlavní místo vstupu je přes poškozenou pokožku. Následkem pak mohou být respirační infekce, dermatitidy nebo hlubší infekce měkkých tkání. Při

dermatidě se k léčbě používá lokálních antibiotik. Při těžkých infekcích se antibiotika podávají v injekční formě. [46]

5 HYGIENA RUKOU

Správné mytí rukou je jedním z nejdůležitějších prostředků prevence přenosu patogenních mikroorganismů a snížení infekcí ve zdravotnických zařízeních, veřejných místech i domácnostech a zabráníme jím šíření mnoha nemocí. Správná hygiena rukou snižuje riziko přenosu chřipky a infekci související se zdravotní péčí. Mytí rukou by mělo následovat vždy po použití toalety, po kašlání a smrkání, před manipulací s jídlem a v okamžiku ušpinění rukou. [54]

Lidské a zvířecí výkaly jsou zdrojem choroboplodných zárodků, jako je *Salmonella* nebo *Escherichia coli* a norovirů, které způsobují průjemy a mohou šířit některé respirační infekce jako je adenovirus a onemocnění rukou a nohou. Tyto druhy choroboplodných zárodků se mohou dostat na ruce po použití toalety nebo po výměně plen. Dále také například po manipulaci se syrovým masem, na kterém je očima neviditelné množství zvířecích výkalů. Bakterie se na rukou uchytí i tehdy, když se člověk dotkne předmětu, na kterém jsou již bakterie přítomny, protože na tento předmět někdo zakašlal, kýchl nebo se ho dotkl jiným kontaminovaným předmětem. Když se tyto zárodky dostanou na pokožku rukou a nevymyjí se, mohou být přeneseny z člověka na člověka a způsobit nemoc. [55]

V rozvojových zemích hraje hygiena rukou zásadní roli v prevenci proti nákazám a nemocem jako např. průjem. Mytí rukou je považováno za jedno z nejkompexnějších preventivních opatření. V rozvinutých zemích může být nedostatečná osobní hygiena rukou méně život ohrožující, nicméně může přispět ke zvýšení míry infekce, zejména v pandemických situacích. V tomto ohledu může hygiena rukou ochránit více než milion lidí ročně před průjmovým onemocněním a může zabránit virovým infekcím, jako je chřipka. [56]

Ve zdravotnických zařízeních je hygiena důležitá s ohledem na bezpečnost pacienta. Velmi důležitá je hygiena rukou rovněž ve školských zařízeních, kde se pohybuje velké množství osob a v mateřských a základních školách by hygiena rukou měla patřit k základnímu vzdělávání dětí. [56]

5.1 Nemoci způsobené špatnou hygienou rukou

5.1.1 Hepatitida A

Hepatitida A je virové infekční zánětlivé onemocnění jater. Říká se jí též infekční žloutenka nebo nemoc špinavých rukou. Infekce je častá v zemích s nízkým hygienickým standardem a nedostatečnými zdroji pitné vody. Ročně onemocní hepatitidou A okolo 1,4 milionu lidí. Virus hepatitidy A se přenáší požitím kontaminované potravin nebo vody stolicí člověka již infikovaného hepatitidou A nebo přímým kontaktem s infekční osobou. Velmi často se jedná o epidemie. Nejúčinnější způsob boje s touto nemocí je pravidelné mytí rukou a konzumace správně tepelně zpracovaných potravin. Nejlepší prevencí je očkování. [57]

5.1.2 Chřipka

Chřipka (sezónní chřipka) je virové onemocnění způsobené virem chřipky typu A, B a C. Mezi příznaky patří náhlý nástup horečky, suchý kašel, bolest hlavy, bolest svalů a kloubů, bolest v krku a výtok z nosu. Kašel může být závažný a může trvat dva i více týdnů. Většina lidí se z horečky a dalších příznaků zotaví během týdne, aniž by vyžadovala lékařskou péči. Chřipka však může ve vysoce rizikových skupinách způsobit vážné onemocnění nebo smrt. Nejlepší prevencí před chřipkou je očkování. Dále důkladné mytí rukou v teplé vodě alespoň pětkrát denně po dobu 20 vteřin.

K pandemii dochází, když se objeví virus chřipky, vůči kterému nemá většina lidí imunitu, protože se tento virus liší od jakéhokoli předchozího kmene. To umožňuje snadný a rychlý přenos mezi lidmi. [58]

5.1.3 Průjmová onemocnění

Průjmová onemocnění patří mezi nejčastější infekční onemocnění. Nejběžnější jsou průjmy bakteriální a virové. Mezi nejzávažnější průjmové onemocnění u dětí patří akutní gastroenteritida. Jedná se o virové onemocnění. Začíná horečkou a zvracením, které trvá 1 až 2 dny, následuje průjem po dobu 4 až 5 dnů. Mohou se vyskytnout i respirační obtíže. Vzhledem k tomu, že neexistuje specifická léčba, je rozhodující prevence. Důležité je vyhybat se kontaminovaným potravinám a vodě a dále pak důkladné a časté mytí rukou. [59]

Jako prevence výše uvedených onemocnění a dalších virových a bakteriálních chorob je důležité nejen mytí rukou vodou a mýdlem po dobu alespoň 20 vteřin, ale dle doporučení WHO i ošetření rukou bezoplachovým alkoholovým přípravkem. Takovýto roztok by měl obsahovat jeden nebo více druhů alkoholu, případně další aktivní látky, jako peroxid vodíku a změkčovadla (pantenol, glycerin). Účinnost je široká a okamžitá. Je však závislá na technice aplikace, množství roztoku a době ošetření rukou. Pro dosažení nejlepšího výsledku je doporučováno použít 2,4 až 3 ml roztoku, kterým se ruce ošetřují po dobu 25 až 30 sekund. [60]

5.2 Technika mytí rukou

Světová zdravotnická organizace (WHO) informuje obyvatelstvo, proč je mytí rukou důležité a jaká je správná technika mytí rukou. Správné mytí rukou ochraňuje před infekcí. Doporučení WHO je následující:

- Myjte si ruce pravidelně
- Myjte si ruce mýdlem a vodou, poté je osušte
- Pokud nemáte v dosahu vodu a mýdlo, použijte bezoplachový lihový roztok [61]

5.2.1 Jak si správně mýt ruce

Správnou techniku mytí rukou naleznete na Obr. 9



Obr. 9 Doporučený postup mytí rukou podle Světové zdravotnické organizace [upraveno dle 61]

6 PŘEHLED TESTOVANÝCH ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK

Pro účely této práce bylo vybráno jako aktivní složka několik esenciálních olejů a jeden rostlinný olej. Využití antimikrobiálních účinků esenciálních olejů je považováno za přírodní řešení oproti syntetickým látkám. Esenciální oleje zvyšují trvanlivost produktů a snižují obavy spotřebitelů ohledně používání syntetických konzervačních látek. [31]

6.1 Esenciální olej hřebíček (INCI: *Syzygium aromaticum*)

Botanický název: *Syzygium aromaticum*

Synonyma: *Eugenia caryophyllata*, *Eugenia aromatica* [62]

Hřebíček je jedním z nejpoužívanějších a nejcennějších koření Orientu. Patří do čeledi *Myrtaceae*. Jeho původ je ve východní části Indonésie, na sopečných ostrovech provincie Severní Moluky. Hřebíček je stálezelený strom, který dosahuje výšku od 10 do 20 metrů, s velkým oválnými listy a květy karmínové barvy. Obsahuje 14-20% těkavého oleje, který zahrnuje eugenol, acetyleugenol, seskviterpeny (α - a β -karyofyleny) a malé množství esterů, ketonů a alkoholů. Hřebíček rovněž obsahuje taniny, sitosterol a stigmasterol. [63]

Hřebíčkový olej se obvykle získává parní destilací květních pupenů. [62] Má biologické účinky, jako jsou antibakteriální, fungicidní, insekticidní a antioxidační a používá se tradičně jako ochucovadlo a antimikrobiální složka v potravinách. Kromě toho je hřebíčkový olej používán jako antiseptikum při orálních infekcích. Vysoké hladiny eugenolu obsažené v hřebíčkovém éterickém oleji jsou zodpovědné za jeho silné biologické a antimikrobiální aktivity. Fenolické sloučeniny eugenolu a hřebíčkového esenciálního oleje mohou denaturovat proteiny a reagovat s fosfolipidy buněčné membrány, což mění jejich permeabilitu a inhibuje velké množství gramnegativních a grampozitivních bakterií, jakož i různých typů kvasinek. [64]

Eugenol, který je fenolická sloučenina, vykazuje vynikající antimikrobiální aktivitu proti standardnímu rozsahu bakterií, jako je: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*. [63] Hlavní složky esenciálního oleje hřebíček jsou uvedeny v Tab. 3.

Složka	Zastoupení v %
Eugenol	73,5–96,9
β -Caryophyllene	0,6-12,4
Eugenyl acetate	0,5-10,7
α -Caryophyllene	0,4-1,4
Isoeugenol	0,1-0,2
Methyleugenol	0-0,2

Tab. 3 Hlavní složky esenciálního oleje hřebíček [62]

6.2 Esenciální olej tymián (INCI: *Thymus vulgaris*)

Botanický název: *Thymus vulgaris*

Tymián je populární aromatická bylina patřící do čeledi Lamiaceae. Původ je ve Středomoří, severní Africe a některých asijských státech. Je to polokeř, vysoký 20 až 30 cm, dřevnaté lodyhy jsou hustě obrostlé drobnými listy. Kvete od května do září. Používá se velmi často jako aromatická látka pro různé potravinářské výrobky. Hlavní fenolické složky jsou thymol a carvacrol. Tymián má antibakteriální, antitusivní a antiseptické účinky. Výtěžek esenciálního oleje závisí na klimatických podmínkách a nadmořské výšce, ve které rostlina roste. Na klimatických podmínkách je také závislé složení esenciálního oleje, zvláště kompozice těkavých složek. [65]

Esenciální olej tymián se získává parní destilací kvetoucích vršků rostliny. Díky antimikrobiálním vlastnostem má velké využití ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu. [66]

Hlavní složky esenciálního oleje tymián jsou uvedeny v Tab. 4.

Složka	Zastoupení v %
Thymol	27,6
(+)-Limonene	24,2

Carvacrol	20,5
p-Cymene	7,0
Linalyl propanoate	2,7
Linalool	1,7
Camphene	1,2
α -Pinene	1,1
3-Octanol	1,0

Tab. 4 Hlavní složky esenciálního oleje tymián [62]

6.3 Esenciální olej levandule (INCI: *Lavandula angustifolia*)

Botanický název: *Lavandula angustifolia*

Synonymum: *Lavandula officinalis*, *Lavandula vera* [62]

Levandule je jednou z nejpopulárnějších rostlin používaných ve farmaceutickém, potravinářském a kosmetickém průmyslu. Patří do čeledi *Lamiaceae*. [67] Roste převážně ve Středomoří, hlavními producenty jsou Francie a Bulharsko. Je to polokeř, vysoký 20 až 50 cm, koncem jara a v létě vytváří klasovité květenství tmavomodré až fialové barvy. Levandule má velké přínosy v léčitelství jako analgetikum a anestetikum. Levandulový olej má příznivé účinky v léčbě nemocí zažívacího traktu, má antibakteriální účinky, působí jako antimykotikum a antioxidant. Esenciální olej je získáván destilací květů a listů rostliny. Tvoří ho směs těkavých látek, zejména monoterpeny a seskviterpeny. Hlavní složky esenciálního oleje jsou mimo jiné linalool, linalool acetát, geraniol a borneol. Složení esenciálního oleje závisí především na druhu rostliny, dále na environmentálních faktorech jako jsou expozice slunci, stáří rostliny nebo metoda získávání oleje. [68]

Esenciální olej levandule má antimikrobiální účinky hlavně díky složkám jako je linalool, camphor a 1,8-cineol. [69]

Hlavní složky esenciálního oleje levandule pocházejícího z Francie jsou uvedeny v Tab. 5.

Složka	Zastoupení v %
Linalool	44,4
Linalyl acetate	41,6
Lavandulyl acetate	3,7
β -Caryophyllene	1,8
Terpinen-4-ol	1,5
Borneol	1,0
α -Terpineol	0,7
(Z)- β -Ocimene	0,3
3-Octanone	0,2
(E)- β -Ocimene	0,1

Tab. 5 Hlavní složky esenciálního oleje levandule pěstované ve Francii [62]

6.4 Esenciální olej čajovník (INCI: *Melaleuca alternifolia*)

Botanický název: *Melaleuca alternifolia*

Esenciální olej čajovník je těkavý olej získávaný z původní australské rostliny *Melaleuca alternifolia*, nazývané rovněž Tea Tree. Patří do čeledi *Myrtaceae*. Pro své antimikrobiální vlastnosti se používá jako aktivní složka v přípravcích pro léčbu kožních infekcí. Esenciální olej se získává destilací z listů stromu keřovitého vzrůstu, Kajeputu střídavolistého. Strom dorůstá do výšky až 5 metrů, má silný, zkroucený kmen. Čajovníky jsou dnes pěstovány na plantážích. První sklizeň je od jednoho do tří let od zasazení sazenice v závislosti na klimatu a rychlosti růstu rostlin. [70]

Čajovník obsahuje terpenické uhlovodíky, především monoterpeny, seskviterpeny a jejich alkoholy. [70] Největší přínos pro antimikrobiální aktivitu má terpinen-4-ol. [71]

Největší pozornost je upírána na antimikrobiální účinky rostliny. Čajovník byl používán již domorodými obyvateli, kteří rozdrcené lístky čajovníku vdechovali k léčbě kašle a nachlazení nebo si je přikládali na rány.

Čajovník má nejen antibakteriální, ale i antifungální a antivirové účinky. [70] Hlavní složky esenciálního oleje čajovník jsou uvedeny v Tab. 6.

Složka	Zastoupení v %
Terpinen-4-ol	39,8
γ -Terpinene	20,1
α -Terpinene	9,6
Terpinen-4-ol	3,5
1,8-Cineole	3,1
α -Terpineol	2,8
p-Cymene	2,7
α -Pinene	2,4
(+)-Aromadendrene	2,1
Ledene	1,8
δ -Cadinene	1,6
(+)-Limonene	1,1

Tab. 6 Hlavní složky esenciálního oleje čajovník. [62]

6.5 Nimbový olej (INCI: *Azadirachta indica*)

Botanický název: *Azadirachta indica*

Zaderah indický, neboli nimbovník, z čeledi *Meliaceae*, je rychle rostoucí listnatý strom původem z Indie. Dosahuje výšky 15 až 20 metrů, listy jsou dlouhé 5 až 7 centimetrů. V kosmetickém a farmaceutickém průmyslu se používá jednak nimbový prášek, což je prášek ze sušených a drcených listů, tak i nimbový olej, získávaný lisováním plodů. Prášek i olej mají velmi intenzivní charakteristickou vůni. [72]

Plody nimbovníku obsahují 30 až 50 % oleje a zároveň mnoho účinných látek. Z mastných kyselin převažuje kyselina olejová (59,1 %), dále pak kyselina stearová (17,4 %), palmitová (17,8 %) a linolová (18,7 %). Procentuální zastoupení mastných kyselin se liší v závislosti na regionu, kde strom roste a na klimatických podmínkách. [73]

Chemické vlastnosti nimbového oleje jsou uvedeny v Tab. 7.

Vlastnosti	Hodnoty
Obsah oleje v semenech	$44.0 \pm 1.3 \%$
Číslo zmýdelnění	$167.0 \pm 1.4 \text{ mg KOH g}^{-1}$
Peroxidové číslo	$5.3 \pm 0.5 \text{ meq O}_2 \text{ kg}^{-1}$
Jodové číslo	$75 \pm 1 \text{ g I}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$
Nezmýdelnitelné složky	$1.0 \pm 0,1 \%$
Obsah fosfolipidů	$0.30 \pm 0.1 \%$

Tab. 7 Chemické vlastnosti nimbového oleje [71]

Nimbový olej má antimikrobiální účinky díky metabolitům azadirachtin, nimbin a salannin. [72] Obsah těchto metabolitů se liší v závislosti na klimatických podmínkách, teplotě a vlhkosti. Největší zastoupení má pak azadirachtin. Většinou se obsah azadirachtinu pohybuje v rozmezí 556,9 až 3030,8 mg.kg⁻¹ semen [74]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 CÍL PRÁCE

Cíle této práce jsou následující:

- Shrnout dostupné poznatky týkající se kůže a mikrobiomu
- Popsat problematiku hygieny těla s důrazem na hygienu rukou a důležitost a správnou techniku hygieny rukou
- Charakterizovat použité antimikrobiální látky
- Porovnat antimikrobiální účinky přírodních mýdel bez antimikrobiální složky s přírodními mýdly s antimikrobiální složkou a antimikrobiální účinek čisté antimikrobiální složky.

8 MATERIÁL A METODY PŘÍPRAVY VZORKŮ MÝDEL

8.1 Výroba vzorků mýdel

Pro účely testování bylo vyrobeno celkem 18 různých toaletních mýdel. Čtyři mýdla byla vyrobena bez antimikrobiální složky, čtrnáct mýdel bylo vyrobeno s antimikrobiální složkou. Mýdla byla vyrobena metodou za studena.

8.2 Výroba vzorků mýdel

Jednoplátýnkový vaříč

Hrnc z nerezavějící oceli

Ponorný mixér

Stěrka

Předvážky

Teploměr

Kádinka

Lžičky a lopatky

Silikonové formičky

Brýle a rukavice



Obr. 10 Přístroje a vybavení k výrobě mýdel

8.3 Výroba vzorků mýdel

Nejprve byl odvážen hydroxid sodný. Skleněná kádinka byla položena na váhu a bylo odváženo předepsané množství destilované vody. Následně byl do vody přidán hydroxid sodný a důkladně rozmíchán do úplného rozpuštění.

Nerezový hrnec byl položen na váhu a bylo do něj přidáno předepsané množství pevných tuků, které budou přítomny v počátečním procesu zmýdelnění. Poté byl hrnec položen na vařič a tuky byly za občasného míchání rozpuštěny. Poté byly k těmto tukům přility předem odvážené kapalné oleje. Poté, co byla v hrnci s oleji i v nádobě s louhem docílena teplota 35 °C, začal se pomalu a za stálého míchání louh vlévat do hrnce s oleji. Poté bylo v míchání pokračováno tyčovým mixérem. Hmota se začala zakalovat a houstnout. Pokud bylo vyráběno mýdlo s esenciálním olejem jako antimikrobiální složkou, byla tato složka přidána v tuto chvíli. Poté bylo pokračováno v míchání až do vytvoření homogenní hmoty až do stopy, což znamená, že kapky mýdla, které dopadly na hladinu, zanechaly na hladině viditelné stopy.



Obr. 11 Míchání tyčovým mixérem do husté konzistence

Jakmile byla mýdlová hmota homogenní a stejnoměrná na pohled, byla vylita do silikonových formiček. Formičky byly zakryty a zabaleny do deky, kde byly ponechány po dobu 24 hodin. Poté bylo mýdlo z formiček vyndáno a ponecháno na dřevěné podložce pro dozrání po dobu šesti týdnů.



Obr. 12 Vzorek číslo 16, mýdlo s aktivní složkou, 2 % esenciálního oleje levandule

8.4 Složení vzorků

Ke každému mýdлу byl v počítačovém programu vypracován podklad pro výrobu mýdla. [75] Pro každé mýdlo bylo zadáno množství olejů, tuků, procentuální zastoupení vody, aktivní složky a přetučnění. Na Obr. 13 je jako příklad uveden podklad pro výrobu vzorku číslo 16, což bylo mýdlo se 2 % esenciálního oleje z levandule.

View/Print Recipe http://www.soapcalc.net/calc/ViewRecipe

SoapCalc © Recipe Name: VZOREK 16 New INCI Names Print Recipe

Total oil weight	100 g	Sat : Unsat Ratio	39 : 61
Water as percent of oil weight	30.00 %	Iodine	62
Super Fat/Discount	5 %	INS	138
Lye Concentration	31.013 %	Fragrance Ratio	20
Water : Lye Ratio	2.2245:1	Fragrance Weight	2.00 g

	Pounds	Ounces	Grams
Water	0.066	1.06	30.00
Lye - NaOH	0.030	0.48	13.49
Oils	0.220	3.53	100.00
Fragrance	0.004	0.07	2.00
Soap weight before CP cure or HP cook	0.321	5.13	145.49

#	✓	Oil/Fat	%	Pounds	Ounces	Grams
1		Olive Oil pomace	50.00	0.110	1.76	50.00
2		Shea Butter	30.00	0.066	1.06	30.00
3		Coconut Oil, 76 deg	20.00	0.044	0.71	20.00
Totals			NaN	0.220	3.53	100.00

Soap Bar Quality	Range	Your Recipe	Lauric	Myristic
Hardness	29 - 54	38	10	4
Cleansing	12 - 22	13	10	10
Conditioning	44 - 69	60	14	14
Bubbly	14 - 46	13	0	0
Creamy	16 - 48	24	51	51
Iodine	41 - 70	62	8	8
INS	136 - 165	138	1	1

Additives	Notes
EO LEVANDULE	Mýdlo s aktivní složkou Číslo 16

Show Graph Hide Graph Print Recipe

Obr. 13 Výpočet pro výrobu vzorku číslo 16

V Tab. 8 jsou uvedeny všechny testované vzorky. Nejprve je uvedeno číslo vzorku, poté název vzorku a složení. U složení vzorku jsou uvedeny jednotlivé složky v gramech. Vychází z ustanovení, že u každého druhu mýdla bude použito 100 gramů tuků nebo olejů. Pod tímto údajem je u každého vzorku uvedeno složení dle nomenklatury INCI.

Číslo vzorku	Název vzorku	Složení
1	Mýdlo bez aktivní složky	Olivový olej pomace 100 g Voda 30 g NaOH 12,7 g Ingredients (INCI): Sodium Olivate, Aqua.
2	Mýdlo bez aktivní složky	Bambucké máslo 100 g Voda 30 g NaOH 12,1 g Ingredients (INCI): Sodium Shea Butterate, Aqua.
3	Mýdlo bez aktivní složky	Olivový olej pomace 50 g Bambucké máslo 30 g Kokosový tuk 20 g Voda 30 g NaOH 13,5 g Ingredients (INCI): Sodium Olivate, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate.
4	Mýdlo s aktivní složkou	Olivový olej pomace 50 g Bambucké máslo 30 g Kokosový tuk 20 g Voda 30 g NaOH 13,5 g

		<p>Esenciální olej tymián 2 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivate, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Thymus Vulgaris Oil, Limonene, Linalool.</p>
5	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej tymián 4 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivate, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Thymus Vulgaris Oil, Limonene, Linalool.</p>
6	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej tymián 8 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivate, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Thymus Vulgaris Oil, Limonene, Linalool.</p>
7	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p>

		<p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej čajovník 2 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivata, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Melaleuca Alternifolia Oil, Limonene.</p>
8	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej čajovník 4 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivata, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Melaleuca Alternifolia Oil, Limonene.</p>
9	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej čajovník 8 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivata, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Melaleuca Alternifolia Oil, Limonene.</p>
10	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p>

		<p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej hřebíček 2 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Oliviate, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Syzygium Aromaticum Oil, Eugenol, Isoeugenol.</p>
11	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej hřebíček 4 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Oliviate, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Syzygium Aromaticum Oil, Eugenol, Isoeugenol.</p>
12	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej hřebíček 8 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Oliviate, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Syzygium Aromaticum Oil, Eugenol, Isoeugenol.</p>
13	Mýdlo bez aktivní	<p>Kokosový tuk 100 g</p>

	složky	Voda 30 g NaOH 14,6 g Ingredients (INCI): Sodium Cocoate, Aqua.
14	Mýdlo s aktivní složkou	Olivový olej pomace 25 g Nimbový olej 25 g Bambucké máslo 30 g Kokosový tuk 20 g Voda 30 g NaOH 13,5 g Ingredients (INCI): Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Olivate, Sodium Neemate (Melia Azadirachta Seed Oil), Sodium Cocoate.
15	Mýdlo s aktivní složkou	Nimbový olej 50 g Bambucké máslo 30 g Kokosový tuk 20 g Voda 30 g NaOH 13,6 g Ingredients (INCI): Sodium Neemate (Melia Azadirachta Seed Oil), Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate.
16	Mýdlo s aktivní složkou	Olivový olej pomace 50 g Bambucké máslo 30 g Kokosový tuk 20 g Voda 30 g NaOH 13,5 g Esenciální olej levandule 2 g

		Ingredients (INCI): Sodium Olivete, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Lavandula Angustifolia Oil, Linalool.
17	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej levandule 4 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivete, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Lavandula Angustifolia Oil, Linalool.</p>
18	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Olivový olej pomace 50 g</p> <p>Bambucké máslo 30 g</p> <p>Kokosový tuk 20 g</p> <p>Voda 30 g</p> <p>NaOH 13,5 g</p> <p>Esenciální olej levandule 8 g</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Olivete, Aqua, Sodium Shea Butterate, Sodium Cocoate, Lavandula Angustifolia Oil, Linalool.</p>
19	Mýdlo s aktivní složkou	<p>Protex Ultra (běžná maloobchodní síť)</p> <p>Výrobce: Colgate-Palmolive</p> <p>Ingredients (INCI): Sodium Palmate, Sodium Tallowate, Aqua, Sodium Palm Kernelate, Glycerin, Stearic Acid, Parfum, Phenoxyethanol, Sodium Chloride, Pentasodium Pentetate, Pentaerythryl Tetra-</p>

		Di-T-Butyl Hydroxyhydrocinnamate, Benzyl Alcohol, Benzyl Salicylate, Citronellol, Coumarin, Eugenol, Limonene, Linalool, CI 15510, CI 47005, CI 77891.
20	Esenciální olej	Esenciální olej hřebíček 100 % Botanický název: <i>Syzygium aromaticum</i>
21	Esenciální olej	Esenciální olej čajovník 100 % Botanický název: <i>Melaleuca alternifolia</i>
22	Esenciální olej	Esenciální olej tymián 100 % Botanický název: <i>Thymus vulgaris</i>
23	Přírodní olej	Přírodní nimbový olej LZS 100 % Ingredients (INCI): Melia Azadirachta Seed Oil.
24	Esenciální olej	Esenciální olej levandule 100 % Botanický název: <i>Lavandula angustifolia</i>

Tab. 8 Seznam a složení všech testovaných vzorků

9 MATERIÁL A METODY TESTOVÁNÍ ANTIBAKTERIELNÍCH VLASTNOSTÍ

9.1 Bakteriální kmeny

Antimikrobiální účinek přírodních mýdel a účinných složek byl testován na dvou bakteriálních kmenech, které byly získány z České sbírky mikroorganismů Brno (CCM – Czech Collection of Microorganisms).

- Grampozitivní kmeny:

Staphylococcus aureus subsp. *aureus* CCM 4516

- Gramnegativní kmeny:

Escherichia coli CCM 4517

9.2 Testované přípravky

K testu bylo vybráno celkem 24 vzorků, které byly buď vyrobeny pro účely tohoto testování, nebo byly zakoupeny v běžné maloobchodní síti, případně zakoupeny ve velkoobchodní síti.

Jednalo se o:

- 4 přírodní mýdla bez antibakteriální složky
- 14 přírodních mýdel s antibakteriální složkou
- 1 antibakteriální toaletní mýdlo
- 4 esenciální oleje
- 1 přírodní olej lisovaný za studena

9.3 Přístroje a vybavení

Analytické váhy

Automatické mikropipety

Horkovzdušná sušárna

Mikrobiologický inkubátor

Mikrovlákná trouba

Chladnička

Laboratorní sklo

Očkovací pomůcky

Petriho misky

Plastové a skleněné zkumavky

Plynový kahan

Třepačka

9.4 Kultivační média

9.4.1 Plate count-agar

Složení:

Agar 9.0 g.l⁻¹

Dextrose 1.0 g.l⁻¹

Tryptone 5.0 g.l⁻¹

Yeast extract 2.5 g.l⁻¹

Kultivační médium bylo zakoupeno od společnosti Sigma-Aldrich.

9.5 Roztoky

Fyziologický roztok

Nutrient broth 500 x zředěná výživa pro buňky (Oxoid)

Složení:

Lab – Lemco prášek 1.0 g.l⁻¹

Kvasnicový extrakt 2.0 g.l⁻¹

Peptone 5.0 g.l⁻¹

NaCl 5.0 g.l⁻¹

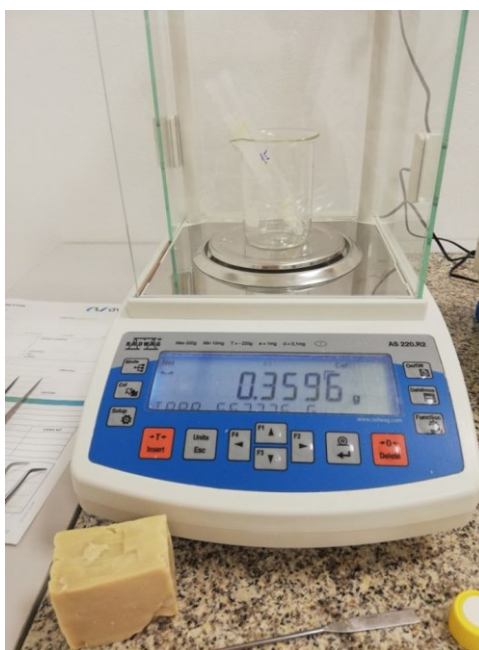
pH 7.4 ± 0.2 při teplotě 25°C

Nutrient broth je živný agar, který postrádá ztužující činidlo (agarový prášek). Při pokojové teplotě zůstává v kapalné formě a používá se k udržování zásob mikroorganismů. Obecně se používá pro pěstování náročných mikroorganismů.

9.6 Metoda stanovení citlivosti k antimikrobiálním látkám

9.6.1 Příprava vzorků

Vzorek náhodně vybraného mýdla byl zvážen a poté byl použit k umytí rukou technikou doporučenou WHO. Poté byl vzorek mýdla opět zvážen. Tento postup byl opakován 3x a následně stanoven průměrný rozdíl, který činil 0,358 g. Tímto bylo určeno, že pro jedno umytí rukou je zapotřebí přibližně 0,358 g mýdla, čímž byla určena hmotnost každého vzorku. Do plastových zkumavek byly odebrány vzorky testovaných přípravků.

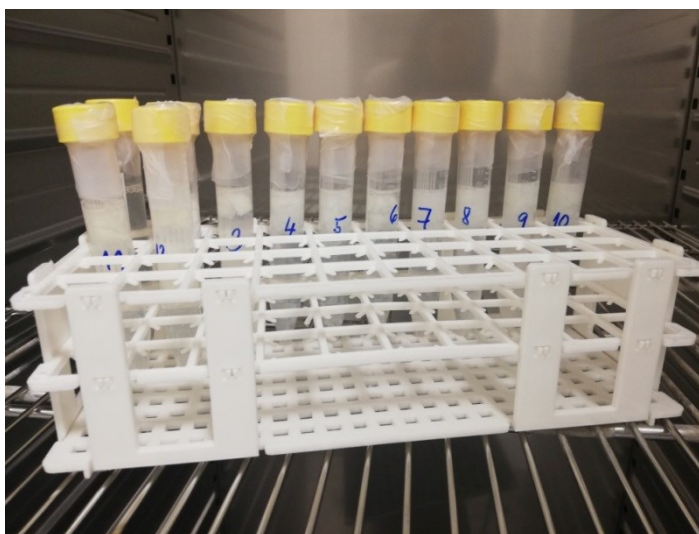


Obr. 14 Vážení vzorků mýdel

9.6.2 Příprava suspenze testovaných bakteriálních kmenů

Do předem připravené 500 x zředěné výživy pro buňky Nutrient broth, byly zaočkovány mikroorganismy *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Obě kultury byly zaočkovány z Petriho misky a kličkou byly oba mikroorganismy postupně zamíchány do jedné láhve s Nutrient broth. Do každé zkumavky se vzorkem bylo následně odpipetováno 15 ml takto

přípraveného roztoku. Poté byla každá zkumavka protřepána na Vortexu a následně kultivována za stálého protřepávání po dobu 24 hodin.



Obr. 15 Vzorky mýdla zalité roztokem se zaočkovánými mikroorganismy

9.6.3 Stanovení inhibičního účinku plotnovou metodou

Bylo připraveno 24 řad zkumavek, v každé řadě 5 zkumavek. Každá řada byla určena na jeden testovaný vzorek. Do každé zkumavky bylo odpipetováno 9 ml fyziologického roztoku. Pak byl v první řadě do první zkumavky odpipetován 1 ml bakteriální suspenze, kultivované přes noc. Následně byl z první zkumavky odpipetován 1 ml roztoku do druhé zkumavky a tak dále až do poslední zkumavky dle desítkového ředění. Každá zkumavka byla protřepána na vortexu.



Obr. 16 Pipetování fyziologického roztoku

Byly připraveny a popsány Petriho místy. Pro kontrolu byly pro každý vzorek připraveny dvě misky. Poté byl dle označení misek do každé misky odpipetován 1 ml roztoku z příslušné zkumavky. Všechny vzorky v Petriho miskách byly zality Plate count-agarem. Po zaschnutí byly misky kultivovány v termostatu po dobu 24 hodin při teplotě 35 °C. Po kultivaci byl na každé misce spočítán počet narostlých kolonií a stanoven v jednotkách CFU/ml (Colony Forming Units).

10 VÝSLEDKY

10.1 Antibakteriální účinky testovaných mýdel

Na základě výsledků uvedených v Tab. 9 lze vyvodit, že na vybrané bakteriální kmeny *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* působila všechna mýdla prokazatelně inhibičně. Téměř všechny vzorky vykazovaly zvýšenou antibakteriální aktivitu oproti blanku. Nejzřetelnější antimikrobiální aktivita byla zaznamenána u mýdla s nimbovým olejem jako antibakteriální složkou, dále u mýdla s esenciálním olejem levandule a mýdla s esenciálním olejem tymián. V tabulce je uveden počet kolonií narostlých v agaru na 1 ml.

Číslo vzorku	Druh přípravku	CFU/ml (počet kolonií na 1 ml)
1	Mýdlo bez aktivní složky	$2,7 \times 10^5$
2	Mýdlo bez aktivní složky	$1,7 \times 10^5$
3	Mýdlo bez aktivní složky	$1,1 \times 10^5$
4	Mýdlo s aktivní složkou	$1,4 \times 10^4$
5	Mýdlo s aktivní složkou	$1,6 \times 10^3$
6	Mýdlo s aktivní složkou	$1,6 \times 10^3$
7	Mýdlo s aktivní složkou	$0,3 \times 10^4$
8	Mýdlo s aktivní složkou	$1,2 \times 10^5$
9	Mýdlo s aktivní složkou	$3,4 \times 10^2$
10	Mýdlo s aktivní složkou	$0,4 \times 10^5$
11	Mýdlo s aktivní složkou	$0,6 \times 10^4$
12	Mýdlo s aktivní složkou	$0,5 \times 10^3$
13	Mýdlo bez aktivní složky	$3,7 \times 10^4$
14	Mýdlo s aktivní složkou	$8,8 \times 10^2$
15	Mýdlo s aktivní složkou	8×10^2

16	Mýdlo s aktivní složkou	$4,9 \times 10^2$
17	Mýdlo s aktivní složkou	$5,1 \times 10^3$
18	Mýdlo s aktivní složkou	$1,2 \times 10^4$
19	Mýdlo s aktivní složkou	$1,1 \times 10^4$
20	Esenciální olej	0 kolonií
21	Esenciální olej	$1,1 \times 10^2$
22	Esenciální olej	0 kolonií
23	Přírodní olej	$1,3 \times 10^7$
24	Esenciální olej	$2,2 \times 10^2$
Blank		1×10^7

Tab. 9 Počet kolonií narostlých v agaru na 1 ml.

11 DISKUZE

Mytí rukou patří mezi nejlepší prevenci proti šíření infekčních onemocnění. Světová zdravotnická organizace odhaduje, že mytí rukou by mohlo snížit úmrtí spojená s průjmovými onemocněními až o 50 %. Přestože většina lidí tvrdí, že si myjí ruce, studie potvrdily, že mytí rukou v běžné populaci není dostatečné. [76] V maloobchodní síti je možné zakoupit antibakteriální toaletní mýdla. Námi testované mýdlo Protex Ultra lze zakoupit v široké síti drogerií. V tomto mýdle je jako antibakteriální složka použita konzervační látka fenoxylethanol. V posledních letech získávají na popularitě přírodní ručně vyráběná mýdla, která konkurují běžným toaletním mýdlům z maloobchodní sítě. Velmi často se jedná o mýdla vyráběná ručně, v malých šaržích, pouze z rostlinných nebo živočišných tuků.

Cílem této práce bylo zjistit, zda přírodní, ručně vyráběná mýdla mohou přidáním antibakteriální složky, rovněž přírodního původu, mít antibakteriální účinek. Pokud ano, porovnat je vůči stejnému mýdlu bez přidané antibakteriální složky a rovněž vůči komerčnímu mýdlu. Dále byly testovány samotné antibakteriální složky, ať se jednalo o čisté esenciální oleje nebo o rostlinný olej.

Aktivní složkou, způsobující inhibiční účinek klasických mýdel jsou mastné kyseliny a monoacylglyceroly. [77] Antimikrobiální účinek lipidů byl zkoumán již před více než stoletím a ačkoli většina novodobých studií se zabývá baktericidními účinky mýdel, bylo zdokumentováno, že mastné kyseliny a monoacylglyceroly jsou považovány za silné inhibitory patogenních mikroorganismů na kůži. [78] Přidání esenciálních olejů jako antibakteriální složky má velký význam, jelikož je méně pravděpodobné, že způsobí vedlejší účinky a je možné je používat dlouhodobě. [79]

Důležitost mytí rukou zmiňoval již na konci 18. století skotský lékař a porodník Alexander Gordon, když napsal „Pojednání o epidemii horečky omladnic“. Tato smrtelná nemoc postihovala ženy po porodu v nemocnici. Jedná se o bakteriální infekci, jejímž původcem je často *Streptococcus pyogenes*. Nemoc se šířila v důsledku nedostatečné hygieny rukou lékařů a porodních asistentek. Gordon proto doporučil mytí rukou zdravotnického personálu jako prevenci vzniku chorob. [80] Na Gordonovy poznatky navázal maďarský lékař Ignác Filip Semmelweis, pracující ve Vídeňské všeobecné nemocnici. V roce 1844 si povšiml, že na porodním oddělení, kde pracují studenti medicíny, je úmrtnost rodiček vyšší (29 %) než na ostatních odděleních (3 %). Semmelweis se domníval, že studenti medicíny

přenášejí na těhotné ženy na nemytých rukách a nástrojích hnilobné zárodky z pitevny. Zavedl proto mytí rukou v roztoku z chlóru, což přispělo ke značnému snížení úmrtnosti na horečku omladnic. Semmelweis byl bohužel z nemocnice propuštěn a jeho doporučení ohledně hygieny rukou nebylo všeobecně přijato, čímž úmrtnost opět vzrostla. Semmelweis se odstěhoval do Budapešti, kde znovu zavedl pro mediky mytí rukou. [80] Velmi podobným zkušenostem čelil v americkém Bostonu i lékař Oliver Wendell Holmes. [81]

V praktické části jsme testovali celkem 24 vzorků, z toho 4 mýdla bez antibakteriální složky, 15 mýdel s antibakteriální složkou, 4 esenciální oleje a 1 rostlinný olej. Vzorky číslo 1 až 12 byly testům podrobeny dvakrát. Testované mikroorganismy byly *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Námi testovaná toaletní mýdla obsahovala sodné soli vyšších mastných kyselin (kyseliny olejové, kyseliny stearové).

11.1 Vyhodnocení výsledků čistých esenciálních olejů

U čistých esenciálních olejů, které představovaly vzorky 20 až 24, se ukázala velmi dobrá antibakteriální účinnost. U vzorku číslo 20, esenciální olej hřebíček (*Syzygium aromaticum*), nenarostly žádné kolonie, což potvrzuje jeho antibakteriální vlastnosti. [82] U vzorku číslo 21, esenciální olej čajovník (*Melaleuca alternifolia*), bylo dosaženo výsledku $1,1 \times 10^2$ CFU/ml, což představuje velmi dobrý výsledek oproti blanku (1×10^7 CFU/ml). To potvrzuje, že EO čajovník má velmi dobrou antibakteriální účinnost. [70] U vzorku číslo 22, esenciálního oleje tymián (*Thymus vulgaris*) nenarostly žádné kolonie, což prokazuje jeho velmi dobré inhibiční vlastnosti. [66] U vzorku číslo 24, esenciálního oleje levandule (*Lavandula angustifolia*) byl výsledek $2,2 \times 10^2$ CFU/ml, což opět ukazuje velmi dobrou účinnost oproti blanku a velmi podobnou účinnost jako EO čajovník. Opět zde byl prokázán inhibiční účinek tohoto esenciálního oleje. [69] Čistý nimbový olej (*Azadirachta indica*), vzorek číslo 23, nevykázal téměř žádnou antibakteriální účinnost ($1,3 \times 10^7$ CFU/ml). Výsledek je srovnatelný s blankem. Zde však mohlo dojít i k chybě v našem měření, neboť nimbový olej vykazuje silnou antibakteriální účinnost. [83]

Složení esenciálních olejů závisí na mnoha faktorech, včetně země původu a doby sklizně. [66] To může vysvětlovat rozdíly mezi údaji z literatury a námi provedená testování. Svou

roli může hrát i lidský faktor. Nejvýraznější výsledky byly dosaženy u EO hřebíček a tymián, ale velmi dobrých výsledků bylo dosaženo i u esenciálních olejů čajovník a levandule. U nimbového oleje je předpoklad, že došlo k lidské chybě během měření.

11.2 Vyhodnocení výsledků mýdel

Jak již bylo uvedeno výše, vzorky číslo 1 až 12 byly podrobeny testům dvakrát. Pokud porovnáme výsledky testů z prvního a druhého testování, můžeme konstatovat, že všechny výsledky z prvního měření, kromě výsledku u vzorku číslo 10, byly velmi podobné druhému měření a můžeme tedy konstatovat, že námi změřené výsledky vykázaly dobrou stabilitu. Výsledek vzorku číslo 10 bude diskutován později. Ukázalo se, že mýdla složená z rostlinných olejů a tuků bez přidané antibakteriální složky vykazují zvýšenou antibakteriální účinnost oproti blanku (1×10^7 CFU/ml). Jako první bylo testováno mýdlo složené pouze z olivového oleje. U tohoto mýdla bylo dosaženo výsledku $2,7 \times 10^5$ CFU/ml, což představuje vyšší účinnost oproti blanku. Druhý vzorek bylo mýdlo složené pouze z bambuckého másla. Výsledek $1,7 \times 10^5$ CFU/ml byl jen nepatrně lepší než předchozí výsledek a oproti blanku tedy vykázal vyšší účinnost. Vzorek číslo 3 bylo mýdlo složené ze tří druhů rostlinných olejů a tuků, bez aktivní složky. Toto mýdlo vykázalo účinnost $1,1 \times 10^5$ CFU/ml, což představuje jen o velmi málo lepší výsledek než předchozí vzorek. Nejlepší antibakteriální účinnost pak vykázal vzorek číslo 13, mýdlo připravené pouze z kokosového tuku ($3,7 \times 10^4$ CFU/ml).

Pokud porovnáme mýdla s přídavkem esenciálních a rostlinných olejů s blankem, pak docházíme k závěru, že všechna mýdla měla vyšší účinnost. Vzorky číslo 4 až 6 byla mýdla s různým obsahem esenciálního oleje tymián (*Thymus vulgaris*). U vzorku číslo 4, kde byla přidána 2 % esenciálního oleje tymián, byl výsledek $1,4 \times 10^4$ CFU/ml, což je lepší výsledek oproti blanku. U vzorku číslo 5 byla přidána 4 % esenciálního oleje tymián. Výsledek byl $1,6 \times 10^3$ CFU/ml, což představuje oproti blanku velmi dobrý výsledek. Jelikož u vzorku číslo 6, který obsahoval 8 % esenciálního oleje tymián, bylo dosaženo naprosto stejného výsledku jako u předchozího vzorku, tedy $1,6 \times 10^3$ CFU/ml, můžeme konstatovat, že vyšší obsah EO již inhibiční účinek nezvýšil. Vzorky číslo 7 až 9 byla mýdla s aktivní složkou, esenciálním olejem čajovník (*Melaleuca alternifolia*). U vzorku číslo 7, kde byla přidána 2 % esenciálního oleje čajovník, byl výsledek $0,3 \times 10^4$ CFU/ml, což představuje vyšší účinnost oproti blanku. Vzorek číslo 8, který obsahoval 4 % EO čajovník, vykázal výsledek $1,2 \times 10^5$ CFU/ml, což je lepší výsledek oproti blanku, ovšem

horší výsledek oproti předchozímu vzorku. Nejlepší výsledek z této skupiny pak vykázal vzorek číslo 9, mýdlo s 8 % EO čajovník. U tohoto mýdla byl výsledek $3,4 \times 10^2$ CFU/ml, což je oproti blanku velmi dobrý výsledek a nejlepší výsledek z mýdel s EO čajovník. U vzorků číslo 10 až 12 byla testována mýdla s aktivní složkou, esenciálním olejem z hřebíčku (*Syzygium aromaticum*). U vzorku číslo 10, mýdla se 2 % EO hřebíček byl výsledek u prvního testování $4,6 \times 10^2$ CFU/ml a u druhého měření pak $0,4 \times 10^5$ CFU/ml, což je poměrně rozdílný výsledek. První měření vykázalo velmi dobrý inhibiční účinek, ovšem druhé měření vykázalo jen o něco málo lepší účinek oproti blanku. Vzorek číslo 11, mýdlo se 4 % EO hřebíček, vykázal jen o něco vyšší účinnost než předchozí vzorek. U prvního měření byl výsledek $8,2 \times 10^4$ CFU/ml a u druhého měření $0,6 \times 10^4$ CFU/ml. Obdobný výsledek z této řady pak vykázalo mýdlo s 8 % esenciálního oleje hřebíček, kde bylo naměřeno v prvním měření 6×10^4 CFU/ml a u druhého měření $0,5 \times 10^3$ CFU/ml. Jelikož esenciální olej hřebíček vykazuje antibakteriální účinky [82], můžeme usuzovat, že při druhém měření vzorku číslo 10 došlo pravděpodobně k chybě v měření. Svou roli mohl sehrát lidský faktor. Vzorek číslo 14 bylo mýdlo, kde aktivní složku představovalo 25 % nimbového oleje (*Azadirachta indica*). Toto mýdlo působilo velmi inhibičně. Výsledek byl $8,8 \times 10^2$ CFU/ml, což představovalo velmi dobrý výsledek oproti blanku a i velmi dobrý výsledek celkově mezi testovanými vzorky. Vzorek číslo 15 bylo mýdlo s 50 % nimbového oleje, u kterého byl výsledek 8×10^2 CFU/ml, což byl téměř totožný výsledek s předchozím vzorkem. Jedná se tedy opět o velmi dobrý výsledek oproti blanku. Velmi podobného výsledku jako u mýdla s nimbovým olejem bylo dosaženo i u vzorku číslo 16, mýdla se 2 % esenciálního oleje levandule (*Lavandula angustifolia*). Výsledek zde byl $4,9 \times 10^2$ CFU/ml, což je velmi dobrý výsledek mezi ostatními vzorky i oproti blanku. Vzorek číslo 17, mýdlo se 4 % EO levandule ovšem vykázalo horší výsledek než předchozí vzorek, $5,1 \times 10^3$ CFU/ml a vzorek číslo 18, mýdlo s 8 % EO levandule vykázalo výsledek $1,2 \times 10^4$ CFU/ml, což byl horší výsledek než předchozí. V obou případech se však stále ještě jedná o lepší výsledek oproti blanku. U komerčního toaletního mýdla Protex Ultra (vzorek číslo 19) bylo naměřeno $1,1 \times 10^4$ CFU/ml kolonií. To je lepší výsledek oproti blanku, ovšem horší výsledek oproti některým vzorkům mýdel s přírodní aktivní složkou. U mýdla Protex Ultra může antibakteriální účinnost podpořit více složek. Jedná se buď o konzervanty (Phenoxyethanol a Benzyl Alcohol), případně antioxidanty (Pentaerythryl Tetra-Di-T-Butyl Hydroxyhydrocinnamate). Kromě konzervantů a antioxidantů může toto mýdlo obsahovat i další složky, které mají inhibiční potenciál (Eugenol, Coumarin).

Můžeme konstatovat, že veškerá námi testovaná mýdla vykázala vyšší inhibiční účinek oproti blank vzorku. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo u mýdla s přídavkem nimbového oleje, kde přídavkem 25 % oleje bylo dosaženo prakticky stejného výsledku jako u přídavku 50 % oleje. Nižší koncentrace účinné složky tak byla dostačující. Velmi dobrého výsledku bylo dosaženo i u mýdel obsahujících jako aktivní složku esenciální olej levandule. Mýdlo s obsahem 2 % tohoto oleje vykázalo velmi dobrý inhibiční účinek a vyšší obsah tohoto EO vyšší účinnost nepotvrdil. U mýdla s esenciálním olejem tymián jsme konstatovali velmi dobrou účinnost u obsahu 4 %, vyšší dávka již účinnost nezvýšila. Přestože čistý esenciální olej čajovník vykázal velmi dobrou účinnost, do mýdla muselo být přidáno 8 % tohoto oleje, aby bylo dosaženo srovnatelného výsledku. Toto množství je poměrně vysoké a nepatří mezi nejlepší výsledky v našich měřeních. U mýdla s esenciálním olejem hřebíček jsou výsledky poněkud nejisté. Přestože čistý EO hřebíček vykázal velmi dobré inhibiční vlastnosti, u mýdel byly výsledky spíše nejisté. Můžeme však konstatovat, že i mýdla s přídavkem EO hřebíček vykázala viditelné antibakteriální vlastnosti.

Pokud bychom chtěli některé z námi testovaných mýdel uvádět na trh, bylo by potřeba posoudit, zda množství použité inhibiční složky je přípustné pro kladné posouzení bezpečnosti kosmetického přípravku. Takovéto posouzení patří do rukou zkušeného hodnotitele, který produkt zhodnotí na základě Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009, Příloha 1 (Zpráva o bezpečnosti kosmetického přípravku). [84]

Naše výsledky ukázaly, že přírodní toaletní mýdla s antibakteriální složkou mají vyšší inhibiční účinky v porovnání s mýdly se stejným složením bez antibakteriální složky. Je tedy zřejmé, že použití přírodní antibakteriální složky v mýdle má svůj význam a může přispět k námi požadovaným vlastnostem mýdel. Přírodní mýdla s antibakteriální složkou prokázala i vyšší účinnost oproti komerčnímu toaletnímu mýdlu Protex Ultra.

Přírodní ručně vyráběná mýdla s antibakteriální složkou mohou být doporučena jako vhodná alternativa ke komerčním toaletním antibakteriálním mýdlům. Ručně vyráběná mýdla si v posledních letech získávají čím dál větší oblibu a vyrovnávají spotřebu mýdel tekutých. Jsou vyráběna pouze z přírodních surovin, bez syntetických konzervantů a barviv. Antibakteriální složka je rovněž přírodního původu. Jsou maximálně šetrná k pokožce a nezatěžují přírodu. Lze je používat nejen na mytí rukou, ale i celého těla včetně obličeje.

ZÁVĚR

Tato práce se zabývala testováním antibakteriální účinnosti přírodních toaletních mýdel, přírodních toaletních mýdel s antibakteriální přísadou, čistých esenciálních olejů a rostlinného oleje. Na základě získaných výsledků se došlo k následujícím poznatkům:

- Přírodní mýdla bez antibakteriální složky vykazovala vyšší účinnost oproti blanku.
- Přírodní mýdla s antibakteriální složkou působila na růst vybraných kmenů výrazně vyšším inhibičním účinkem než mýdla bez antibakteriální složky.
- Přírodní mýdla s antibakteriální složkou vykazovala vyšší účinnost než komerčně dostupné toaletní mýdlo s antibakteriální složkou.
- Přírodní mýdla s antibakteriální složkou účinně působí proti mikroorganismům *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*.
- Většina námi testovaných esenciálních olejů působila velmi inhibičně vůči testovaným mikroorganismům.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] You and Your Products. *Cosmetics Europe* [online]. [cit. 2020-04-10]. Dostupné z: <https://cosmeticseurope.eu/cosmetic-products/you-your-products/>
- [2] *Soap Manufacturing Technology*. 2nd edition. USA: Elsevier, 2016. ISBN 978-1-63067-065-8
- [3] Safety and Effectiveness of Consumer Antiseptics; Topical Antimicrobial Drug Products for Over-the-Counter Human Use [online]. Rockville, MD: FDA, 2016 [cit. 2020-04-20]. Dostupné z: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/FR-2016-09-06/pdf/2016-21337.pdf>
- [4] BURTON, Maxine, Emma COBB, Peter DONACHIE, Gaby JUDAH, Val CURTIS a Wolf-Peter SCHMIDT. The Effect of Handwashing with Water or Soap on Bacterial Contamination of Hands. *International Journal of Environmental Research and Public Health* [online]. 2011, 8(1), 97-104
- [5] SMITH, Virginia. *Dějiny čistoty a osobní hygieny*. Praha: Academia, 2011. ISBN 978-80-200-1885-4.
- [6] VONDRUŠKA, Vlastimil. *Intimní historie: od antiky po baroko*. Vyd. 2. Brno: MOBA, c2013. ISBN 978-80-243-5589-4.
- [7] BAGNALL, Roger S, Kai BRODERSEN, Craige B CHAMPION, Andrew ERSKINE a Sabine R HUEBNER, ed. *The Encyclopedia of Ancient History* [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2013 [cit. 2020-04-28]. ISBN 9781444338386.
- [8] DÜLMEN, Richard van. *Kultura a každodenní život v raném novověku (16.-18. století)*. Praha: Argo, 1999. Každodenní život. ISBN 80-720-3116-3.
- [9] HERMAN A, HERMAN AP, DOMAGALSKA BW, MLYNARCZYK A. Essential oils and herbal extracts as antimicrobial agents in cosmetic emulsion. *Indian J Microbiol*. 2013, 53(2), 232–237.
- [10] EL MOGAHZY, Y.E. Finishing processes for fibrous assemblies in textile product design. *Engineering Textiles*. Elsevier, 2009, 2009, , 300-326
- [11] WONG, STEPHANIE, DEBRA STREET, SONIA I. DELGADO a KARL C. KLONTZ. Recalls of Foods and Cosmetics Due to Microbial Contamination Reported to

the U.S. Food and Drug Administration. *Journal of Food Protection*. Elsevier, 2000, 2009, 63(8), 1113-1116

[12] AURELI, P., A. COSTANTINI, S. ZOLEA a KARL C. KLONTZ. Antimicrobial Activity of Some Plant Essential Oils Against *Listeria monocytogenes*1. *Journal of Food Protection*. Elsevier, 1992, 2009, 55(5), 344-348

[13] BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. [online] 2004, 94(3), 223-253.

[14] KALEMBA, D., A. KUNICKA, B. BISIGNANO, P.M. FURNERI, G. BISIGNANO a A. CASTRO. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. Elsevier, 2003, 2009, 10(10), 813-829.

[15] ÖZCAN, Mehmet Musa, Derya ARSLAN, S. ZOLEA a KARL C. KLONTZ. Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils. *Food Chemistry*. Elsevier, 2011, 2009, 129(1), 171-174.

[16] GAROZZO, A., R. TIMPANARO, B. BISIGNANO, P.M. FURNERI, G. BISIGNANO a A. CASTRO. In vitro antiviral activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *Letters in Applied Microbiology*. Elsevier, 2009, 2009, 49(6), 806-808

[17] ESPERANDIM, Viviane, Daniele DA SILVA FERREIRA, Karen SOUSA REZENDE, et al. In Vitro Antiparasitic Activity and Chemical Composition of the Essential Oil Obtained from the Fruits of *Piper cubeba*. *Planta Medica*. Elsevier, 2013, 2009, 79(17), 1653-1655

[18] COSTA, Adilson Vidal, Patrícia Fontes PINHEIRO, Vagner Tebaldi DE QUEIROZ, et al. Chemical Composition of Essential Oil from *Eucalyptus citriodora* Leaves and Insecticidal Activity Against *Myzus persicae* and *Frankliniella schultzei*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. Elsevier, 2015, 2009, 18(2), 374-381

[19] PACKIYASOTHY, E.V. a S. KYLE. Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia*. 2002, 54(9), 384-387.

[20] HUANG, D. F., J. -G. XU, J. -X. LIU, H. ZHANG a Q. P. HU. Chemical constituents, antibacterial activity and mechanism of action of the essential oil from *Cinnamomum cassia* bark against four food-related bacteria. *Microbiology*. 2014, 83(4), 357-365.

- [21] ZINOVIADOU, Kyriaki G., Konstantinos P. KOUTSOUMANIS, Costas G. BILIADERIS, H. ZHANG a Q. P. HU. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*. 2009, 82(3), 338-345
- [22] NAZZARO, Filomena, Florinda FRATIANNI, Laura DE MARTINO, et al. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria: A Structure–Activity Relationship Study. *Pharmaceuticals*. 2013, 6(12), 1451-1474.
- [23] BOWLES, E. Joy. *Chemistry of Aromatherapeutic Oils*. 3rd. Sydney: Allen & Unwin, 2004. ISBN 978-1741140514
- [24] SKAL TSA, Eleni. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines* [online]. 2017, 4(3) [cit. 2020-04-11].
- [25] LI, Ying, Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER a Farid CHEMAT. Essential Oils as Antimicrobials. LI, Ying, Anne-Sylvie FABIANO-TIXIER a Farid CHEMAT. *Essential Oils as Reagents in Green Chemistry* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2014, 2014-7-29, s. 29-40 [cit. 2020-04-30]. SpringerBriefs in Molecular Science.
- [26] AZMIR, J., I.S.M. ZAIDUL, M.M. RAHMAN, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 2013, 117(4), 426-436
- [27] HAMMER, K.A. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. [online] 1999, 86, 985-990.
- [28] FARJANA, Atikya, Nagma ZERIN, Md. Shahidul KABIR, et al. Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2014, 4(4), S920-S923.
- [29] HSIEH, Pao-Chuan, Jeng-Leun MAU a Shu-Hui HUANG. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. *Food Microbiology*. [online] 2001, 18(1), 35-43.
- [30] WECKESSER, S., K. ENGEL, B. SIMON-HAARHAUS, A. WITTMER, K. PELZ a C.M. SCHEMPP. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*. 2007, 14(7-8), 508-516.
- [31] VERGIS, Jess, P. GOKULAKRISHNAN, R. K. AGARWAL, et al. Essential Oils as Natural Food Antimicrobial Agents: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2013, 55(10), 1320-1323

- [32] YADAV, Ganapati D., Shashikant B. KAMBLE, R. K. AGARWAL, et al. Synthesis of carvacrol by Friedel-Crafts alkylation of o-cresol with isopropanol using superacidic catalyst UDCaT-5: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2009, 84(10), 1499-1508
- [33] SHARIFI-RAD, Mehdi, Elena Maria VARONI, Marcello IRITI, et al. Carvacrol and human health: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*. 2018, 32(9), 1675-1687
- [34] Carvacrol [online]. In: . [cit. 2020-05-04]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/carvacrol1502249975211?lang=en&ion=CZ>
- [35] SALEHI, Bahare, Abhay Prakash MISHRA, Ila SHUKLA, et al. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy Research*. 2018, 32(9), 1688-1706
- [36] Thymol [online]. In: . [cit. 2020-05-04]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/thymol150228983811?lang=en&ion=CZ>
- [37] GÜLÇİN, İlhami, Abhay Prakash MISHRA, Ila SHUKLA, et al. Antioxidant Activity of Eugenol: A Structure–Activity Relationship Study. *Journal of Medicinal Food*. 2011, 14(9), 975-985
- [38] Eugenol [online]. In: . [cit. 2020-05-04]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/eugenol164209753011?lang=en&ion=CZ>
- [39] Cinnamaldehyde [online]. In: . [cit. 2020-05-04]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/cinnamaldehyde1321610455211?lang=en&ion=CZ>
- [40] SCHOMMER, Nina N., GALLO Richard L. Structure and function of the human skin microbiome. *Trends Microbiol.* 2013, 21(12), 660–668.
- [41] BRAFF, Marissa H., Mohamed ZAIUO, Joshua FIERER, Victor NIZET a Richard L. GALLO. Keratinocyte Production of Cathelicidin Provides Direct Activity against Bacterial Skin Pathogens. *Infection and Immunity* [online]. 2005, 73(10), 6771-6781
- [42] GRICE, E. A., H. H. KONG, G. RENAUD, et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Research* [online]. 2008, 18(7), 1043-1050

- [43] ROSENTHAL, Mariana, Deborah GOLDBERG, Allison AIELLO, Elaine LARSON a Betsy FOXMAN. Skin microbiota: Microbial community structure and its potential association with health and disease. *Infection, Genetics and Evolution* [online]. 2011, **11**(5), 839-848
- [44] SANFORD, James A., GALLO Richard L. Functions of the skin microbiota in health and disease. *Semin Immunol* 2013, **25**(5), 370-377
- [45] CHEN, Y. Erin. Skin microbiota–host interactions. *Nature*. 2018, **553**(7689), 427-436
- [46] COGEN, A.L., V. NIZET, R.L. GALLO, John GUSTAFSON, John WARMINGTON a S. WYLLIE. Skin microbiota: a source of disease or defence? *British Journal of Dermatology*. 2008, **158**(3), 442-455
- [47] GRICE, Elizabeth A., Julia A. SEGRE, Alžbeta MIČÚCHOVÁ, Marek ŠEBELA, Mehmet Tufan ÖZ a Ivo FRÉBORT. The skin microbiome: Development of a Novel Production Platform to Produce Human Antimicrobial Peptide LL-37. *Nature Reviews Microbiology*. 2011, **9**(4), 244-253.
- [48] GALLO, Richard L. a Teruaki NAKATSUJI. Microbial Symbiosis with the Innate Immune Defense System of the Skin. *Journal of Investigative Dermatology* [online]. 2011, **131**(10), 1974-1980
- [49] CHEN, Y. Erin, Michael A. FISCHBACH a Yasmine BELKAID. Skin microbiota–host interactions. *Nature*. 2018, **553**(7689), 427-436
- [50] Cogen AL, Yamasaki K, Sanchez KM, Dorschner RA, Lai Y, MacLeod DT, et al. Selective antimicrobial action is provided by phenol-soluble modulins derived from *Staphylococcus epidermidis*, a normal resident of the skin. *J Invest Dermatol* 2010; **130**:192–200
- [51] Shu MW, Yu Y, Kuo J, Coda S, Jiang A, Gallo Y, et al. Fermentation of *Propionibacterium acnes*, a commensal bacterium in the human skin microbiome, as skin probiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE* 2013; **8**:e55380.
- [52] MEENA, Mukesh, Prashant SWARNIL, Andleeb ZEHRA, Mohd AAMIR, Manish Kumar DUBEY, Chandra Bali PATEL a R.S. UPADHYAY. Virulence Factors and Their Associated Genes in Microbes: a source of disease or defence? *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, 2019, **158**(3), 181-208.

- [53] FINDLEY, Keisha, Elizabeth A. GRICE, Virginia MILLER, Paul LOZANO, Dominique K.C. SOHOUNHLOUÉ a Daniel PIOCH. The Skin Microbiome: A Focus on Pathogens and Their Association with Skin Disease. *PLoS Pathogens*. 2014, **10**(11), 910-915
- [54] *Hand washing and hand hygiene* [online]. In: . [cit. 2020-05-04]. Dostupné z: <https://www.nidirect.gov.uk/articles/hand-hygiene>
- [55] *Show Me the Science - Why Wash Your Hands?* [online]. In: . [cit. 2020-05-04]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/handwashing/why-handwashing.html>
- [56] PFATTHEICHER, Stefan, Christoph STRAUCH, Svenja DIEFENBACHER a Robert SCHNUERCH. A field study on watching eyes and hand hygiene compliance in a public restroom. *Journal of Applied Social Psychology*. 2018, **48**(4), 188-194.
- [57] JACOBSEN, Kathryn H. a Steven T. WIERSMA. Hepatitis A virus seroprevalence by age and world region, 1990 and 2005. *Vaccine*. 2010, **28**(41), 6653-6657
- [58] AIELLO, Allison E., Genevra F. MURRAY, Vanessa PEREZ, et al. Mask Use, Hand Hygiene, and Seasonal Influenza-Like Illness among Young Adults: A Randomized Intervention Trial. *The Journal of Infectious Diseases*. 2010, **201**(4), 491-498.
- [59] SCHEITHAUER, S., J. OUDE-AOST, C. STOLLBRINK-PESCHGENS, et al. Suspicion of viral gastroenteritis does improve compliance with hand hygiene: A Randomized Intervention Trial. *Infection*. 2011, **39**(4), 359-362.
- [60] GOLD, Nina A. a Usha AVVA. Alcohol Sanitizer [online]. Florida: StatPearls, 2020 [cit. 2020-04-19]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513254/>
- [61] Clean hands protect against infection. World Health Organization [online]. [cit. 2020-03-22]. Dostupné z: https://www.who.int/gpsc/clean_hands_protection/en/
- [62] TISSERAND, Robert a Rodney YOUNG. Essential oil profiles. *Essential Oil Safety*. Elsevier, 2014, 2014, , 187-482
- [63] KENNOUCHE, A., F. BENKACI-ALI, G. SCHOLL a G. EPPE. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Eugenia caryophyllata* Cloves Extracted by Conventional and Microwave Techniques. *Journal of Biologically Active Products from Nature* [online]. 2015, **5**(1), 1-11.

- [64] NUÑEZ, L. a M. D' AQUINO. Microbicide activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*). *Brazilian Journal of Microbiology* [online]. 2012, **43**(4), 1255-1260 [cit. 2019-12-11].
- [65] ABEDINI, Samaneh, Amirhossein SAHEBKAR a Mohammad HASSANZADEH-KHAYYAT. Chemical Composition of the Essential Oil of *Thymus vulgaris* L. Grown in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2014, **17**(3), 538-543.
- [66] ROTA, María C., Antonio HERRERA, Rosa M. MARTÍNEZ, Jose A. SOTOMAYOR a María J. JORDÁN. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*. 2008, **19**(7), 681-687
- [67] ADASZYŃSKA-SKWIRZYŃSKA, M., D. SZCZERBIŃSKA, Rosa M. MARTÍNEZ, Jose A. SOTOMAYOR a María J. JORDÁN. The antimicrobial activity of lavender essential oil (*Lavandula angustifolia*) and its influence on the production performance of broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2018, **102**(4), 1020-1025
- [68] ANDRYS, Dominika, Danuta KULPA, Monika GRZESZCZUK, Magdalena BIHUN a Agnieszka DOBROWOLSKA. Antioxidant and antimicrobial activities of *Lavandula angustifolia* Mill. field-grown and propagated in vitro. *Folia Horticulturae*. 2017, **29**(2), 161-180
- [69] TARDUGNO, Roberta, Annalisa SERIO, Federica PELLATI, et al. *Lavandula x intermedia* and *Lavandula angustifolia* essential oils: phytochemical composition and antimicrobial activity against foodborne pathogens. *Natural Product Research*. 2018, **33**(22), 3330-3335
- [70] CARSON, C. F., K. A. HAMMER, T. V. RILEY, et al. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006, **19**(1), 50-62
- [71] COX, Sean, Cindy MANN, Julie MARKHAM, John GUSTAFSON, John WARMINGTON a S. WYLLIE. Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. *Molecules*. 2001, **6**(12), 87-91

- [72] COVENTRY, E. a E. J. ALLAN. Microbiological and Chemical Analysis of Neem (*Azadirachta indica*) Extracts: New Data on Antimicrobial Activity. *Phytoparasitica*. 2001, **29**(5), 441-450
- [73] DJENONTIN, Tindo Sébastien, Valentin D. WOTTO, Félicien AVLESSI, Paul LOZANO, Dominique K.C. SOHOUNHLOUÉ a Daniel PIOCH. Composition of *Azadirachta indica* and *Carapa procera* (Meliaceae) seed oils and cakes obtained after oil extraction: New Data on Antimicrobial Activity. *Industrial Crops and Products*. 2012, **38**(5), 39-45
- [74] SIDHU, O. P., Vishal KUMAR, Hari M. BEHL, Paul LOZANO, Dominique K.C. SOHOUNHLOUÉ a Daniel PIOCH. Variability in Neem (*Azadirachta indica*) with Respect to Azadirachtin Content: New Data on Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, **51**(4), 910-915
- [75] Recipe Calculator. SoapCalc [online]. [cit. 2020-04-19]. Dostupné z: <http://www.soapcalc.net/calc/soapcalcwp.asp>
- [76] BORCHGREVINK, C.P., J. CHA a S. KIM. Hand washing practices in a college town environment. *Journal of Environmental Health*. 2013, **75**(8), 18-24.
- [77] KRISTMUNDSDÓTTIR, Thórdís, Sigrídur G. ÁRNADÓTTIR, Gudmundur BERGSSON, et al. Development and evaluation of microbicidal hydrogels containing monoglyceride as the active ingredient: A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 1999, **88**(10), 1011-1015
- [78] BERGSSON, Gudmundur, Hilmar HILMARSSON a Halldor THORMAR. Antibacterial, Antiviral and Antifungal Activities of Lipids. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents* [online]. Chichester, UK, 2011, 2010-12-14, , 47-80
- [79] PREUSS, Harry G., Bobby ECHARD, Mary ENIG, Itzhak BROOK a Thomas B. ELLIOTT. Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. *Molecular and Cellular Biochemistry* [online]. Chichester, UK, 2005, 2010-12-14, **272**(1-2), 29-34
- [80] HARMOND ALLAN, Kate. Hand hygiene and its uphill upheaval throughout history. *British Journal of Healthcare Management*. 2018, **24**(9), 428–429.
- [81] OBERNDORF CP. Oliver Wendell Holmes: A Precursor of Freud. *Bull N Y Acad Med*. 1941, **17**(5), 327–336

[82] RADÜNZ, Marjana, Maria Luiza Martins DA TRINDADE, Taiane Mota CAMARGO, André Luiz RADÜNZ, Caroline Dellinghausen BORGES, Eliezer Avila GANDRA a Elizabete HELBIG. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chemistry*. 2019, **276**, 180-186.

[83] CHAUDHARI, Varsha M. Studies on antimicrobial activity of antiseptic soaps and herbal soaps against selected human pathogens. *Journal of Scientific and Innovative Research*. 2016, **5(6)**, 201-204

[84] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1223/2009 [online]. [cit. 2020-05-05]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1223&from=CS>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

WHO World Health Organization (Světová zdravotnická organizace)

EO Esenciální olej

ES Evropské společenství

EU Evropská unie

INCI International Nomenclature of Cosmetic Ingredients

USA Spojené státy americké

UV Ultrafialové

LPS Lipopolysacharidy

DNA Deoxyribonukleová kyselina

MRSA Methicillin-resistant

AIDS Acquire Immune Deficiency Syndrome

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Schéma buněčných obalů gramnegativní a grampozitivní bakterie [upraveno dle 22]</i>	<i>19</i>
<i>Obr. 2 Mechanismus účinku esenciálních olejů na mikrobiální buňky [upraveno dle 25]</i>	<i>20</i>
<i>Obr. 3 Karvakrol [34]</i>	<i>23</i>
<i>Obr. 4 Thymol [36]</i>	<i>24</i>
<i>Obr. 5 Eugenol [38].....</i>	<i>24</i>
<i>Obr. 6 Cinnamaldehyde [39]</i>	<i>25</i>
<i>Obr. 7 Rozmanitost kůže na různých částech těla [upraveno dle 44]</i>	<i>28</i>
<i>Obr. 8 Schéma průřezu kůže s mikroorganismy a parazity [upraveno dle 47]</i>	<i>31</i>
<i>Obr. 9 Doporučený postup mytí rukou podle Světové zdravotnické organizace [upraveno dle 61]</i>	<i>41</i>
<i>Obr. 10 Přístroje a vybavení k výrobě mýdel</i>	<i>51</i>
<i>Obr. 11 Míchání tyčovým mixérem do husté konzistence</i>	<i>52</i>
<i>Obr. 12 Vzorek číslo 16, mýdlo s aktivní složkou, 2 % esenciálního oleje levandule</i>	<i>52</i>
<i>Obr. 13 Výpočet pro výrobu vzorku číslo 16</i>	<i>53</i>
<i>Obr. 14 Vážení vzorků mýdel</i>	<i>63</i>
<i>Obr. 15 Vzorky mýdla zalité roztokem se zaočkovanými mikroorganismy.....</i>	<i>64</i>
<i>Obr. 16 Pipetování fyziologického roztoku.....</i>	<i>65</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1 Hlavní složky vybraných esenciálních olejů, které vykazují antibakteriální účinky [13]</i>	20
<i>Tab. 2 Frekvence mikrobiální kolonizace pomocí metod klinické a molekulární detekce [46]</i>	34
<i>Tab. 3 Hlavní složky esenciálního oleje hřebíček [62]</i>	43
<i>Tab. 4 Hlavní složky esenciálního oleje tymián [62]</i>	43
<i>Tab. 5 Hlavní složky esenciálního oleje levandule pěstované ve Francii [62]</i>	45
<i>Tab. 6 Hlavní složky esenciálního oleje čajovník [62]</i>	46
<i>Tab. 7 Chemické vlastnosti nimbového oleje [71]</i>	47
<i>Tab. 8 Seznam a složení všech testovaných vzorků</i>	54
<i>Tab. 9 Počet kolonií narostlých v agaru na 1 ml</i>	66

