

Mikrobiologická kontaminace dekorativní kosmetiky

Bc. Simona Markytánová

Diplomová práce
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Simona Markytánová**
Osobní číslo: **T15321**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Mikrobiologická kontaminace dekorativní kosmetiky**

Zásady pro vypracování:

Teoretická část

1. **Dekorativní kosmetika, suroviny, výroba, vlastnosti.**
2. **Mikrobiální kontaminace kosmetických prostředků.**
3. **Mikrobiologická rizika výroby dekorativní kosmetiky.**

Praktická část

1. **Zmapujte výrobní proces konkrétních produktů. Statisticky zpracujte data o kontaminaci prostředků dekorativní kosmetiky, dodaná z průmyslové výroby.**
2. **Zpracujte vzorky dekorativní kosmetiky získané z různých etap výrobního procesu. Provedte jejich mikrobiologickou analýzu.**
3. **Získaná experimentální data statisticky zpracujte a vyhodnoťte mikrobiologická rizika dané výroby. Navrhněte opatření, která by riziko kontaminace mohla snížit.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. GOLDMAN, E., GREEN, L. H. Practical Handbook of Microbiology. Boca Raton: CRC Press, 2009. 852 p. ISBN 978-0-8493-9365-5.
2. ORTH, D. S., DENYER, S. P., KABARA, J. J. Cosmetic and Drug Microbiology. New York: Informa Health Care, 2006. 375 p. ISBN 978-0-8493-7266-7.
3. GEIS, P. A. Cosmetic Microbiology: A Practical Approach. New York: Taylor & Francis Group, 2006. 295 p. ISBN 978-0-8493-1453-7.
4. MITSUI, T. New Cosmetic Science. Amsterdam: Elsevier, 1998. 499 p. ISBN 978-0-0805-3749-8.

Vedoucí diplomové práce:

RNDr. Iva Čermáková, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

3. února 2017

Termín odevzdání diplomové práce:

17. května 2017

Ve Zlíně dne 3. února 2017



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



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

Příjmení a jméno: MAR KYTÁŇOVÁ/ SITOŇA

Obor: ITDK

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 15.5.2017

Marek Kytaňová

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

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

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

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

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

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

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

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

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

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

ABSTRAKT

Tato práce je zaměřena na dekorativní kosmetiku a její mikrobiologickou kontaminaci. V teoretické části je popsána výroba dekorativní kosmetiky, kožní mikroflóra a mikrobiologická rizika výroby kosmetických přípravků. Jsou zde shrnuty vybrané mezinárodní normy a některé výzkumy zabývající se mikrobiologickou kontaminací dekorativní kosmetiky. V praktické části je zmapovaná výroba dřevěných kosmetických tužek, spolupracující firmou dodaná data jsou statisticky zpracována a provedené mikrobiologické rozborů dodaných vzorků jsou vyhodnoceny.

Klíčová slova: dekorativní kosmetika, mikrobiologie, mikrobiologická kontaminace, rizika výroby, mezinárodní normy

ABSTRACT

This thesis is focused on decorative cosmetics and its microbiological contamination. In theoretical section, there are manufacture of decorative cosmetics, skin microflora and microbiological hazards of cosmetic manufacture described. Selected international standards and some research on microbiological contamination of decorative cosmetics are summarized. In practical section, there is manufacture of wooden cosmetic pencils charted, data delivered by collaborating firm statistically processed and microbiological analysis of supplied samples evaluated.

Keywords: decorative cosmetics, microbiology, microbiological contamination, manufacture hazards, international standards

Děkuji paní RNDr. Ivě Čermákové, Ph.D. za odborné vedení práce, pomoc, strávený čas a cenné rady, dále panu doc. RNDr. Petru Ponížilovi, Ph.D. za pomoc se statistikou a spolupracující firmě za poskytnutí této možnosti a dodání materiálů a vzorků.

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

OBSAH

| | |
|---|----|
| ÚVOD..... | 12 |
| I TEORETICKÁ ČÁST..... | 13 |
| 1 DEKORATIVNÍ KOSMETIKA..... | 14 |
| 1.1 MAKE-UP | 14 |
| 1.1.1 Složení a výroba make-upu | 15 |
| 1.1.1.1 Pigmenty | 15 |
| 1.1.1.2 Plniva | 15 |
| 1.1.1.3 Surfaktanty..... | 15 |
| 1.1.1.4 Zahušťovadla | 15 |
| 1.1.1.5 Filmotvorné látky..... | 16 |
| 1.1.1.6 Polymery | 16 |
| 1.1.1.7 Přídavné látky | 16 |
| 1.1.1.8 Příklad výroby make-upu..... | 16 |
| 1.2 RTĚNKY A LESKY NA RTY | 17 |
| 1.2.1 Složení a výroba rtěnek | 18 |
| 1.2.1.1 Pigmenty a barviva | 18 |
| 1.2.1.2 Ingredience poskytující lesk | 19 |
| 1.2.1.3 Oleje..... | 19 |
| 1.2.1.4 Vosky | 20 |
| 1.2.1.5 Rozpouštědla..... | 20 |
| 1.2.1.6 Silikony | 20 |
| 1.2.1.7 Polymery | 20 |
| 1.2.1.8 Další ingredience | 21 |
| 1.2.1.9 Příklad výroby rtěnky | 21 |
| 1.3 ŘASENKY | 22 |
| 1.3.1 Složení a výroba řasenek..... | 23 |
| 1.3.1.1 Pigmenty | 23 |
| 1.3.1.2 Emulgátory a zahušťovadla | 23 |
| 1.3.1.3 Oleje..... | 23 |
| 1.3.1.4 Další ingredience | 23 |
| 1.3.1.5 Příklad výroby řasenky | 24 |
| 1.4 OČNÍ STÍNY | 25 |
| 1.4.1 Kompaktní pudrové stíny | 26 |
| 1.4.2 Krémové stíny | 26 |
| 1.4.3 Tužky..... | 26 |
| 1.4.4 Příklad výroby očních stínů | 27 |
| 2 MIKROBIOLOGICKÁ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ | 28 |
| 2.1 KOŽNÍ MIKROFLÓRA..... | 29 |
| 2.1.1 Rod <i>Staphylococcus</i> | 29 |
| 2.1.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> | 29 |
| 2.1.2 Rod <i>Streptococcus</i> | 30 |
| 2.1.3 Rod <i>Micrococcus</i> | 30 |
| 2.1.4 Koryneformní bakterie | 30 |

| | | |
|--------------------------------|--|-----------|
| 2.1.5 | Gramnegativní bakterie | 31 |
| 2.1.6 | <i>Malassezia</i> spp. | 31 |
| 2.2 | VYBRANÉ MEZINÁRODNÍ MIKROBIOLOGICKÉ NORMY | 31 |
| 2.2.1 | ČSN EN ISO 17516 Kosmetika – Mikrobiologie – Mikrobiologické limity | 31 |
| 2.2.2 | ČSN EN ISO 21148 Kosmetika – Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro mikrobiologické vyšetřování | 31 |
| 2.2.3 | ČSN ISO 18415 Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz specifických a nespecifických mikroorganismů | 32 |
| 2.2.4 | ČSN EN ISO 22717 Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 32 |
| 2.2.5 | ČSN EN ISO 22718 Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz <i>Staphylococcus aureus</i> | 33 |
| 2.2.6 | ČSN EN ISO 21149 Kosmetika – Mikrobiologie – Stanovení počtu a průkaz aerobních mezofilních bakterií | 33 |
| 2.2.7 | ČSN EN ISO 29621 Kosmetika – Mikrobiologie – Pokyny pro posuzování rizika a identifikaci mikrobiologicky málo rizikových výrobků | 33 |
| 2.3 | RIZIKA VÝROBY | 34 |
| 2.3.1 | Voda | 34 |
| 2.3.2 | Suroviny | 34 |
| 2.3.3 | Osobní hygiena..... | 35 |
| 2.3.4 | Mikrobiologické aspekty správné výrobní praxe | 36 |
| 2.3.4.1 | Oddělení kontroly kvality | 36 |
| 2.3.4.2 | Personální výcvik..... | 36 |
| 2.3.4.3 | Osobní zodpovědnost..... | 36 |
| 2.3.4.4 | Čištění a údržba vybavení..... | 37 |
| 2.3.4.5 | Kontrola výroby a výrobního procesu | 37 |
| 2.3.4.6 | Vzorkování a testování meziproductů a konečných produktů..... | 37 |
| 2.3.4.7 | Kontrola mikrobiální kontaminace | 38 |
| 2.3.4.8 | Laboratorní kontroly | 38 |
| 2.4 | MIKROBIOLOGICKÁ KONTAMINACE DEKORATIVNÍ KOSMETIKY | 38 |
| 2.4.1 | Kontaminace spotřebitelem..... | 39 |
| 2.4.2 | Mikrobiologická kontaminace řasenek | 39 |
| 2.4.3 | Mikrobiologická kontaminace tužek na oči a rty | 40 |
| 2.4.4 | Mikrobiologická kontaminace rtěnek | 41 |
| 2.4.5 | Mikrobiologická kontaminace očních stínů a pudrů..... | 41 |
| 2.4.6 | Mikrobiologická kontaminace dekorativní kosmetiky v kosmetických salonech..... | 41 |
| II PRAKTICKÁ ČÁST | | 43 |
| 3 | CÍLE PRÁCE | 44 |
| 4 | VÝROBA DŘEVĚNÝCH KOSMETICKÝCH TUŽEK..... | 45 |
| 4.1 | VÝROBA JÁDRA | 45 |
| 4.2 | VÝROBA SUROVÉ TUŽKY | 48 |
| 4.2.1 | Extrudované jádro | 48 |
| 4.2.2 | Nalévané jádro – Soft linka | 50 |
| 4.2.3 | Dokončování | 51 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 5 | STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ..... | 55 |
| 5.1 | VLIV TEXTURY, TECHNOLOGIE A VELIKOSTI ZAKÁZKY..... | 55 |
| 5.2 | VLIV DEKÁDY, MĚSÍCE A ROKU | 56 |
| 5.3 | SOUHRN A DOPORUČENÍ VYPLÝVAJÍCÍ ZE STATISTICKÉ ANALÝZY DAT | 58 |
| 6 | EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 59 |
| 6.1 | LABORATORNÍ VYBAVENÍ | 59 |
| 6.2 | ŽIVNÉ PŮDY, MIKROBIOLOGICKÉ TESTY A CHEMIKÁLIE..... | 59 |
| 6.3 | DODANÉ VZORKY | 61 |
| 6.3.1 | Extrudovaná technologie..... | 61 |
| 6.3.2 | Nalévaná technologie | 62 |
| 6.3.3 | Ostatní vzorky | 62 |
| 6.4 | PRACOVNÍ POSTUP..... | 62 |
| 6.4.1 | Příprava vzorků | 62 |
| 6.4.2 | Kultivace | 63 |
| 6.4.3 | Celkové počty..... | 63 |
| 6.4.4 | Negativní kontrola..... | 63 |
| 6.4.5 | Pozitivní kontrola | 63 |
| 6.4.6 | Charakterizace izolovaných mikroorganismů..... | 64 |
| 6.4.6.1 | Barvení podle Grama | 64 |
| 6.4.6.2 | Test KOH..... | 64 |
| 6.4.6.3 | Katalázový test..... | 64 |
| 6.4.6.4 | Stafylázový test..... | 64 |
| 6.4.6.5 | STAPHYtest 16 | 65 |
| 6.4.6.6 | STREPTOtest 16..... | 65 |
| 7 | VÝSLEDKY A DISKUZE..... | 66 |
| 7.1 | ZAKÁZKA A | 66 |
| 7.2 | ZAKÁZKA B..... | 67 |
| 7.3 | ZAKÁZKA C..... | 68 |
| 7.4 | ZAKÁZKY D A E | 69 |
| 7.5 | ZAKÁZKA F | 69 |
| 7.6 | ZAKÁZKY G A H..... | 70 |
| 7.7 | ZAKÁZKA I..... | 70 |
| 7.8 | ZAKÁZKA J..... | 71 |
| 7.9 | ZAKÁZKY K A L..... | 71 |
| 7.10 | MASTEK | 71 |
| 7.11 | XIAMETR..... | 72 |
| 7.12 | DŘÍVKA | 72 |
| 7.13 | NEGATIVNÍ A POZITIVNÍ KONTROLA | 73 |
| 7.14 | SOUHRN VÝSLEDKŮ ZÍSKANÝCH V PRAKTICKÉ ČÁSTI..... | 75 |
| | ZÁVĚR | 77 |

| | |
|--|-----------|
| SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY..... | 78 |
| SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK..... | 84 |
| SEZNAM OBRÁZKŮ | 85 |
| SEZNAM TABULEK..... | 86 |

ÚVOD

Kosmetika se používá celosvětově již po 6000 let. Dokumentované je například používání ricinového oleje jako ochranného balzámu ve starověkém Egyptě, včelího vosku jako pleťového krému ve starověkých civilizacích, olivového oleje a růžové vody ve starověkém Římě. Kosmetika byla také používána v Persii, starém Řecku, Japonsku, Číně, Evropě i Africe. Svě rty údajně jako první zkrášlovaly ženy v Mezopotámii, nejspíš tak, že drtily drahé kameny, které aplikovaly na rty. Vzhled je neodlučitelnou součástí lidské existence, většina lidí vidí sama sebe jako odraz v zrcadle a chtějí být označeni za krásné. Estetický koncept krásy se však často mění a standardy krásy jsou modifikovány v mnoha rozměrech. Jsou ovlivněny sociálními, materiálními, etnickými a náboženskými faktory a místními zvyky. Kosmetika se neustále vyvíjí, v dnešní době je na trhu nepřehledné množství přípravků o různém složení a účinnosti. S rostoucí diverzitou kosmetického trhu logicky narůstá i potřeba zajistit bezpečnost a zdravotní nezávadnost kosmetických přípravků.

Mikroorganismy v kosmetice mohou způsobit kažení výrobku, a pokud jsou patogenní, představují vážné riziko pro zdraví spotřebitele. Většina kosmetických výrobků obsahuje mnoho složek, které jsou vhodné pro mikrobiální růst, navíc produkce kosmetiky není sterilní proces. Kosmetika může být kontaminována v průběhu výroby mikroorganismy vyskytujícími se v prostředí nebo v surovinách, ale také v průběhu používání spotřebitelem. Proto je dnes k dispozici řada konzervantů, které by měly kontaminaci eliminovat. Pro výrobu kosmetiky byly vytvořeny postupy Správné výrobní praxe, které sice nejsou ze zákona povinné, většina výrobců je však dobrovolně dodržuje. Důležitá je kontrola mikrobiologické nezávadnosti produktů výrobcem.

Tato práce probíhala ve spolupráci s firmou vyrábějící dekorativní kosmetiku. Běžně probíhá pouze testování finálního výrobku, kosmetické vzorky vybrané pro tuto práci však byly odebírány v různých fázích výroby. Cílem této bližší mikrobiologické analýzy je lepší pochopení mikrobiologické kontaminace při výrobě a samozřejmě také zlepšení kvality nabízených produktů. Dekorativní kosmetika je sice jen zřídka původcem infekčních onemocnění, určité riziko však existuje. Proto je potřeba věnovat tomuto tématu pozornost. Vzhledem k obrovskému objemu výroby je množství otestovaných šarží relativně nízký, tato práce však může být vnímána jako základ pro daleko rozsáhlejší mikrobiologickou analýzu výrobního postupu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 DEKORATIVNÍ KOSMETIKA

Funkcí dekorativní kosmetiky je zlepšení vzhledu a ochrana kůže člověka, ale její používání má též psychologický dopad. Může dodat pocit jistoty a elán, také pocit uspokojení ženám, které chtějí změnit svůj vzhled. Do této kategorie kosmetiky spadá široká škála produktů aplikovaných na oči a oční okolí, pokožku obličeje, rty a nehty. Tyto přípravky obvykle kombinují optický efekt (barva, lesk, rozptyl světla) s vylepšením vzhledu pokožky (toner, korektor, výplň vrásek, aktivní přísady např. pro růst nehtů). V následujících podkapitolách budou charakterizovány základní typy přípravků dekorativní kosmetiky [1, s. 370], [2, s. 1340].

1.1 Make-up

Účelem make-upu je sjednotit pokožku a zakrýt drobné nedokonalosti, zároveň však nebránit pleti dýchat. Odstín by měl být co nejbližší přirozené barvě pleti. Je získáván kombinací oxidů železa dispergovaných v oleji nebo glykolech. Dále jsou používány bílé pudrové přísady (mastek, kaolin, oxid křemičitý, polymetylmakrylát atd.) podle požadovaného matného efektu a stupně krytí [2, s. 1341], [3, s. 145].

Make-up může být ve formě emulze olej ve vodě, voda v oleji nebo voda v silikonu, v bezvodé formě nebo ve formě vodného gelu. Musí splňovat různé požadavky, jako je snadná a příjemná aplikace, příjemný pocit na pokožce, konečný homogenní, sjednocující a neokluzivní film, více či méně matný vzhled a stupeň krytí, celodenní výdrž (odolnost vůči sebua pocení), avšak i péče o pleť. Zároveň musí splňovat různé technické vlastnosti, jakými jsou dlouhodobá stabilita, dermatologická bezpečnost, nekomedogenita a soulad s legislativou dané země [3, s. 146], [4, s. 31].

Barevné nedokonalosti pleti jsou dvojího typu: hnědé/věkové skvrny a zarudnutí. Z toho důvodu se v make-upu používají pigmenty, které tyto nedokonalosti kontrují, a to dvěma způsoby: přidáním vyššího množství pigmentů nebo neutrálních plniv jako mastek nebo oxid titaničitý pro získání vyššího stupně krytí v neutrálním odstínu, nebo použitím pigmentů v barvách komplementárních k barevné nedokonalosti. Druhý způsob je obvykle využíván u korektorů na zarudnutí, kde je přítomen zelený pigment [2, s. 1341–1342].

Velmi důležitá je prodyšnost make-upu, a to kvůli zabránění hromadění seba a potu na rozhraní make-upu a pleti. Funkce kůže jako přirozené membrány by měla být zachována a co nejméně narušena, aby nedošlo k výskytu vyrážky nebo i vážnějších vedlejších

účinků. K tomu mohou pomoci filmotvorné přísady jako polymery, které zároveň zajišťují integritu filmu a zvyšují odolnost proti doteku. V Evropě se klade spíše důraz na kompatibilitu s pokožkou, méně se tedy používají „těžké“ make-upy (na bázi oleje) nebo make-upy vysoce krycí obsahující velké množství pigmentů [2, s. 1342].

1.1.1 Složení a výroba make-upu

1.1.1.1 Pigmenty

Pigmenty dodávají barvu konečnému výrobku. Mohou být dva typy: absorpční a interferenční pigmenty. U absorpčních pigmentů je barva výsledkem odrazu neabsorbované části světelného spektra. Interferenční pigmenty selektivně odráží vlnové délky viditelného světla, takže se tyto pigmenty chovají podobně jako zdroj světla [2, s. 1347].

Pro make-up se nejvíce využívá kombinace žlutých, červených a černých oxidů železa [5, s. 252].

1.1.1.2 Plniva

Účelem plniv je přidat receptuře opacitu a upravit transparentnost, od jemného po vysoce krycí make-up. Plniva mohou make-up zesvětlit (při koncentraci vyšší než 5%) a také zahustit. Nejčastějšími plnivy jsou oxid titaničitý, mastek a silika. Na krycí schopnost a vzhled make-upu na pokožce má také vliv velikost částic a index lomu. Jemnější částice propůjčují hebký vzhled než větší částice, přičemž velikost částic 0,2-0,3 μm má nejvyšší krycí schopnost. Pro efekt rozptylu světla na pokožce se někdy používají částice oxidu křemičitého, což vytváří tzv. efekt měkkého zaostření [1, s. 374], [2, s. 1348-1349].

1.1.1.3 Surfaktanty

Tyto ingredience obvykle závisí na typu a koncentraci jak pigmentů, tak plniv. Jejich úkolem je dispergovat a zachovávat homogenní disperzi v tekutém výrobku. Mezi často používané surfaktanty patří stearáty, dimethicony, oleáty a polyoxyethylen ethery [2, s. 1349].

1.1.1.4 Zahušťovadla

Zahušťovadla slouží k úpravě konzistence výrobku a zároveň ke snížení rizika sedimentace pigmentu. Používají se, v případě potřeby, v malých množstvích, jelikož pigmenty a plniva zajišťují poměrně vysokou viskozitu [2, s. 1349].

1.1.1.5 Filmotvorné látky

Pro lepší roztíratelnost na pokožce je možné použít oleje a silikony. Dimethicony jsou typickou složkou zlepšující roztíratelnost a dodávající následný sušší pocit pokožky po aplikaci. Tyto látky také pomáhají adhezi make-upu k pleti během první minuty po aplikaci. Je potřeba najít dobrý kompromis mezi zaschnutím make-upu na pokožce a časem, který uživatel potřebuje na jeho rovnoměrné nanesení na požadovaná místa [2, s. 1349].

1.1.1.6 Polymery

Polymery jsou v make-upech široce používané z více důvodů. Zvyšují adhezi filmu k pokožce, přináší filmu stabilitu tím, že napomáhají rovnoměrné disperzi pigmentů, zatímco poskytují určitý stupeň pórovitosti a prodyšnosti. Pro dlouhotrvající adhezi a zachování pigmentů na pokožce se obvykle využívá kombinace několika polymerů. Díky tomu se lze vyhnout stírání make-upu a skvrnám na oblečení. Polymery také mohou mít matující efekt díky schopnosti absorpce seba, čímž zabraňují vytvoření lesku a mastného vzhledu pleti [2, s. 1349].

1.1.1.7 Přídavné látky

Do této kategorie lze zařadit vodu, látky na úpravu pH, konzervanty a antioxidanty. Používají se pro stabilitu produktu a jeho kompatibilitu s kůží. Lze též použít alkoholy pro urychlení zasychání make-upu [2, s. 1350].

1.1.1.8 Příklad výroby make-upu

V Tabulce 1 je uveden příklad složení silikonového make-upu. Výroba probíhá následovně: fáze A je zahřívána na 72°C, dokud se nerozpustí, a poté zchlazena na pokojovou teplotu. Po zchlazení se do fáze A přidá fáze B a směs je míchána, dokud nevznikne jednotná hmota. Ingredience fáze C jsou pulverizovány a poté přidány k fázi AB za míchání o vysoké rychlosti. V další nádobě je po dobu deseti minut homogenizována fáze D. Mezitím je míchána fáze E, dokud není jednotná, a poté přidána k fázi D. Směs je míchána, dokud nevznikne jednotná hmota. V lopatkovém mixéru se do fáze ABC velice pomalu přidává fáze DE, po kompletním smíchání je hmota homogenizována v homogenizéru po dobu pěti minut [2, s. 1345].

Tabulka 1: Složení silikonového make-upu [2, s. 1344–1345].

| Fáze | Ingredience (dle INCI) | Obsah [hm. %] |
|------|---|---------------|
| A | Ethylhexyl Palmitate | 3,00 |
| | Isodecyl Neopentanoate | 4,00 |
| B | Cyclopentasiloxane, PEG/PPG-18/18 Dimethicone | 5,00 |
| | Lauryl PEG-9, Polydimethyl Siloxyethyl Dimethicone | 2,30 |
| | Cyclopentasiloxane, Dimethicone Vinyltrimethylsiloxysilicate crosspolymer | 5,00 |
| | Cyclopentasiloxane | 6,00 |
| C | Silica | 1,00 |
| | Titanium Dioxide (and) Isopropyl Titanium Triisostearate | 6,70 |
| | Iron Oxides (and) Isopropyl Titanium Triisostearate | 0,87 |
| | Iron Oxides (and) Isopropyl Titanium Triisostearate | 0,33 |
| | Iron Oxides (and) Isopropyl Titanium Triisostearate | 0,14 |
| | Mica (and) Isopropyl Titanium Triisostearate | 1,10 |
| D | Aqua/Water | 60,31 |
| | Sodium Chloride | 0,50 |
| E | Propylen Glycol | 3,00 |
| | Phenoxyethanol, Methylparaben, Butylparaben, Ethylparaben, Propylparaben | 0,75 |
| | Celkem: | 100 |

1.2 Rtěnky a lesky na rty

Rtěnky ženy využívají už od pradávna. Zatímco dříve byly používány především k dekoraci (barva, lesk), dnes mají i další přednosti, jako je ochrana před UV zářením, hydratace nebo dodávání plnosti rtům. Velký význam rtěnek je zřejmý z široké škály dostup-

ných odstínů a forem. Ať jsou pevné, polotuhé či tekuté, měly by být snadno aplikovatelné a poskytovat rtům ochranu a komfort [2, s. 1350], [3, s. 150].

Mezi kosmetické vlastnosti, které by rtěnka měla mít, patří atraktivní odstín, homogenní barevný film po aplikaci, výdrž, a neměla by mít nepříjemný odér nebo chuť. Z technologických vlastností by dále měla splňovat tyto: dlouhodobou stabilitu (neměla by se tzv. potit ani vykvétat), nelámavost, odolnost vůči teplotám od 4 do 40°C a dermatologickou bezpečnost [1, s. 386], [3, s. 150].

Vzhledem k tomu, že může dojít k nechtěnému požití, byl zájem o zjištění množství a určení případných limitů obsahu olova a dalších těžkých kovů v těchto produktech. Nedávné studie uskutečněné v různých částech světa (Saudská Arábie, Evropská unie, Spojené státy) poskytly mnohá data, ze kterých vyplývá, že u většiny rtěnek je obsah olova pod limitem, který by mohl být považován za zdraví nebezpečný, avšak existují i rtěnky, které olova obsahují větší množství. Nebezpečí hrozí při používání takové rtěnky těhotnými ženami a dětmi, jelikož olovo je vysoce toxické pro plod i děti, jejichž nervový systém se ještě vyvíjí [6], [7, s. 463].

V roce 2016 byl trendem v oblasti rtěnek matný vzhled, pro rok 2017 však přichází opět do módy lesklé rty. Krom klasické červené barvy jsou trendy červeno-fialové až temně fialové odstíny, ale také neutrální odstíny hnědé. Navrací se též metalický efekt v jakékoliv barvě [8].

1.2.1 Složení a výroba rtěnek

1.2.1.1 Pigmenty a barviva

Snad nejdůležitější vlastností rtěnky je její barva, jelikož bývá při koupi rozhodujícím faktorem. Základem bývá nejčastěji červená, ale trh nabízí nepřebornou škálu odstínů od oranžovo-žluté, přes čistě červenou, až po fialové a hnědé odstíny. Lze se setkat i s méně tradičními barvami, jako je zelená, modrá nebo černá [2, s. 1352], [5, s. 252].

Pro červeno-hnědé a hnědé odstíny můžou být použity oxidy železa, kdežto organické pigmenty (pravé pigmenty, tonery, lakes) poskytují jasné oranžové, červené a fialové odstíny. Nejvíce používané pigmenty jsou „lakes“ (mořidlová barviva), což jsou nerozpustné pigmenty připravené vysrážením vodorozpustného barviva s kovovým iontem na substrátu. Pigmenty jsou jemně mechanicky dispergovány v lipidové bázi, která k nim musí mít afini-

tu, aby bylo umožněno jejich smáčení, disperze a stabilita v suspenzi. Koncentrace pigmentů se pohybuje obvykle v rozmezí 4 až 20% [2, s. 1353], [3, s. 150], [5, s. 252].

Barva rtěnky může být také ovlivněna stupněm transparentnosti, od přirozených, takřka bezbarvých rtěnek, přes jemně barvící až po vysoce krycí. Pro zvýšení krycí schopnosti lze použít oxid titaničitý, který má ale bílou barvu, a tedy zesvětluje výsledný odstín a také přináší matný efekt, což může být v některých případech nežádoucí [2, s. 1352–1353].

Pro další optické efekty jako lesk, hedvábný nebo glitterový vzhled je možno použít interferenční, perleťové pigmenty založené nejčastěji na slídě a borosilikátech, které selektivně odráží určité vlnové délky. Zde je velmi důležitá velikost částic, větší částice přináší glitterový efekt, jemnější potom hedvábný vzhled rtěnky. Takovéto pigmenty se přidávají až ke konci výrobního procesu, aby nedošlo k jejich poškození [2, s. 1353], [3, s. 151].

Některé rtěnky mohou obsahovat i barvivo, například eosin a bromofluorescin. Barvivo je aplikováno ve svojí nerozpustné, kyselé formě oranžové barvy, poté penetruje do svrchních vrstev pokožky, kde dochází k neutralizaci, barvivo tak přechází do alkalické formy a obarví rty fialovo-červeně. Tímto barva na rtech déle vydrží, může však dojít k vyvolání senzibilizace, iritace nebo i alergické reakce u spotřebitele [2, s. 1352], [5, s. 252].

1.2.1.2 Ingredience poskytující lesk

Rtěnky a lesky na rty mají často rtům dodat vysoký lesk a třpyt. Toho obvykle bývá dosaženo použitím olejů, esterů a silikonů, které pomáhají vytvořit na rtech homogenní film a zvýší odraz světla tím, že zvýší index lomu nanesené vrstvy. Tyto ingredience navíc napomáhají kohezi výrobku, obzvlášť pokud jsou použita plniva a větší pigmenty, které kohezi při lití rtěnky narušují [2, s. 1353].

1.2.1.3 Oleje

Pro výrobu rtěnek se používají oleje, které jsou za normálních teplot tekuté nebo mají rozmezí tání okolo tělesné teploty. Jejich viskozita se pohybuje v rozmezí od tekutých až po ty s viskozitou blízkou voskům. Velmi často a také dlouho používaným je ricinový olej, který dodává rtěnce vhodnou viskozitu. Dalšími příklady jsou kokosový olej, jojobový vosk a makadamový olej, hydrogenované rostlinné oleje, minerální oleje, parafin a syntetické estery mastných kyselin. Mnoho olejů potřebuje korozpouštědla, jako mastné alkoholy, k zajištění dobrého rozpuštění v receptuře. Typická koncentrace olejů se pohybuje

v rozmezí od 6 do 10%. Nadměrné množství olejů může způsobit těžký pocit na rtech, příliš silnou vrstvu rtěnky při aplikaci a žluknutí [1, s. 386], [2, s. 1353].

1.2.1.4 Vosky

Vosky jsou za pokojové teploty tuhé, proto se používají ke zvýšení viskozity rtěnek a vyvažují účinek olejů a esterů. Zvyšují bod tání, což ovlivňuje množství produktu naneseného na rty spotřebitelem při aplikaci. Tato vlastnost musí být upravena v závislosti na pigmentaci a předpokládaném stupni krytí. Nadměrné množství vosků v receptuře může vést k lepivosti, zrnitosti a nepříjemnému pocitu při aplikaci. Obvyklé množství vosků ve rtěnkách je mezi 8 a 18%. Nejčastěji používanými přírodními vosky jsou včelí, karnaubský, kandelitový a japonský vosk, častými minerálními vosky jsou tuhý parafin, mikrokrystalický vosk, ceresin a další [1, s. 386], [2, s. 1353].

1.2.1.5 Rozpouštědla

Pro dispergaci pigmentů a vosků se obvykle používají alkoholy a estery, jako lineární a rozvětvené alkyl estery, od stearátů (např. glyceryl-, iso-, hydroxyl-) po palmitáty, kaprylátů a další. Nejčastější koncentrace rozpouštědel se pohybuje mezi 3 a 10% [2, s. 1354].

1.2.1.6 Silikony

Tyto ingredience mohou mít konzistenci od tekuté po voskovitou. Dodávají rtěnce lehkost a snižují mastný, těžký pocit na rtech. Typická koncentrace je 1 až 5% [2, s. 1354].

1.2.1.7 Polymery

Polymery dodávají rtěnce filmotvorné vlastnosti a také zajišťují celkovou kohezi filmu po nanesení na rty. Rtěnka se stává více odolnou při nošení. Polymery s vysokou molekulovou hmotností se většinou používají pro adhezi filmu a jeho flexibilitu, díky které kopíruje pohyby rtů, zatímco větvené polymery slouží k vytvoření trojrozměrné sítě uvnitř filmu, která v sobě zachycuje pigmenty, a tím brání přenosu rtěnky na textilie nebo např. skleničky. Polymery mohou také přispět k lesku rtěnky tím, že zlepší kvalitu filmu na rtech a/nebo zvýší index lomu rtěnky. Používají se v koncentracích od 0,2 do 2% [2, s. 1354].

1.2.1.8 Další ingredience

Do rtěnek se často kvůli ochraně rtů před ultrafialovým zářením přidávají UV filtry. UV faktor se obvykle pohybuje mezi 8 a 15. Tyto ingredience jsou obvykle oleje, takže pak musí být použito vyšší množství vosků pro vyrovnání viskozity. Dobré disperze UV filtrů lze dosáhnout použitím alkoholového korozpouštědla [2, s. 1354].

Někdy jsou používány humektanty, jako například glycerol. To napomáhá nejen udržovat rty v dobrém stavu, ale také dodat jim plnost, a tím zvýšit atraktivitu. V malém množství se lze v receptuře také setkat s antioxidanty (v koncentracích 0,1—1%), které mají likvidovat volné radikály vznikající v pokožce rtů díky působení UV záření. Kvůli možnému nepříjemnému oděru tukové báze se často používá parfemace, obvykle ovocná. Vůně by tento oděr měla dostatečně zakrýt, ale neměla by být příliš výrazná [2, s. 1354], [3, s. 151].

1.2.1.9 Příklad výroby rtěnky

Pigmenty se rozmělní v části ricinového oleje pomocí trojválcového mlýnu nebo hmoždíře. Poté se přidá zbytek ricinového oleje a ostatní ingredience (Tabulka 2), kromě perlet'ového pigmentu a parfému, směs se zahřívá v parní lázni na 80–85°C. Následně se přidá perlet' a směs se míchá, dokud není homogenní. Směs se zvolna ochlazuje a při nejnižší možné teplotě se přidá parfém. Hmota se odlijí do forem a nechá ztunout [9].

Tabulka 2a: Složení rtěnky s vysokým leskem [9].

| Ingredience (dle INCI) | Obsah [hm. %] |
|-------------------------------------|---------------|
| Ricinus communis (Castor) Oil | 59,4 |
| Euphorbia Cerifera (Candelilla) Wax | 8,0 |
| Cetyl Acetate | 7,5 |
| Microcrystalline Wax | 5,0 |
| Propylene Glycol Laurate | 5,0 |
| Lanolin Oil | 5,0 |
| Copernicia Cerifera (Carnauba) Wax | 2,0 |

Tabulka 2b: Složení rtěnky s vysokým leskem [9].

| | |
|-----------------------------|------|
| Propylparaben | 0,1 |
| Mica (and) Titanium Dioxide | 7,0 |
| Pigments | 1,0 |
| Parfum | q.s. |

1.3 Řasenky

Řasenky používá asi 90 % žen pro zlepšení a zvýraznění přirozené krásy jejich očí. Za posledních zhruba 20 let je vývoj řasek velice aktivní oblastí, vzhledem k tomu, že je od receptury vyžadováno vylepšení velmi rozdílných aspektů řas: barva, fyzikální charakteristiky (natočení a zahuštění) a výdrž při nošení (odolnost vůči vodě a potu). Receptura musí být také přizpůsobena typu použitého aplikátoru, obzvláště ve smyslu vztahu viskozity a fluidity při aplikaci vůči vypařování rozpouštědla. O důležitosti posledního bodu vypovídá četné množství patentů na kartáčkové aplikátory [2, s. 1355], [3, s. 149].

Další vlastnosti, které by řasenka měla splňovat, jsou snadná aplikace, tvorba rovnoměrného filmu na řasách, oddělení řas, rychlé schnutí a flexibilita řas bez jejich tvrdnutí. Naopak by neměla tvořit žmolky a rozmazávat se, ale měla by jít snadno odličít. Neměla by oči dráždit, musí být dermatologicky a oftalmologicky bezpečná a splňovat legislativu země prodeje. V neposlední řadě také záleží na typu řas uživatele. Mohou mít různou délku, hustotu, jemnost a mohou růst směrem vzhůru anebo dolů. Proto u volby řasenky záleží na individuálních preferencích [1, s. 393], [3, s. 149].

V minulosti byla používána řasenka v pevné, lisované formě a aplikována pomocí mokrého kartáčku. I v dnešní době se s ní lze setkat, i když v malém měřítku. Mnoho lidí s citlivou pokožkou však dokážou snést pouze tuto méně populární formu řasenky. Obsahuje dvě hlavní slisované ingredience: mýdlo a pigmenty. Tato formulace bohužel není voděodolná a rozmazává se slzami či pocením, ale alespoň je alternativou v případech, kdy tekutá řasenka není vhodná. Dnes jsou vyráběny hlavně řasenky ve formě emulze, případně suspenze, v tubách opatřených rozličnými kartáčkovými aplikátory. Hlavní typy řasek jsou na bázi vody (emulze olej ve vodě nebo voda v oleji), nebo na bázi organického roz-

pouštědla (bezvodé suspenze). Oba typy poskytují hladkou a homogenní aplikaci na řasy [2, s. 1355], [3, s. 149], [6, s. 1047], [10, s. 427].

1.3.1 Složení a výroba řasenek

1.3.1.1 Pigmenty

Pro nejlepší kontrast řas oproti pokožce a oku se nejčastěji používá černý pigment, a to částice černého oxidu železa (směs $\text{FeO} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ a Fe_2O_3). Pro lepší disperzi černého pigmentu a prohloubení vnímání černé se často přidává oxid titaničitý. Tón hlavní barvy lze upravit přidáním dalších pigmentů, např. hnědých, červených a modrých (např. na bázi slídy). Pigmenty mohou být absorpční, nebo interferenční. Obvykle se používá druhý typ, nejen proto, že je více vnímán, jelikož odráží specifické vlnové délky, ale také díky nízké toxicitě slídy při kontaktu s pokožkou očního víčka a mukózní membránou obsahující kořínky řas [2, s. 1355–1356], [3, s. 144].

Na trhu se lze setkat i s výraznějšími barvami, jako hnědou, zelenou nebo modrou, ovšem ty představují menší frakci spotřebitelského využití. I pro tyto barvy se obvykle používají minerální pigmenty [2, s. 1356], [3, s. 149].

1.3.1.2 Emulgátory a zahušťovadla

Emulgátory jsou přidávány pro vytvoření stabilní disperze pigmentů. Zahušťovadla jako vosky nebo hydroxyethylcelulóza slouží k zahuštění suspenze a mohou přispět k objemu řasenky nanesené na řasy při aplikaci. Jsou široce kompatibilní s většinou recepturních bází. Také ale zvyšují viskozitu, proto musí být do receptury zařazeny ingredience pro naředění, a tudíž hladší aplikaci řasenky, jako oleje, emolienty [2, s. 1356].

1.3.1.3 Oleje

Jak již bylo zmíněno, jednou z funkcí olejů v receptuře je úprava viskozity a homogenity při aplikaci. Další funkcí je zlepšení adheze k řasovému keratinu a výživa řas díky tomu, že slabě penetrují do kůry řas [2, s. 1356].

1.3.1.4 Další ingredience

Speciální ingredience mohou být do receptury zařazeny jak pro zlepšení textury a pravidelného nánosu filmu, tak pro další výhody. Patří mezi ně promotory adheze, stabilizátory

formulace, polymery, aktivní ingredience a vůně. Tyto ingredience se využívají čím dál více pro zvýšení stability i pro nové benefity finálního produktu [2, s. 1356].

Promotory adheze, jako např. silikony, zlepšují kompatibilitu filmu řasenky s keratinem kutikuly řas. Adheziva napomáhají prevenci drolení řasenky pod denním stresem, jako je kontakt s prsty, ohýbání nebo tření mezi řasami. Stabilizátory jsou používány jako homogenizátory v řasence. Mechanické výhody, jako odolnost proti drolení a proti vodě, mohou být dodány polymery. Ty mají ve filmu na řasách dvě funkce: zachycení pigmentů a zajištění celkové integrity filmu. Částice pigmentů zadržují vytvořením trojrozměrné sítě ve filmu, a tím zabraňují jejich vyplavení při kontaktu s vodným prostředím, např. slzami. Navíc filmu dodávají soudržnost, ale zároveň schopnost přizpůsobení se ohýbání řas při denních činnostech. Řasenka se tedy neláme nebo neodlupuje. Při použití polymerů (např. metylmetakrylát) však mohou případné reziduální monomery působit jako irritanty nebo potenciální zdroje jiné toxicity. Hladiny těchto reziduí jsou ale minimalizovány specifickými kontrolami [2, s. 1358], [6, s. 1047].

Do řasenky, případně do báze pod řasenku, mohou být dodány aktivní ingredience s různými účinky, jako posílení slabých řas nebo podpora jejich růstu. Růst stimulační ingredience mají penetrovat do řasového folikulu a působit na keratinizaci a diferenciaci buněk. Nezbytné jsou konzervanty, aby množství mikroorganismů ve výrobku bylo co možná nejmenší, a tím se minimalizovala možnost infekce očí [2, s. 1360] [6, s. 1048].

1.3.1.5 Příklad výroby řasenky

Řasenka typu olej ve vodě se připraví tak, že se zahřejí všechny ingredience fáze B na 80°C a za stálého míchání se přidá fáze A. V další nádobě se smíchá šelak s vodou a zahřeje se na 75°C, poté se vmíchají ostatní ingredience fáze C. Fáze C se pomalu přimíchává k fázi AB za teploty 75°C a směs se homogenizuje 2 minuty. Hmota se za stálého míchání ochladí na pokojovou teplotu. Nakonec se upraví pH na hodnotu 7,0–7,5. Ingredience jsou vypsány v Tabulce 3 [11].

Tabulka 3: Složení řasenky typu olej ve vodě [11].

| Fáze | Ingredience (dle INCI) | Obsah [hm. %] |
|------|-------------------------------------|---------------|
| A | Iron Oxides, Mica, Titanium Dioxide | 15,00 |
| B | Stearic Acid | 8,00 |
| | Cera alba (Beeswax) | 6,00 |
| | Copernicia Cerifera (Carnauba) Wax | 4,00 |
| | Octyldodecanol | 3,00 |
| | Sorbitan Sesquioleate | 2,00 |
| | Propylparaben | 0,10 |
| | Tocopheryl Acetate | 0,50 |
| C | Triethanolamine | 2,30 |
| | Shellac | 8,00 |
| | Methylparaben | 0,25 |
| | Biotin | 0,01 |
| | Aqua/Water | 50,84 |

1.4 Oční stíny

Oční stíny jsou přípravky vytvořené pro prohloubení očí pomocí barevného pozadí, které dodá víčku kontury. Volba odstínu závisí na barvě očí. Nanáší se na oční víčka a pod obočí. Měly by se snadno nanášet a mít k pokožce dobrou adhezi, neměly by mít po aplikaci mastný lesk, neměly by měnit barvu a rozmazávat se vlivem potu nebo seba. Tyto produkty musí být velmi bezpečné, to znamená velice čisté, nedráždivé, netoxické a nealergenní, jelikož pokožka očního okolí je velmi tenká a citlivá. Stejně jako u řasek je nezbytné použití konzervantů, infekce z mikrobiální kontaminace může vést až k oslepnutí [1, s. 395], [3, s. 148], [6, s. 1048], [12, s. 249], [13, s. 197].

Oční stíny mohou mít různé formy: kompaktní pudry, bezvodé krémy a tužky. Výběr barev je rozsáhlý, od černých, hnědých, přes růžové a fialové po modré a zelené. Stejně tak exis-

tuje řada typů stínů lišících se povrchovými charakteristikami, od matných, přes perleťové k výrazně lesklým. Matného efektu je docíleno oxidem titaničitým, perleťový třpyt poskytuje oxychlorid bismutu, slída či výtažek z rybích šupin a metalický lesk prášky mědi, mosazi, hliníku, zlata a stříbra [10, s. 426].

1.4.1 Kompaktní pudrové stíny

Tato forma je nejpopulárnější. V obalu může být jeden odstín nebo výběr více barev. Aplikuje se pomocí štětce nebo pěnového aplikátoru. Jsou složené z pigmentů dispergovaných v pudrové bázi, která sestává z mastku (dodává jemnost a usnadňuje nanášení), kaolínu, oxidu titaničitého nebo uhličitanu vápenatého. Nezbytná jsou lipofilní pojiva, která zajišťují disperzi pigmentů a kompaktnost. Patří mezi ně například celulóza, přírodní gumy, mastné alkoholy, minerální olej, lanolin nebo anorganické koloidní silikáty. Zabraňují drobení a tvorbě prachu a dodávají textuře jemnost. Těkavé silikony pomáhají produktu zbavit se křídového efektu pudrů. Stearát zinečnatý napomáhá jemnosti textury a adhezi produktu k pokožce [3, s. 148], [12, s. 250], [14, s. 297].

1.4.2 Krémové stíny

Další formou očních stínů jsou krémové stíny, emulze v malých tubách nebo nádobkách. Nanášejí se prstem, pomocí pěnového aplikátoru nebo tyčinkou zabudovanou ve víčku. Jejich konzistence je více nebo méně tekutá, každopádně se musí snadno nanášet a roztírat, aniž by stíny zanechávaly nánosy v záhybu očního víčka. Jsou bohaté na barevné a perleťové pigmenty. Obsahují také rozpouštědla (obvykle uhlovodíky nebo isoparafíny), vosky (podobně jako řasenky), emolienty (kokosové máslo, lanolín), gelační činidla a plniva (mastek, škroby, polymery). Díky silikonům mohou být i voděodolné. Tento typ stínů však není vhodný pro mastnou pleť [3, s. 148], [6, s. 1048], [10, s. 427], [12, s. 250].

1.4.3 Tužky

Tužky jsou tvořeny voskovou bází, ve které jsou dispergovány pigmenty. Báze je velmi podobná rtěnkám. Vhodný poměr vosků a olejů pomáhá získat extrudovanou nebo nalévanou barevnou tužku ve válcovém dřevěném nebo plastovém obalu. Tužka by neměla být příliš tvrdá ani měkká, neměla by se snadno lámat a měla by umožňovat aplikaci rovnoměrné linky podél okraje očního víčka [3, s. 148].

1.4.4 Příklad výroby očních stínů

Příklad složení krémových očních stínů je uveden v Tabulce 4. Nejprve se při nízké rychlosti smíchá fáze A. V další nádobě se smíchají složky fáze B a mírně se zahřívají, dokud se neroztaví. Po roztavení fáze B se k ní přidají fáze A a C. Směs je za stálého míchání zahřívána na 80–85°C. Poté se pomalu přidává fáze D, nakonec se směs za stálého míchání ochladí na 55°C a je nalita do zvolených nádobek [15, s. 51].

Tabulka 4: Složení krémových očních stínů [15, s. 51].

| Fáze | Ingredience (dle INCI) | Obsah [hm. %] |
|------|--|---------------|
| A | PPG-2 Myristyl Ether Propionate | 41,28 |
| | Pigments | 25,30 |
| B | Acetylated Glycol Stearate | 21,40 |
| | Silica | 0,92 |
| C | Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil | 7,47 |
| D | Stearic Acid | 3,53 |
| | Parfum | 0,05 |
| | Propylparaben | 0,05 |

2 MIKROBIOLOGICKÁ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ

První zmínka o mikrobiální kontaminaci kosmetiky je z roku 1965, kdy Kallings a kol. ve své zprávě pro Royal Swedish Medical Board poprvé zaznamenali mikrobiální kontaminaci nesterilních farmaceutických a toaletních přípravků. Tato zpráva se stala mezinárodní výzvou, Kallings se spolupracovníky odhalili potřebu vylepšení mikrobiologických kontrol při výrobě a také potřebu zlepšení konzervace produktů. Následovaly výzkumy, které ukázaly, že zhruba 25 % produktů na trhu v té době bylo kontaminovaných mikroorganismy. Mezi lety 2006 a 2015 bylo v systému RAPEX (Informační systém pro rychlou výměnu informací o nebezpečných spotřebitelských výrobcích na vnitřním trhu Evropské unie) nahlášeno 724 kosmetických výrobků, z toho 85 představovalo vážné riziko z důvodu mikrobiální kontaminace. Nejčastější kontaminant byl *Pseudomonas aeruginosa*, dále *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, enterobakterie a další, nespecifikované mikroorganismy [16, s. 17], [17, s. 11], [18, s. 33–38].

Mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků je pro tento průmysl závažným problémem, jelikož může způsobit produktové i ekonomické ztráty. Navíc může představovat riziko pro zdraví spotřebitele. Riziko mikrobiální kontaminace závisí na složení výrobku. Voda a živiny přítomné v kosmetice ji dělají vhodným prostředím pro mikrobiální růst, i když škod na lidském zdraví nebylo nahlášeno příliš mnoho. Nejčastěji mikroorganismy zapříčiní organoleptické změny, jako je nepříjemný zápach, změna viskozity, barvy nebo pH. V dnešní době je snaha vyvíjet receptury, které jsou méně agresivní pro spotřebitele, ale zároveň dobře chráněné před mikrobiální kontaminací. Provádějí se výzkumy nových látek s biocidními vlastnostmi a dobrou toxikologickou kompatibilitou, prováděny jsou i analýzy synergismu a antagonismu směsí konzervantů a hledají se rychlé a spolehlivé metody na detekci mikrobiální kontaminace a testování účinnosti konzervantů v jednotlivých recepturách [3, s. 212], [19, s. 77, 79], [20, s. 70].

Důležitým aspektem ochrany před kontaminací je také vhodně zvolený obal, který má produkt chránit před vnějším prostředím nejen po dobu skladování, ale také užívání. Důležitou roli hraje vhodně zvolený uzávěr, který může poskytnout určitý stupeň ochrany i méně konzervovaným výrobkům [21, s. 379], [22, s. 1479].

2.1 Kožní mikroflóra

Mikroorganismy tvořící kožní flóru se vyskytují na povrchu pokožky a v pilosebaceózních kanálcích. Tyto mikroorganismy se označují jako rezidentní, nebo tranzientní. Aby mohly být označeny za rezidentní, musí být schopny se na pokožce i rozmnožovat, ne pouze přežít. Tranzientní mikroorganismy jsou pouze na pokožce přítomné a v závislosti na různých ekologických faktorech se mohou, ale také nemusí stát rezidenty [23, s. 295].

Většina rezidentních mikroorganismů se nachází v nejsvrchnějších epidermálních vrstvách *stratum corneum* a v horních částech vlasových folikulů. Zbytek rezidentních bakterií sídlí v hlubších částech folikulárních kanálků, některé i mimo dosah dezinfekčních procedur. Tyto bakterie slouží jako rezervoár pro opětovnou kolonizaci, když je povrchová mikroflóra odstraněna. Počet a druhové zastoupení mikroorganismů na pokožce závisí na stupni hydratace, pH, dostupnosti živin, přítomnosti nebo absenci inhibičních materiálů a imunologické toleranci různých částí těla [23, s. 295], [24, s. 3].

V dalším textu jsou blíže popsány nejvýznamnější skupiny či rody mikroorganismů, které se mohou vyskytovat na kůži.

2.1.1 Rod *Staphylococcus*

Staphylococcus epidermidis je nejběžnějším druhem rezidentní flóry, nejvíce se vyskytuje na hlavě a hrudníku. Je zpravidla považován za nepatogenní, riziko infekce je ovšem významné u imunokompromitovaných osob. Jedná se o nepohyblivé, fakultativně anaerobní, grampozitivní koky uspořádané do hroznů. Mezi další časté rezidenty patří *S. capitis* vyskytující se nejčastěji na hlavě (čelo, tváře, obočí, vnější zvukovody, vlasová pokožka), *S. hominis* a *S. haemolyticus*, které jsou nejpočetnější v místech s apokrinními žlázami, jako axily, třísla nebo perineum, a další, koaguláza negativní stafylokoky [16, s. 211, 215], [23, s. 296], [25, s. 92].

2.1.1.1 *Staphylococcus aureus*

S. aureus je velmi častou součástí kožní mikroflóry a vyskytuje se po celém těle (kůže, nos, ústa, hltan, vnitřnosti atd.) u většiny lidí. Často u lidí kolonizuje bez příznaků a žije jako komenzál v nose: 60 % lidí lze označit za občasné nositele, 20 % je kolonizováno nepřetržitě a 20 % lidí touto bakterií kolonizováno není. *S. aureus* patří mezi nejvýznamnější druhy způsobující nozokomiální infekce [16, s. 213].

Je to grampozitivní, koaguláza pozitivní bakterie způsobující řadu různorodých onemocnění různé závažnosti, od málo významných kožních onemocnění až po stavy vážnějších příznaků, jako jsou impetigo, vředy zvané furunkl a karbunkl, abscesy a syndrom opařené kůže, vyskytující se hlavně u dětí. Vznik kožních i jiných infekcí je významně usnadněn porušením kůže nebo sliznic např. poraněním, mohou však vzniknout i v neporušené tkáni působením stafylokokem produkované hyaluronidázy narušující tkáň [25, s. 90–91].

2.1.2 Rod *Streptococcus*

Streptokoky, obzvlášť beta-hemolytické, nejsou z kůže izolovány často. Alfa-hemolytické streptokoky převážně osidlují orofarynx a mohou se rozšířit na blízké kožní plochy. *Streptococcus pyogenes* (streptokok skupiny A) je grampozitivní extracelulární bakteriální patogen. Pyogenní infekce způsobené streptokoky skupiny A postihují kůži, mukózní membrány, mandle a hlubší tkáň a patří mezi ně faryngitida, impetigo/pyoderma, červenka, celulitida, nekrotizující fasciitida a další. Infekce mohou být mírné i extrémně závažné s fatálními následky [16, s. 218], [23, s. 298].

2.1.3 Rod *Micrococcus*

Mikrokoky jsou na zdravé kůži méně početné než stafylokoky, ale jsou relativně důležitější na řídko osídlených, suchých místech pokožky, a u dětí. Jedná se o grampozitivní koky, nejčastějšími druhy jsou *Micrococcus luteus*, striktně aerobní, saprofytická bakterie, a *M. varians*. *M. kristinae* a *M. sedentarius*, které jsou také považovány za součást rezidentní kožní mikroflóry [23, s. 297], [25, s. 71].

2.1.4 Koryneformní bakterie

Jedná se o aerobní, grampozitivní, pleomorfní tyčinky. Patří sem například rody *Corynebacterium*, *Propionibacterium* a *Brevibacterium* [23, s. 297].

Bakterie rodu *Propionibacterium* se nachází nejvíce v mazových žlázách a některé osidlují hlubší části vlasového folikulu. Široce rozšířené v těchto místech jsou *P. acnes* a *P. granulosum*. Hlavní patogenní proces, se kterým je obvykle *P. acnes* spojováno, je *acne vulgaris*. *P. avidum* lze nalézt na vlhkých místech, zvláště v axilách a třísech. Jeho patogenní potenciál není jasný [23, s. 297].

2.1.5 Gramnegativní bakterie

Aerobní gramnegativní bakterie tvoří malou část kožní flóry u zdravých jedinců. U asi 25 % populace je přítomen *Acinetobacter* ve vlhkých, intertriginózních místech, jako axily, třísla, perineum, loketní jamky a mezi prsty u nohou. Další gramnegativní rody se vyskytují zřídka, jedná se především o rody *Proteus* a *Pseudomonas*, mezi prsty u nohou, a *Enterobacter* a *Klebsiella* na ruku [23, s. 298].

2.1.6 *Malassezia* spp.

Malassezia spp. jsou nejdůležitější kvasinky vyskytující se na kůži. Jako jediné se u zdravého člověka vyskytují ve významných počtech. Studie zatím neukázaly, zda se jedná o rezidentní, nebo pouze tranzientní druhy [16, s. 212], [23, s. 298].

2.2 Vybrané mezinárodní mikrobiologické normy

2.2.1 ČSN EN ISO 17516 Kosmetika – Mikrobiologie – Mikrobiologické limity

Kosmetické výrobky, suroviny, z nichž jsou složeny, a podmínky, za nichž jsou vyráběny, nemusí být sterilní. Avšak mikroorganismy přítomné ve výrobku nesmí mít nepříznivý vliv na bezpečnost spotřebitele nebo na kvalitu výrobku během zamýšleného nebo předvídatelného používání. Pro zajištění kvality výrobku a bezpečnosti spotřebitele je zásadní, aby počet nespécifických mikroorganismů ve výrobku zůstal stabilní nebo klesal v průběhu jeho životnosti. Celkový počet aerobních mezofilních mikroorganismů musí být méně nebo rovno 1×10^2 na gram nebo mililitr u výrobků určených pro děti do tří let, pro oblast okolo očí nebo na sliznice, a 1×10^3 na gram nebo mililitr pro ostatní výrobky. Výrobek nesmí obsahovat *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Candida albicans* v 1 g nebo 1 ml výrobku [26].

2.2.2 ČSN EN ISO 21148 Kosmetika – Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro mikrobiologické vyšetřování

Tato mezinárodní norma poskytuje všeobecné pokyny pro provádění mikrobiologických vyšetření kosmetických výrobků, aby se zajistila jejich kvalita a bezpečnost v souladu s vhodnou analýzou rizika. Protože v této oblasti použití je velká různorodost výrobků a způsobů použití, nemusí být tyto pokyny pro některé výrobky vhodné ve všech podrobnostech. Pojednává o požadovaných prostorách, jejich umístění, vybavení a údržbě, způso-

bilosti a hygieně pracovníků, přípravě přístrojů, pomůcek a laboratorního skla, přípravě a sterilizaci kultivačních médií a reagentů, vzorkování a zacházení s laboratorními vzorky a o provozní praxi [27], [28].

2.2.3 ČSN ISO 18415 Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz specifických a nespecifických mikroorganismů

Tato norma poskytuje všeobecný návod pro průkaz a identifikaci specifických mikroorganismů a dalších druhů aerobních mezofilních nespecifických organismů v kosmetických výrobcích. Prvním krokem postupu zkoušky je pomnožení s použitím neselektivní tekuté půdy ke zvýšení počtu mikroorganismů. Připravená suspenze se inkubuje a poté je přeočkována na povrch Petriho misky obsahující neselektivní agarové médium. Následuje inkubace média a identifikace kolonií [29].

Pseudomonas aeruginosa a *Escherichia coli* se identifikují pomocí barvení podle Grama, oxidázového testu a příslušného testu identifikace. *Staphylococcus aureus* je identifikován barvením podle Grama, katalázovým testem a testem identifikace. *Candida albicans* se identifikuje z výsledků barvení podle Grama a testu identifikace a pro nespecifické mikroorganismy jsou použity všechny výše zmíněné testy. Specifické mikroorganismy se vyjádří jako „přítomnost (název druhu) ve vzorku“, nespecifické mikroorganismy jako „přítomnost (název druhu a/nebo hlavní morfologické vlastnosti) ve vzorku a nepřítomnost specifických mikroorganismů“, a nepřítomnost mikroorganismů se vyjádří jako „nepřítomnost aerobních mezofilních organismů (včetně specifických mikroorganismů) ve vzorku“. Zhotoví se protokol o zkoušce [29].

2.2.4 ČSN EN ISO 22717 Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz *Pseudomonas aeruginosa*

Prvním krokem postupu zkoušky je pomnožení popsané v normě ČSN ISO 18415. Následuje vyočkování na selektivní médium a inkubace. Poté se provede barvení podle Grama, zjišťují se gramnegativní tyčinky, a oxidázový test – jeho pozitivita. Narostlá kultura se poté přeočkuje na *Pseudomonas* agar pro detekci pyocyaninu a inkubuje. Růst bakterií se kontroluje po 24, 48 a 72 hodinách. *P. aeruginosa* vytváří kolonie obklopené žlutozelenou zónou díky tvorbě pyocyaninu nebo červeno-tmavohnědou zónou díky produkci pyorubinu. Výsledky se vyjádří jako „přítomnost/nepřítomnost *Pseudomonas aeruginosa* ve vzorku“. O zkoušce se vyhotoví protokol [30].

2.2.5 ČSN EN ISO 22718 Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz *Staphylococcus aureus*

Začátek postupu je obdobný jako u ČSN EN ISO 22717, liší se v selektivních půdách. Provádí se opět barvení podle Grama, zjišťují se grampozitivní koky ve shlucích. Dále se provádí katalázový test, zjišťuje se jeho pozitivita, a koagulázový test, u nějž se také zjišťuje pozitivita. Výsledky se vyjádří jako „přítomnost/nepřítomnost *Staphylococcus aureus* ve vzorku“. O zkoušce se vyhotoví protokol [31].

2.2.6 ČSN EN ISO 21149 Kosmetika – Mikrobiologie – Stanovení počtu a průkaz aerobních mezofilních bakterií

Stanovení počtu na miskách se provádí přelivem nebo roztěrem s použitím specifikovaného kultivačního média a zaočkováním ploten určeným množstvím výchozí suspenze nebo ředěním výrobku. Počítají se kolonie tvořící jednotky, poté se vypočítá množství aerobních mezofilních bakterií na mililitr nebo na gram výrobku. Průkaz bakterií pomnožením sestává z inkubace určeného množství výchozí suspenze v neselektivním tekutém médiu, přenesení určeného množství inkubované suspenze na neselektivní pevné agarové médium, aerobní kultivace, detekce růstu a vyjádření výsledku jako „přítomnost/nepřítomnost aerobních mezofilních bakterií ve vzorku“. O zkoušce se zhotoví protokol [32].

2.2.7 ČSN EN ISO 29621 Kosmetika – Mikrobiologie – Pokyny pro posuzování rizika a identifikaci mikrobiologicky málo rizikových výrobků

Předmětem této normy je pomoci výrobcům kosmetiky a regulačním orgánům definovat finální výrobky, které představují nízké riziko mikrobiální kontaminace při výrobě a/nebo používání, a tedy nevyžadují aplikaci mikrobiologických mezinárodních standardů pro kosmetiku. Při posuzování mikrobiologického rizika je potřeba vzít v úvahu množství charakteristik produktu. Kombinace různých fyzikálně-chemických faktorů může vytvořit nehostinné prostředí pro mikrobiální růst a/nebo přežití. Mezi tyto faktory patří vodní aktivita výrobku, jeho pH, obsah alkoholu, suroviny, které mohou vytvořit nehostinné prostředí (silná oxidační činidla, organická rozpouštědla, hnací plyny atd.), podmínky výroby a balení [33].

2.3 Rizika výroby

Bakterie, kvasinky a plísně jsou všudypřítomné. Mohou se šířit pomocí prachu, kapek vody, lidí, zvířat, hmyzu a dalších vektorů a mohou růst ve vodném prostředí. Do místa výroby kosmetiky se mikroorganismy mohou dostat už v surovém materiálu, ve vodě použité pro výrobu nebo zkondenzované na vybavení, stojící na podlaze apod., z výrobních strojů či obalů, lidským přičiněním atd. Mikrobiální problémy výroby často mohou být vysledovány právě ke špatné mikrobiologické kvalitě surovin a deionizované vody, k nedostatku mikrobiologických kontrol v průběhu výrobního procesu nebo k neadekvátnímu čištění a sanitaci [16, s. 167], [34, s. 2]

2.3.1 Voda

Voda používaná k výrobě kosmetických produktů je buď měkčená, deionizovaná, destilovaná, nebo ošetřená reverzní osmózou. Neupravená voda z vodovodu nebo studně je používána pro osobní hygienu, chlazení, toalety nebo na pití. Neupravená voda může být kontaminována různými mikroorganismy, jako např. *Escherichia coli* a *Pseudomonas* spp. V zásobních tancích se může počet bakterií rapidně zvednout až na 1×10^6 KTJ/ml, obzvláště během teplejších měsíců. Měkčená a deionizovaná voda může také obsahovat gramnegativní bakterie. V regenerovaných iontoměničích se může také objevit *Bacillus* spp. a *Staphylococcus* spp. Tyto mikroorganismy jsou sice v neupravené vodě v nízkých počtech, ale rapidně se namnoží na iontoměničích, které poslouží jako fluidizované bioreaktory. Destilovaná voda a voda ošetřená reverzní osmózou jsou bez mikroorganismů, ale mohou se velmi rychle kontaminovat gramnegativními bakteriemi při skladování a distribuci. Mikroorganismy se poté rozrůstají a tvoří biofilm v tancích, pumpách a trubkách vodovodního systému. Tím se vytváří mikrobiální rezervoár, který kontaminuje protékající vodu [35, s. 272].

2.3.2 Suroviny

Většina surovin používaných v kosmetice jsou prášky, přírodní gely nebo surfaktanty. U prášků a přírodních gelů je primárním kontaminantem sporulující bakterie rodu *Bacillus* či *Clostridium*. V surfaktantech může růst široká škála gramnegativních bakterií. Příkladem prášku je mastek. Spory v něm začínají růst v průběhu mokrych částí výroby. Většina přítomných sporulujících bakterií naštěstí bývá nepatogenní *Bacillus* spp. Tento vlhký prá-

šek je ideálním prostředím pro mikroorganismy, po usušení se však spory zachovávají. Vysoce efektivním řešením je ozáření gamma zářením [35, s. 273].

Aloe vera, zástupce přírodních gelů, je ingredience známá častou přítomností spor, jelikož je sklízena v suchých, prašných lokalitách. Krom výše zmíněných druhů aloe kontaminují i někteří zástupci rodu *Erwinia* a *Pectobacterium*. Výrobci aloe pasterizují, což ovšem ničí pouze vegetativní buňky, je běžné obdržet aloe s počty až 10^5 – 10^6 KTJ/ml. Řešením je tyndalizace – opakovaná pasterizace. Avšak pomalé chlazení mezi pasterizacemi poskytuje dostatečný čas o vhodné teplotě pro vyklíčení spor, ale také pro růst a vytvoření ještě více spor. Pro získání mikrobiologicky čistého produktu by aloe tedy měla být bleskově pasterizována, poté rapidně ochlazená a proces by měl být zopakován během 24 hodin [35, s. 273].

Většinu surfaktantů je obtížné uchránit před kontaminací. Výjimkou je například dodecylsulfát sodný díky vysokému pH. Další surfaktanty, jako dodecylsulfát amonný, jsou k mikrobiologické kontaminaci velice náchylné a potřebují konzervaci, například isothiazoliny nebo formaldehyd, k tomu si však mnoho mikroorganismů dokáže vytvořit toleranci. Je proto dobré vědět, který mikroorganismus je primárním kontaminantem, a podle toho zvolit konzervant. Primárními kontaminanty surfaktantů může být *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* nebo *Proteus* spp. [35, s. 273].

2.3.3 Osobní hygiena

Témata, která by měla být pokryta při výcviku pro hygienickou výrobu, zahrnují osobní hygienu, kontaminaci produktu zaměstnanci a způsoby prevence křížové kontaminace. Často nejdůležitějším aspektem osobní hygieny pro prevenci kontaminace je mytí rukou. Zaměstnanci by si měli mýt ruce, když odejdou a vrátí se do místa výroby. Dokonce i mytí rukou po dobu 15 sekund bude mít za následek signifikantní pokles mikrobiálních počtů ve srovnání s neumytýma rukama. Každopádně řádné mytí teplou vodou (32–43°C) a baktericidním mýdlem po dobu alespoň jedné minuty je nejlepší. Zaměstnanci by také neměli nosit šperky [35, s. 273].

Pro spotřebitele je esteticky nepříjemné, pokud v produktu najde vlas. Proto by vlasy i vousy měly být zakryty ve všech místech výroby. Zaměstnanci by měli nosit jednorázové čepice a vousenky, které veškeré vlasy a vousy schovají. Napřed by si měli tyto pokrývky nasadit, poté teprve umýt ruce. Oblečení musí být čisté a bez ozdob. Na světlých unifor-

mách je dříve vidět znečištění než na tmavých, jsou tedy vhodnější. Kapsy by měly mít patky, aby nedošlo k vypadnutí jejich obsahu do produktu nebo stroje [35, s. 273–274].

2.3.4 Mikrobiologické aspekty správné výrobní praxe

Přestože je Správná výrobní praxe (dále jen SVP) dobrovolná, většina společností podle ní postupuje, obzvláště společnosti vyrábějící kosmetické přípravky, které hraničí s léčivými [35, s. 272].

2.3.4.1 Oddělení kontroly kvality

Správná výrobní praxe vyžaduje vytvoření oddělení kontroly kvality, které má zodpovědnost a pravomoc schválit nebo odmítnout všechny komponenty, nádoby, víčka, obalové materiály a další suroviny. Kontrola kvality je také zodpovědná za schválení nebo odmítnutí všech procesů nebo specifikací, které mají vliv na identitu, kvalitu a čistotu produktu. Mikrobiologický vstup je požadován pro řízení posouzení mikrobiologického rizika, určení akceptovatelných mikrobiologických limitů surovin a finálních produktů a provádění mikrobiologických testů [16, s. 169].

2.3.4.2 Personální výcvik

V tomto ohledu SVP vyžaduje, aby lidé provádějící mikrobiologické analýzy měli vhodné vzdělání a výcvik k vykonávání kvalitních kontrolních analýz, k řízení firemních auditů, při kterých jsou asepticky odebírány a analyzovány vzorky surových materiálů a mezivýrobních vzorků pro zjištění počtu a druhů přítomných mikroorganismů, a k provádění testů efektivity konzervantů. Mikrobiologové jsou často vyzváni k vedení výcviku firemní sanitace, konzultacím ohledně čistících a sanitačních programů a asistují při školení firemního personálu o mikrobiologických aspektech SVP [16, s. 169–170].

2.3.4.3 Osobní zodpovědnost

Zaměstnanci, kteří pracují ve výrobě, zpracování nebo balení produktu mají mít čisté oblečení, které je vhodné pro danou pozici. Dále by zaměstnanci, kteří jsou zjevně nemocní nebo mají otevřené poranění, což by mohlo nepříznivě ovlivnit bezpečnost nebo kvalitu produktu, měli být vyloučeni z přímého kontaktu s výrobkem, dokud nedojde k uzdravení nebo zdravotní personál nerozhodne, že kvalita kosmetického prostředku nebude ohrožena. Toto je oblast, ve které mohou být mikrobiologové požádáni o spolupráci s managementem.

tem a vedoucími výroby, aby je upozornili na mikrobiologická rizika kontaminace produktu, která se mohou objevit, pokud se osoba s infikovanými poraněními dostane do kontaktu s procesním tokem. Takovéto informace by měly být prezentovány na pravidelných školeních firemního personálu [16, s. 170], [36].

2.3.4.4 Čištění a údržba vybavení

SVP vyžaduje, aby vybavení a nástroje byly čištěny, udržovány a dezinfikovány ve vhodných intervalech k prevenci poruch nebo kontaminace, které by mohly mít vliv na bezpečnost, identitu, sílu, kvalitu nebo čistotu produktu. Pro přidělení zodpovědnosti za čištění a údržbu vybavení a plánování řádné údržby, čištění a sanitace jsou vyžadovány dokumentované postupy. Ty musí být zároveň navrženy tak, aby chránily čisté vybavení proti kontaminaci před použitím. Všechny zmíněné činnosti, včetně kontrol, musí být zaznamenány. V této oblasti je nutný řádný dozor, jelikož pracovníci často čistící a sanitační postupy zcela nedodržují [16, s. 170], [36].

2.3.4.5 Kontrola výroby a výrobního procesu

Požadavkem SVP jsou dokumentované postupy kontroly výroby a výrobního procesu z důvodu zajištění identity, síly, kvality a čistoty produktu, které má mít. Tyto postupy mají být navrženy, posouzeny a schváleny oddělením kontroly kvality. Podle těchto postupů musí být postupováno a jejich funkčnost dokumentována v průběhu produkce. Jakékoliv odchylky musí být zaznamenány a zdůvodněny [16, s. 171].

2.3.4.6 Vzorkování a testování meziproductů a konečných produktů

Měly by být stanoveny dokumentované postupy popisující mezioperační kontroly a testy nebo vyšetření, prováděné na vhodných vzorcích, a přijímací kritéria. Meziproducty a konečné producty pak budou schváleny nebo zamítnuty oddělením kontroly kvality. Výrobci často dokumentují mikrobiologickou kvalitu meziproductů a konečných produktů odebráním vzorků a testováním vyrobené hmoty (vzorky se typicky odebírají na začátku, uprostřed a na konci šarže nebo z každé směny, při které byl výsledný product dokončen a zabalen) pro demonstraci splnění mikrobiologické specifikace [16, s. 171], [36].

2.3.4.7 Kontrola mikrobiální kontaminace

Kosmetické produkty v nádobách určených k opakovanému používání nemusí být nezbytně sterilní, ale používá se konzervační systém, který výrobky dělá samosterilizujícími. Mají být vytvořeny a následovány vhodné dokumenty navržené k prevenci přítomnosti nežádoucích mikroorganismů. Toto je další místo, kde je nezbytný mikrobiologický vstup [16, s. 171].

Pro udržení mikrobiologické kontroly nad výrobou je vhodný koncept Systému analýzy rizika a stanovení kontrolních bodů (Hazard Analysis and Critical Control Point, dále HACCP). Jedná se o racionální proces odhadu rizika spojeného s každým krokem výrobního procesu. Zahrnuje zřetel k surovým materiálům a procesním krokům, které poskytují vhodné podmínky pro mikrobiální růst (například poměr času a teploty poskytující adekvátní vlhkost, a živiny, které mohou být dostupné pro kontaminující mikroorganismy). Základní komponenty procesu HACCP jsou biologicky kritické kontrolní body, které, bez správné údržby, mohou vyústit v produkci kontaminovaných produktů, a fyzikálně rizikové kontrolní body, které bez řádné údržby a kontroly mohou vést k zavedení rizikových cizorodých materiálů do produktu [16, s. 171–172].

2.3.4.8 Laboratorní kontroly

Vhodná organizační jednotka má navrhnout zřízení specifikací, standardů a plánů pro odebrání vzorků, testovacích postupů a dalších laboratorních kontrolních mechanismů, které poté budou posouzeny a schváleny oddělením kontroly kvality. Odchylky od těchto postupů musí být zaznamenány a zdůvodněny. Psané postupy mají zahrnovat metodu vzorkování a počet odebraných vzorků ze šarže. Testována má být každá šarže, a pokud je to nezbytné, má být prokázáno, že neobsahuje nežádoucí mikroorganismy. Mají být určena vhodná statistická kritéria pro hodnotu akceptovatelných, nebo neakceptovatelných množství mikroorganismů. Testovací metody musí být validovány [16, s. 172].

2.4 Mikrobiologická kontaminace dekorativní kosmetiky

Jak již bylo zmíněno, kosmetické přípravky obvykle nejsou sterilní, avšak počet mikroorganismů je normálně velmi nízký, takže neovlivňuje kvalitu nebo bezpečnost výrobku, přítomné mikroorganismy však nesmí být patogenní. Nízký počet mikroorganismů by si však produkt měl zachovat i při používání, navzdory nevyhnutelné kontaminaci spo-

třebitelem. Tomu mají dopomoci vhodně zvolené konzervanty. Mikrobiologická čistota produktu závisí na opatřeních a kontrolách výroby, analýze vzorků od surovin po dokončení. Lepší je odhalit mikrobiální kontaminaci při těchto kontrolách, ovšem to se ne vždy podaří. Někdy je odhalena až po změně výše zmíněných organoleptických vlastností spotřebitelem. Jedním z důvodů, proč se nepodaří zjistit kontaminaci při kontrole, je malý počet vzorků odebraných z celé šarže produktu, kontaminace se nemusí vyskytovat rovnoměrně [37, s. 43, 46], [38, s. 93], [39, s. 40–41], [40, s. 304].

Infekce způsobené kontaminovanou kosmetikou jsou v dnešní době poměrně vzácné, legislativa a zavedení SVP zvýšily mikrobiologické standardy. Přesto se kontaminovaná kosmetika objevuje a v některých případech má pro uživatele vážné následky [41, s. 70, 73]

2.4.1 Kontaminace spotřebitelem

Kontaminace a kažení kosmetiky vlivem mikroorganismů je komplexní proces ovlivněný mnoha různými faktory, jako fyzikálně-chemické charakteristiky a specifické složení produktu, kontaminace uživatelem při užívání spojená se ztrátou efektivity konzervačního systému vlivem času, což vede k biochemické a degradační činnosti mikroorganismů. Každý má svou charakteristickou kožní mikroflóru, která může být pro jiného škodlivá, velmi nevhodné je tedy sdílení kosmetiky, které může vést ke zvýšení rizika pramenícího z mikrobiální kontaminace. Dalším častým problémem je skladování kosmetiky v koupelně, její vlhké prostředí podporuje růst a vývin potenciálně patogenních mikroorganismů, jakými jsou houby a bakterie. Kontaminaci může způsobit také používání starých aplikátorů na nové výrobky. Jedním z faktorů je i osobní hygiena. Dekorativní kosmetika by neměla být používána po datu expirace a měla by být vyměněna po prodělání bakteriální infekce [21, s. 376, 379], [42, s. 154], [43, s. 588].

2.4.2 Mikrobiologická kontaminace řasenek

Na kontaminaci jsou náchylné řasenky na bázi vody, u řasenek na bázi rozpouštědel není velkým problémem, protože organická rozpouštědla nepodporují bakteriální růst. Ty by měli volit lidé náchylní k infekcím. Přestože řasenky obsahují antibakteriální látky, doporučuje se řasenku vyměnit po třech měsících používání a nemělo by ji používat vícero lidí. Nejvíce znepokojujícím bakteriálním kontaminantem řasenek je *Pseudomonas aeruginosa*, může způsobovat infekce rohovky vedoucí ke zhoršení ostrosti vidění. *Staphylo-*

coccus epidermidis a *Staphylococcus aureus* se též mohou v řasence množit. Infekce jsou častější, pokud je oko infikovanou řasenkou, respektive kartáčkem, poškozeno. Plísně a kvasinky mohou také kontaminovat řasenky a způsobovat infekce, ale to se objevuje vzácně a pouze u imunokompromitovaných osob, které nosí kontaktní čočky [10, s. 428], [21, s. 376], [44, s. 96].

Roku 2008 byly ve Spojených státech zkoumány dva typy řasenek po tříměsíčním užívání, jeden značky Avon (16 vzorků), druhý značky Maybelline (17 vzorků). Jako kontrola byly vybrány nepoužité vzorky, tři od každé značky. U kontrolních vzorků Maybelline nebyla zjištěna kontaminace, u značky Avon se objevila u 2 kontrolních vzorků. U používaných řasenek byla zjištěna kontaminace u 5 vzorků od obou značek (31 %). U 2 vzorků se objevil nárůst *Staphylococcus epidermidis*, u 8 byl nárůst *Streptococcus* spp., 4 vzorky vykazovaly přítomnost plísní nebo kvasinek. Nárůst byl u všech 12 vzorků velmi malý, po jedné kolonii, což může, ale také nemusí být významné [43, s. 590–592].

Další studie z roku 2011 z Iráku testovala 25 řasenek zakoupených v různých supermarketech. U nepoužitých řasenek byla nalezena kontaminace u 40 % vzorků. Určené bakterie byly *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis*. Řasenky obsahovaly i kvasinky a plísně, a to *Candida albicans*, *Penicillium* spp. a *Aspergillus fumigatus*. Ve studii bohužel není uvedeno, o jaké konkrétní produkty se jednalo, nelze tedy posoudit, zda se jedná pouze o problém tamní výroby, nebo byly analyzovány řasenky dostupné i v České republice [45, s. 39–41].

V Brazílii byly roku 2013 zkoumány opět řasenky po použití. Čtyři kontrolní vzorky neukazovaly nárůst *S. aureus* ani *P. aeruginosa*, celkový počet bakterií, plísní a kvasinek byl velmi nízký. Co se patogenů týče, 40 vzorků obsahovalo v 79 % *S. aureus* a 13 % bylo kontaminováno *P. aeruginosa*. Ve studii není řečeno, jak dlouho byly vzorky používány. Zmíněn je však fakt, že účastnice studie často svou kosmetiku sdílí nebo půjčuje. To má pravděpodobně vliv na zvýšené procento řasenek obsahujících patogeny [21, s. 376–378].

2.4.3 Mikrobiologická kontaminace tužek na oči a rty

Jádra tužek přicházejí do blízkého kontaktu se sliznicemi oka nebo rtů. To je hlavní zdroj znepokojení při zvažování nepříznivých účinků mikrobiální kontaminace těchto produktů. Nicméně nejenom jádra, ale také dřevěné obaly tužek mohou být kontaminovány. Ve výše zmíněné studii z Iráku byly analyzovány tužky na oči, kdy bylo kontaminováno 32 % vý-

robků, a konturovací tužky, ze kterých bylo kontaminováno 27 %. Plísně nebyly nalezeny, z kvasinek pouze *Candida albicans* a z bakterií *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* a *P. aeruginosa* [45, s. 41], [46, s. 311–312].

2.4.4 Mikrobiologická kontaminace rtěnek

Rtěnky jsou uživateli často částečně požitý, proto je jejich čistota velmi důležitá. Ve studii z Indie vydané roku 2015 bylo testováno 12 vzorků rtěnek mezinárodních i místních značek, a to rtěnky nepoužité i používané. Z nepoužitých vzorků byly izolovány bakterie *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii* a *Pseudomonas* spp. *Staphylococcus arlettae* byl izolován z použitých i nepoužitých vzorků a *Proteus penneri* a *Providencia vermicola* se vyskytovaly pouze v použitých rtěnkách. Přítomnost těchto bakterií je alarmující, i když autoři studie připouštějí, že některé výrobky mohou být pouze napodobeninami originálů [47, s. 150–153].

Rtěnky mohou být také náchylné k růstu plísní. Produkt může být při používání navlhčen dechem nebo slinami, což rtěnce dodává potřebnou vlhkost [48, s. 733].

2.4.5 Mikrobiologická kontaminace očních stínů a pudrů

Oční stíny a pudry jsou poměrně podobné výrobky, proto jsou zde shrnuty do jedné kapitoly. Pudry jsou charakteristické velmi velkou plochou povrchu, který je v principu schopný hostit velmi mnoho mikroorganismů. Avšak nejedná se o zvlášť příznivé substráty, takže se vysoká kontaminace obvykle nevyskytuje. Nicméně při mikrobiologické analýze testerů očních stínů v různých obchodech bylo zjištěno, že 67 % z nich bylo kontaminováno. Testery byly, podle odhadů prodavaček, používány mezi 6 a 24 měsíci. Asi 90 % kolonií tvořila běžná kožní mikroflóra, a to *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus epidermidis* a *Bacillus* spp. *S. aureus* a gram-negativní tyčinky *Acinetobacter calcoaceticus* a *Moraxella* spp. byly izolovány výjimečně. Plísně se vyskytovaly často, avšak ve velmi malém množství [14, s. 298–300], [45, s. 39].

2.4.6 Mikrobiologická kontaminace dekorativní kosmetiky v kosmetických salonech

Studie z roku 2016 provedená v Íránu ukázala, že 100 % testovaných produktů (pudry, krémy, řasenky, oční linky) v danou dobu používaných v místním kosmetickém salonu obsahovalo bakteriální kontaminaci, 19,2 % (převážně pudry) bylo kontaminováno plísněmi nebo kvasinkami. Asi 52 % izolovaných bakterií bylo gramnegativních. V plet'ové

kosmetice byly dominantní bakterie *Streptococcus* spp., *Acinetobacter* a *Pseudomonas* spp. Dále byly izolovány *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp. a *Escherichia coli*. Z kvasinek a plísní byly přítomny pouze rody *Candida*, *Rhodotorula* a *Penicillium*. V oční kosmetice byly nejvíce zastoupeny *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. a *Acinetobacter*, dále *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *E. coli*, a rody *Salmonella*, *Klebsiella* a *Citrobacter*. Plísně se nevyskytovaly, pouze kvasinky *Candida* spp. a *Rhodotorula* spp. Celkově byly nejvíce kontaminovány pudry, což může být zapříčiněno častým kontaktem se vzduchem a také vlivem štětců a labutěnek. Přestože grampozitivní bakterie tvoří většinu kožní flóry, v testované kosmetice převažovaly gramnegativní bakterie. To může být z důvodu větší odolnosti gramnegativních bakterií vůči nepříznivým podmínkám v kosmetice [49].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 CÍLE PRÁCE

Cílem praktické části této práce bylo zmapovat výrobní proces dřevěných kosmetických tužek, statisticky zpracovat data dodaná z průmyslové výroby a provést mikrobiologickou analýzu vzorků tužek a hmot z různých fází výroby podle dodaného vnitřního firemního standardu. Získaná data dále zpracovat, vyhodnotit a následně navrhnout opatření, která by mohla riziko kontaminace snížit.

4 VÝROBA DŘEVĚNÝCH KOSMETICKÝCH TUŽEK

V této kapitole je popsána výroba kosmetických tužek ve firmě, se kterou probíhala spolupráce. Tužky se dělí na nalévané a extrudované, rozdíl je především v technologii výroby, ale i ve složení.

4.1 Výroba jádra

Surovina je ze skladu v neporušeném obalu převezena na přesyp. Zde jsou pevné suroviny v laminárním boxu přesypány do vyčištěných a vydezinfikovaných sudů. Kapalně suroviny zůstávají v původních sudech, pouze se vymění čerpadlo po předchozím vyčištění a dezinfekci. Suroviny jsou převezeny do vážírny, kde jsou do pytlů nebo misek navážena přesná množství pro konkrétní zakázku a uložena do nerezové přepravky. Přepravka je poté převezena k míchačce (Obrázek 1), která je temperovaná. Nejprve se v míchačce rozpustí vosky a tuky, po potřebné době míchání se přisypou pigmenty a další sypké suroviny a v míchání se pokračuje dalších 45 minut.



Obrázek 1: Míchačka

Následuje homogenizace hmoty na tříválcí (Obrázek 2), což jsou tři válce otáčející se proti sobě různými rychlostmi. Na začátku válcování je odebrán vzorek pro kontrolu nuanceu-rem. Pokud barva neodpovídá standardu, upraví se přidáním pigmentu. Zválcovaná hmota je přemístěna do mrazicího boxu, kde čeká na další zpracování.



Obrázek 2: Tříválec

Hmota pro nalévaná jádra se roztaví, přelije do kýblů a odveze do chladicího boxu. Její další zpracování je popsáno v kapitole 4.2. Výroba surové tužky.

Hmota určená pro extrudaci je lisována do tzv. kartuší (Obrázek 4). Po zchlazení v lednici se kartuše vloží do extrudéru (Obrázek 3), který vytlačuje nasekaná jádra, jejichž délka se poté upravuje na požadovaný rozměr. Jádra jsou zabalena a chlazena (Obrázek 5).

Rizikové faktory z hlediska mikrobiologické kontaminace jsou zejména všudypřítomný prach mastku, ukládající se na pracovních a odkladných plochách, a lidský faktor, jako spadlé vousenky, vyhrnuté rukávy apod.



Obrázek 3: Extrudér



Obrázek 4: Kartuše

4.2 Výroba surové tužky

Nejprve jsou do dřívek vyřezány drážky pro jádra, obvykle 8, dále se postup liší podle toho, zda se jedná o nalévanou, nebo extrudovanou technologii.

4.2.1 Extrudované jádro

Do zásobníku základacího stroje se vloží extrudovaná jádra a do dalších dvou zásobníků dřívka (Obrázek 5). Do dřívek z prvního zásobníku stroj automaticky vkládá jádra a následně je přiloženo dřívko druhé, potřené lepidlem. Splená dřívka po lince pokračují do lisu (Obrázek 6), kde setrvávají potřebnou dobu pro zaschnutí lepidla. Tyto tzv. sendviče jsou poté seříznuty na požadovanou délku a otevřený konec s jádrem je potřen UV lakem pro zabránění mikrobiologické kontaminace (Obrázek 7). Sendviče dále pokračují do hoblovacího stroje, kde jsou rozřezány a zahoblovány na surové tužky (Obrázek 8).



Obrázek 5: Základací linka – extrudovaná technologie



Obrázek 6: Lis na sendviče



Obrázek 7: Sendviče



Obrázek 8: Surová tužka

4.2.2 Nalévané jádro – Soft linka

Vyrobená hmota se rozpustí v kotlíku, ze kterého je hadicí čerpána do nalévacího stroje. Ten hmotu nalije do tzv. masek s osmi kanálky (Obrázek 9). Zatímco hmota tuhne, maska se pootočí, vzniklá jádra se částečně vysunou a jsou seříznuta na potřebnou délku. Po dalším pootočení jsou zcela vysunuta a vložena do dřívěk, která jsou umístěna ve dvou zásobnících jako u extrudované technologie. Celý následující proces je již také s extrudovanou technologií totožný. Pohled na Soft linku je na Obrázku 10.



Obrázek 9: Masky

U nalévané technologie může být z hlediska mikrobiologie riziková chladicí voda, která částečně uniká a kondenzuje na strojích. U soft linek jsou zásobníky s jednorázovými rukavicemi pro zaměstnance umístěné přímo u odpadkových košů. Může se tedy stát, že je kontaminují odpadky. Dalším případným zdrojem kontaminace je lidský faktor, a to u nalévané i extrudované technologie. Vypozorovaným příkladem bylo sebrání věci ze země v rukavicích a následné okamžité pokračování v práci bez výměny rukavic.



Obrázek 10: Soft linka

4.2.3 Dokončování

Surová tužka je lakována a máčena. Po zaschnutí laku je tužka potisknuta ražbou přes fólii nebo sítotiskem. Tužka dále pokračuje na dokončovací linku (Obrázek 12), kde je ohroce-na a zavíčkovaná, na opačný konec mohou být přidány různé aplikátory (Obrázek 11). Dokončená tužka může být zabalena do smršťovací fólie, nakonec jsou tužky vloženy do sáčků nebo krabiček.



Obrázek 11: Aplikátory



Obrázek 12: Dokončovací linka

Problematickými jsou tzv. kartáčková chránítka, neboli víčka, s nekrytým kartáčkem (Obrázek 13). Z krabic jsou přesypána do zásobníků dokončovací linky, odkud jsou automaticky nasazována na ohročené tužky (Obrázek 14). Riziko mikrobiologické kontaminace nechráněného kartáčku je velké, obzvláště v momentě, kdy se výrobek dostane v obchodě do regálu, kde se na něj začne okamžitě prašit. Ideálním řešením by bylo např. přidat na kartáčky krytky, což by ovšem vedlo ke zvýšení nákladů.

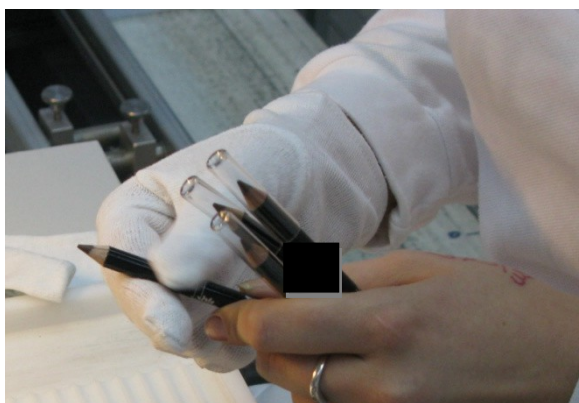


Obrázek 13: Kartáčkové chránítko



Obrázek 14: Zásobníky s chránitky

U některých textur jsou hroty po ohrocení zašpiněné hmotou. Pokud je to potřeba, jsou ručně dočišťovány, což je dalším potenciálním zdrojem kontaminace (Obrázek 15). Tato činnost by měla být prováděna v čistých bavlněných rukavicích, což se ovšem neděje v úplně všech případech. Proto je důležité pracovníky neustále vzdělávat o hygieně práce.



Obrázek 15: Dočišťování hrotů

Další vyzorovanou záležitostí byla přítomnost kartonových krabic s víčky a aplikátory přímo v dokončovací hale. S krabicemi se do haly může ze skladu dostat prach, nečistoty a samozřejmě také nežádoucí mikroorganismy.

5 STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ

Z firmy byla dodána data o mikrobiologických kontrolách a nálezech za roky 2014, 2015 a 2016. V souboru bylo 10 257 vzorků, z toho byl u 306 mikrobiologický nález, tzn. 3 % vadných vzorků. Bylo testováno, zda na kontaminaci mají vliv tyto parametry: textura, typ technologie, měsíc, měsíc a rok, dekáda a velikost zakázky.

Vzhledem k tomu, že mikrobiologické nálezy byly poměrně vzácné, nebylo možné použít obvyklý test dobré shody, protože ten vyžaduje, aby teoretická četnost výskytu byla alespoň 5. Proto jsme předpokládali, že výskyty mikrobiologického nálezu mají Poissonovo rozdělení, a počítali jsme, s jakou pravděpodobností se může vyskytnout zjištěný počet mikrobiologických nálezů. Nulová hypotéza tedy říká, že zjištěná četnost mikrobiologických nálezů odpovídá pravděpodobnosti jejich výskytu 3 %. Protože jsme celkem provedli přes 250 testů hypotéz, ignorovali jsme zamítnutí nulové hypotézy na hladině významnosti 0,05 – při této hladině významnosti je pravděpodobnost chybného zamítnutí nulové hypotézy 5 %, tedy při 250 testech může dojít k asi 13 neoprávněným zamítnutím nulové hypotézy. Proto jsme s jistou opatrností použili jen výsledky, kdy došlo k zamítnutí na hladině významnosti 0,01, a zejména výsledky, kde nulová hypotéza byla zamítnuta na hladině významnosti lepší než 0,001.

5.1 Vliv textury, technologie a velikosti zakázky

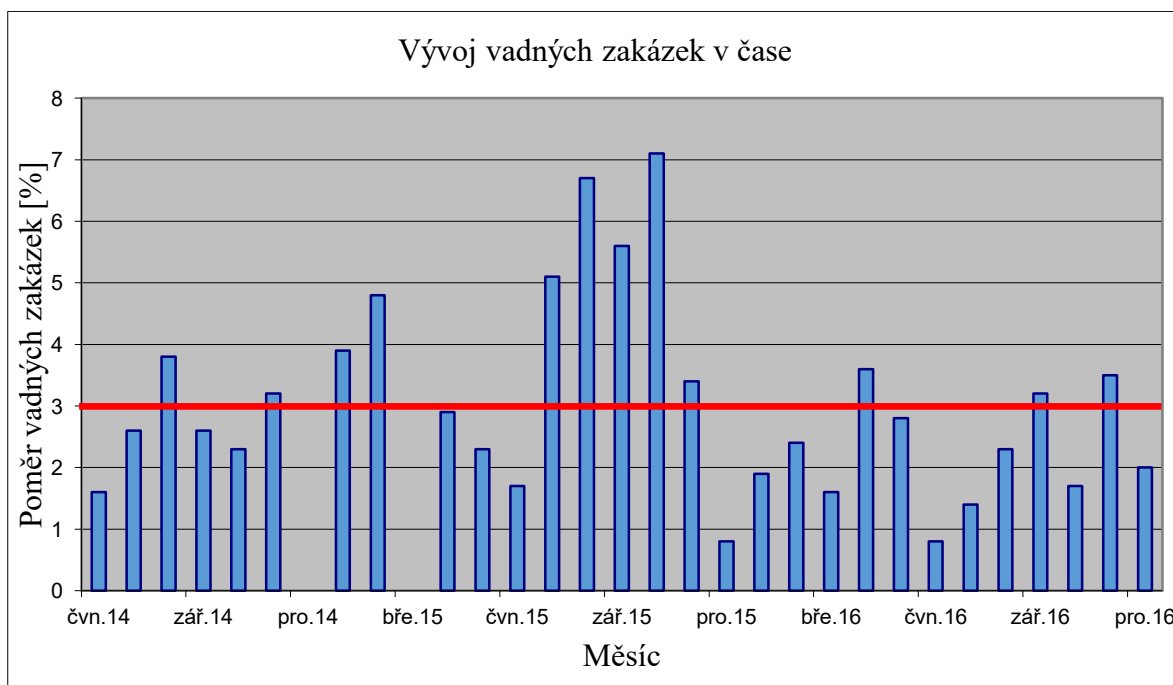
Bylo testováno 59 typů textur a 5 typů výrobních technologií. Rozdíly v mikrobiologické kvalitě mezi jednotlivými typy textur nebyly statisticky významné, stejně jako rozdíly u vzorků vyráběných různými technologickými postupy. Nebylo tedy prokázáno, že by textura nebo technologie výroby měly vliv na mikrobiologickou kvalitu.

Dalším testovaným parametrem byla velikost zakázky. Ta se obvykle pohybuje od pěti tisíc do desítek tisíc kusů. Při zpracování velké zakázky pracuje v průběhu její výroby více směn a střídají se na ní pracovníci, výrobní zařízení se čistí až po dokončení celé zakázky. To by mohlo představovat zvýšené riziko mikrobiální kontaminace. Ani zde však nebyly rozdíly v mikrobiologické kvalitě statisticky významné a v rámci běžných výrobních objemů velikost zakázky mikrobiologickou čistotu výrobků pravděpodobně neovlivní. Je však třeba si také uvědomit, že pokud se vzorek odebírá z velké zakázky jednorázově, je větší šance, že se netrefíme do výrobků „nečistotné“ směny a nezaznameníme, že část výrobků je kontaminovaná.

5.2 Vliv dekády, měsíce a roku

Sledován byl také počet vadných zakázek v průběhu roku. Data byla rozdělena nejprve po jednotlivých měsících, poté i po kratších časových intervalech (dekádách).

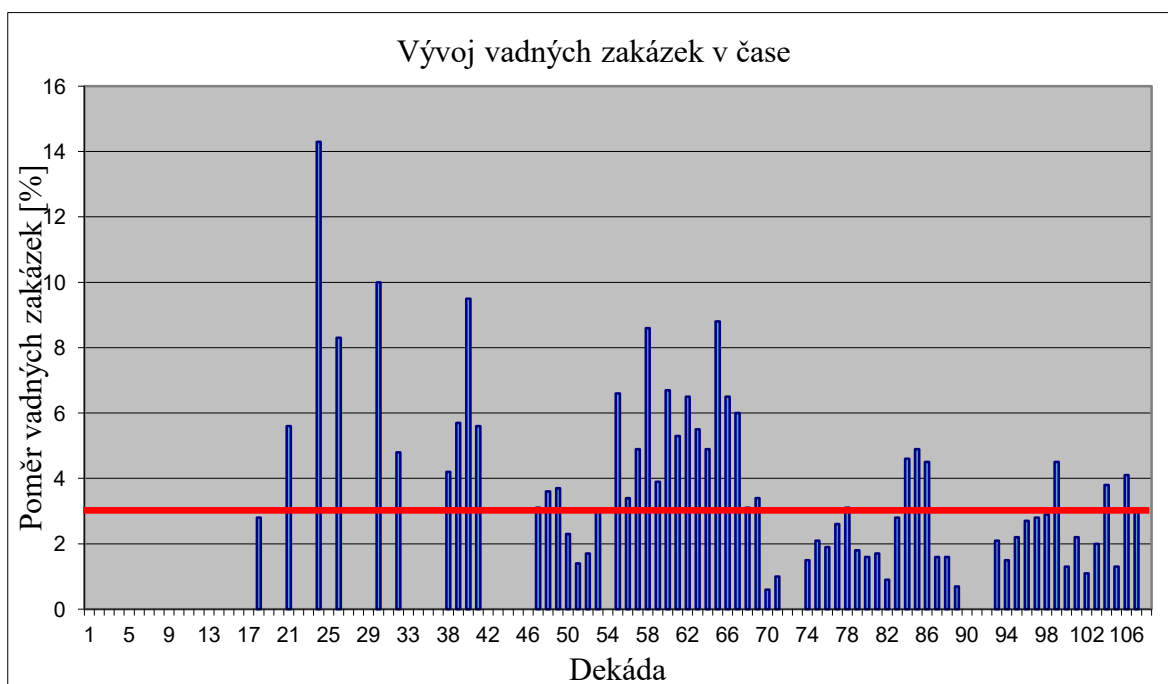
Při rozdělení zakázek podle kalendářních měsíců bylo zjištěno zvýšené množství mikrobiologicky vadných vzorků v srpnu, září a říjnu. Zhoršená mikrobiologická kvalita zakázek vyráběných v těchto měsících může být způsobena změnami v personálním obsazení směň kvůli čerpání řádné dovolené. Vývoj množství kontaminovaných zakázek je znázorněn na Obrázku 16, kde je vidět, že v období mezi červencem a listopadem 2015 bylo šest měsíců, kdy byla četnost mikrobiologických nálezů nadprůměrná, z toho v červenci 2015 na hladině významnosti 0,01 a v srpnu, září a říjnu dokonce na hladině 0,001. Po konzultaci s výrobcem bylo zjištěno, že v období zvýšené četnosti mikrobiologických nálezů probíhaly generální úklidy a důkladné čištění výrobních prostor a strojů. Tyto nadstandardní úklidové práce probíhaly za nepřerušeno provozu, tedy přímo během výroby některých zakázek. Zvýšená prašnost spojená s těmito úkony může být pravděpodobnou příčinou problematické mikrobiologické kvality zakázek vyráběných v tomto období.



Obrázek 16: Vývoj vadných zakázek v měsících

Dále jsme testovali, zda po měsíci s vyšším nebo nižším podílem mikrobiologických nálezů následuje opět měsíc s vyšším nebo nižším podílem. Nebylo zjištěno, že by po měsíci se zvýšeným počtem kontaminací následoval opět měsíc se zvýšeným počtem kontaminací, ani naopak, že by nízký počet kontaminací v jednom měsíci znamenal totéž v následujícím.

Dekády jsou počítány po dnech, tedy 1. dekáda značí 1.–10. ledna 2014, 2. dekáda 11.–20. ledna 2014 a tak dále. Závislost poměru vadných zakázek na dekádě je znázorněna na Obrázku 17. Tam opět vidíme dlouhou nepřerušovanou sérii neúspěšných dekád od 54. do 69. (mezi daty 15. 6. 2015 a 11. 11. 2015), kdy ve 4 případech byla četnost mikrobiologických nálezů nadprůměrná na hladině významnosti 0,01 a ve dvou případech dokonce na hladině 0,001. Toto zjištění je v souladu se zjištěními získanými analýzou dat dle kalendářních měsíců.



Obrázek 17: Vývoj vadných zakázek v dekádách

Podobně jako pro měsíce bylo i pro dekády testováno, zda po dekádě s vyšším nebo nižším podílem mikrobiologických nálezů následuje opět dekáda s vyšším nebo nižším podílem. Bylo zjištěno, že po úspěšné dekádě by měla následovat další úspěšná s pravděpodobností 0,37 (pokud by se úspěšné a neúspěšné dekády střídaly náhodně), ve skutečnosti po úspěš-

né následovala další úspěšná s pravděpodobností 0,47. Po neúspěšné dekádě by měla další neúspěšná následovat s pravděpodobností 0,16 a ve skutečnosti to bylo 0,24. Tento výsledek je ve zdánlivém rozporu s tím, co bylo zjištěno pro po sobě jdoucí měsíce. Tento rozpor lze ale vysvětlit kratším intervalem testování. Při rozdělení dat do dekád lze z výsledků statistického zpracování dat konstatovat, že bude-li zaznamenána neúspěšná dekáda, je na místě zvýšená pozornost vůči možné kontaminaci v dekádě následující.

Poté co bylo zjištěno, že po neúspěšné dekádě se zvýšenou pravděpodobností následuje další neúspěšná dekáda, zkusili jsme ještě zopakovat výpočet pro kratší (pětidenní) časový interval. Očekávané a naměřené pravděpodobnosti vyšly shodně jako pro dekády. To znamená, že doba zvýšeného rizika mikrobiální kontaminace není kratší než 10 dní.

5.3 Souhrn a doporučení vyplývající ze statistické analýzy dat

Statistickým zpracováním dat nebylo prokázáno, že by na mikrobiologickou čistotu výrobků měla vliv textura nebo technologie výroby. Statisticky významný vliv nebyl prokázán ani u velikosti zakázky, což však může být zkresleno výběrem testovaných vzorků. Zvýšený počet mikrobiologicky vadných vzorků v měsících srpen, září a říjen může být způsoben změnami v personálním obsazení směn z důvodu čerpání řádné dovolené. Dále bylo zjištěno, že existuje zvýšená pravděpodobnost, že po neúspěšné dekádě bude opět následovat neúspěšná, a že po úspěšné dekádě bude následovat dekáda úspěšná.

Doporučuje se zvýšená pozornost v době dovolených a při zaznamenání dekády se zvýšeným počtem mikrobiologicky vadných zakázek. Z důvodu vysoké pravděpodobnosti pokračování problému je vhodné zvýšit hygienická a sanitační opatření, stejně jako mikrobiologickou kontrolu. Pro větší přesnost a vypovídající schopnost dat by bylo vhodné odebírat vzorky pro mikrobiologickou kontrolu na začátku, uprostřed i na konci výroby, zejména u větších zakázek.

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Z firmy byly dodány vzorky extrudované a nalévané technologie z různých etap výroby, dále vzorky drážkovaných dřivek a pomocných látek z výroby – mastku a Xiameteru. U vzorků byly provedeny mikrobiologické rozborů podle vnitřního standardu firmy.

6.1 Laboratorní vybavení

- laminární box Clean Air
- termostat Memmert (30°C)
- laboratorní váhy Váhy Kern 440-45N
- Petriho misky
- Erlenmeyerovy baňky (100 ml)
- mikropipeta
- pinzeta
- skalpel
- lžička
- kleště
- sterilní jednorázové kličky
- sterilní jednorázové pipety
- odměrný válec
- nádoba pro anaerobní kultivaci
- buničina

6.2 Živné půdy, mikrobiologické testy a chemikálie

- Staphylase Test (Oxoid Ltd., Spojené Království)
- STAPHYtest 16 (Pliva-Lachema Diagnostika s.r.o., Česká republika)
- STREPTOtest 16 (Pliva-Lachema Diagnostika s.r.o., Česká republika)
- Incidin Liquid (Ecolab Deutschland GmbH, Německo)
- Tween 80
- AnaerogenTM 2,5 l (Oxoid Ltd., Spojené Království)
- Mannitol Salt Agar (Oxoid Deutschland GmbH, Německo)
- MacConkey Agar No. 2 (Oxoid Deutschland GmbH, Německo)

- Sabouraud Glucose Agar + Gentamicin + Chloramphenicol (Oxoid Deutschland GmbH, Německo)
- Columbia Agar with Sheep Blood Plus (Oxoid Deutschland GmbH, Německo)
- Tryptone Soya Agar with 1% Tween (Oxoid Ltd., Spojené Království)
- Thioglycollate Medium U.S.P. (Oxoid Ltd., Spojené Království)

Složení:

| | |
|-------------------------|-----------|
| ○ Yeast extract | 5,0 g/l |
| ○ Tryptone | 15,0 g/l |
| ○ Glucose | 5,5 g/l |
| ○ Sodium thioglycollate | 2,5 g/l |
| ○ L-cystine | 0,5 g/l |
| ○ Resazurin | 0,001 g/l |
| ○ Agar | 0,75 g/l |

Příprava:

Bujón byl připraven navážením 29,75 g do 1000 ml, rozpuštěn a sterilován.

Selektivní půdy byly dodány v plastových Petriho miskách, nebyla tedy zapotřebí jejich příprava. Tryptone Soya Agar byl dodán ve skleněných lahvích, před použitím byl roztaven ve vodní lázni.

Mannitol Salt Agar je selektivní médium pro izolaci suspektních patogenních stafylokoků. Většina ostatních bakterií je inhibována vysokou koncentrací soli, s výjimkou některých halofilních mořských organismů. Koaguláza pozitivní stafylokoky tvoří kolonie se žlutou zónou projasnění, nepatogenní stafylokoky tvoří kolonie s červeno-fialovou zónou [50].

MacConkey Agar No. 2 je selektivně diagnostické médium pro izolaci enterobakterií. Na tomto agaru rostou ve formě malých, výrazně červených kolonií se světlým okolím o průměru asi 1 mm. Tyto organizmy indikují fekální znečištění. Kolonie organismů nefermentující laktózu jsou bezbarvé. Grampozitivní koky tolerující žluč, jako stafylokoky a nefekální streptokoky, jsou kompletně inhibovány [50].

Sabouraud Glucose Agar je kyselé médium pro izolaci dermatofyt, dalších plísní a kvasinek. Houby si zachovávají své typické charakteristiky, a tak mohou být identifikovány na základě makroskopických vlastností [50].

Columbia Agar je víceúčelové médium pro kultivaci růstově náročných mikroorganismů. Kolonie na tomto médiu rostou rychle, některé se zřetelnou hemolytickou zónou [50].

Tryptone Soya Agar je základní půda podporující růst široké škály organismů. Tween je přidán z důvodu inhibice konzervačních látek [50].

6.3 Dodané vzorky

6.3.1 Extrudovaná technologie

Byly dodány vzorky z 6 zakázek, zakázky byly označeny A – F. Vzorky byly odebrány vždy z 9 kroků výroby (Tabulka 5).

Tabulka 5: Výrobní fáze a označení extrudovaných zakázek

| Výrobní fáze | Označení |
|--|----------|
| Po válcování | 1 |
| Před kartuší (efekt mrazicího boxu) | 2 |
| Z kartuše po vytvoření | 3 |
| Z kartuše před extrudérem | 4 |
| Extrudovaná jádra | 5 |
| Extrudovaná jádra před použitím na zakládací lince | 6 |
| Jádra – otevřený sendvič | 7 |
| Surová tužka | 8 |
| Zavíčkovaná tužka | 9 |

6.3.2 Nalévaná technologie

Bylo dodáno opět 6 zakázek, označeny byly G – L. U této technologie byly vzorky odebrány z 6 kroků výroby (Tabulka 6).

Tabulka 6: Výrobní fáze a označení nalévaných zakázek

| Výrobní fáze | Označení |
|---|----------|
| Hmota v kyblíku po válcování | 1 |
| Hmota z kyblíku před použitím na soft lince | 2 |
| Hmota po rozpuštění v kotlíku na soft lince | 3 |
| Jádra – otevřený sendvič | 4 |
| Surová tužka | 5 |
| Zavíčkováná tužka | 6 |

6.3.3 Ostatní vzorky

Mastek byl dodán z vážírny a 7 míst z výroby, tyto vzorky byly označeny M1 – M8. Vzorky Xiameteru byly odebrány ze zásobního sudu a dalších 4 míst z výroby, byly označeny N1 – N5. Dřívka byla odebrána po pěti vzorcích z linek na nalévanou i extrudovanou technologii, aplikována byla pouze otisková metoda.

6.4 Pracovní postup

6.4.1 Příprava vzorků

1. U kroků 1 – 7 u extrudovaných zakázek, 1 – 4 u nalévaných zakázek a u mastku bylo vždy naváženo 5 g vzorku do sterilní Erlenmeyerovy baňky. Pokud bylo potřeba, byla hmota sterilním skalpelem rozřezána na malé kousky.
2. Surové tužky byly nejprve otřeny buničinou navlhčenou Incidinem, vyžíhanými kleštěmi byl uštipnut uzavřený konec a poté byly rozevřeny pomocí skalpelu. Jádra byla rozřezána na malé kousky a navážena do Erlenmeyerových baněk po 5 g.

3. Ze zavíčkovaných tužek byly odříznuty pouze hroty z 10 kusů a zaznamenána hmotnost.
4. Ze vzorků Xiameteru bylo jednorázovými pipetami do baněk odpipetováno 5 ml.

6.4.2 Kultivace

1. K naváženým, resp. odměřeným vzorkům bylo přidáno 45 ml thioglykolátového bujónu, pouze k hrotům ze zavíčkovaných tužek bylo přidáno 30 ml bujónu.
2. Vzorky se nechaly louhovat při laboratorní teplotě maximálně 30 minut.
3. Poté byl 1 ml vzorku napipetován do Petriho misky a přelit 15 ml sojového agaru.
4. Erlenmeyerovy baňky se vzorky i Petriho misky byly kultivovány 2-3 dny při 30°C.
5. Po 2-3 dnech byly odečteny celkové počty.
6. Po kultivaci byly vzorky v bujónu přeočkovány sterilní kličkou na selektivní půdy rozdělené na čtvrtiny.
7. Sabouraud agar byl aerobně kultivován 5 dní při 25°C, Mannitol agar, MacConkey agar a Columbia agar byly kultivovány aerobně při 30°C po dobu 2-3 dnů. Další Columbia agar byl kultivován anaerobně, také 2-3 dny při 30°C.

6.4.3 Celkové počty

Pokud je celkový počet < 10 KTJ/g, zakázka splňuje vnitřní firemní normy. Zakázka s >10 KTJ/g již není považována za vyhovující, i když neobsahuje nežádoucí mikroorganismy, přestože mezinárodní norma povoluje < 100 KTJ/g. Zakázky s >10 KTJ/g jsou posílány na ozařování gamma zářením.

6.4.4 Negativní kontrola

Do baňky bylo naváženo 10 g jader a přidáno 90 ml bujónu. Takto připravený vzorek pro negativní kontrolu byl sterilizován. Kultivace probíhala stejně jako u pracovních vzorků. Negativní kontrola byla prováděna pokaždé souběžně s každou várkou vzorků.

6.4.5 Pozitivní kontrola

Byly vytvořeny suspenze *E. coli* CCM 3954 a *S. aureus* subsp. *aureus* CCM 3953 ve fyziologickém roztoku o zákalu 2. stupně McFarlandovy zákalové stupnice. Poté bylo do dvou baněk naváženo 5 g hmoty a přidáno 45 ml bujónu. Do jedné z baněk byl přidán

1 ml suspenze *E. coli*, do druhé suspenze *S. aureus*. Další postup byl shodný s pracovními vzorky.

6.4.6 Charakterizace izolovaných mikroorganismů

Izolované mikroorganismy byly obarveny podle Grama. Dále byl proveden test KOH, katalázový test a u gram pozitivních koků byl proveden stafylázový test, případně STHAPY-test nebo STREPTOotest. Gram pozitivní tyčinky nebyly dále určovány. Gram negativní organismy nebyly izolovány ze žádného vzorku finálních výrobků ani hmot.

6.4.6.1 Barvení podle Grama

Vzorek se nanese na podložní sklíčko do kapky destilované vody a nechá na vzduchu zaschnout. Preparát se zafixuje plamenem a obarvuje krystalovou violetí po dobu 60 s. Poté se krátce opláchne destilovanou vodou, převrství Lugolovým roztokem po dobu 60 s a opláchne etanolem nebo acetonem po dobu maximálně 25 s. Nakonec se preparát převrství safraninem po dobu 60 s, krátce opláchne destilovanou vodou, nechá zaschnout a pozoruje pod mikroskopem [51, s. 179].

6.4.6.2 Test KOH

Na podložní sklíčko se kápne jedna kapka 3% KOH. Na kličku se nabere kultura, vetře do kapky a pomalu zvedá. Stěna gram negativních bakterií snadno praská, pokud na ni působí alkalické roztoky. Když stěna praskne, vznikne viskózní obsah, který se táhne za zvedající se bakteriologickou kličkou [52, s. 47].

6.4.6.3 Katalázový test

3% peroxid vodíku se na podložním sklíčku smíchá s kulturou. Kultury druhů produkujících katalázu produkují kyslík, je tedy možné pozorovat tvorbu bublin. Katalázu neprodukuje z aerobních bakterií pouze streptokoky a enterokoky, z anaerobních druhů ji neprodukuje žádný [52, s. 47].

6.4.6.4 Stafylázový test

Byl použit Staphylase Test (Oxoid Ltd., Spojené Království) pro identifikaci *Staphylococcus aureus*, který je typický produkcí koagulázy. Na tvrdý papír, jenž je součástí testu, se nanese kultura a zakápně reakčním roztokem, který sestává z ovčích červených krvinek

senzibilizovaných králičím fibrinogenem. Pozitivní reakce se projeví aglutinací krvinek. Totéž se provede s kontrolním roztokem s nesenzibilizovanými ovčími červenými krvinkami. U kontrolního testu by aglutinace neměla být pozorována.

6.4.6.5 STAPHYtest 16

Souprava STAPHYtest 16 je určena pro identifikaci zástupců rodu *Staphylococcus* i dalších grampozitivních kataláza pozitivních koků pomocí šestnácti biochemických testů. Nejprve se připraví suspenze kultury ve fyziologickém roztoku o 2. stupni McFarlandovy zákalové stupnice. Ze suspenze se inokuluje 0,1 ml do příslušných jamek v destičce. Test se kultivuje 24 hodin při 37°C. Po kultivaci se některé jamky zakápnou příslušnými činidly a odečtou se barevné reakce. Výsledky se vyhodnotí pomocí identifikačního softwaru TNW.

6.4.6.6 STREPTOtest 16

STREPTOtest 16 je určen pro rutinní identifikaci streptokoků, především druhů vyskytujících se v humánním klinickém materiálu. Připraví se suspenze kultury ve fyziologickém roztoku o 3. stupni McFarlandovy zákalové stupnice. Další postup je obdobný jako u STAPHYtestu 16.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Každý vzorek byl analyzován třikrát, poslední číslo kódu značí opakování vzorku, např. A1.2 znamená, že se jedná o zakázku A po válcování, druhé opakování.

7.1 Zakázka A

Jednalo se o zakázku extrudovaných tužek na oči, která byla dokončena 9. 2. 2017. Vyrobeno bylo 10 050 kusů.

Tabulka 7: Zakázka A po válcování

| | A1.1 | A1.2 | A1.3 |
|--|----------------|----------------|----------------|
| Celkové počty | – | – | – |
| MacConkey Agar | – | – | – |
| Mannitol Salt Agar | + MAN - | + MAN - | + MAN - |
| Columbia Agar (aerobní kultivace) | ++ hemolýza | ++ hemolýza | ++ hemolýza |
| Columbia Agar (anaerobní kultivace) | + hemolýza | + hemolýza | + hemolýza |
| Sabouraud Agar | – | – | – |

Ve všech třech opakování vzorků ze zakázky A ve výrobní fázi 1 (po válcování) byl zaznamenán růst na MSA a krevním agaru při aerobní i anaerobní kultivaci. Ve vzorcích nebyly zjištěny žádné gramnegativní bakterie ani kvasinky nebo plísně. Na krevním agaru byla za aerobních i anaerobních podmínek sledována hemolýza. Izoláty byly přeočkovány křížovým roztěrem a s čistými kulturami bylo provedeno barvení dle Grama, KOH test a katalázový test. Izoláty byly charakterizovány jako grampozitivní pleomorfní tyčinky s pozitivním katalázovým testem. Na krevním agaru měly kultury matné bílé až krémové kolonie s hemolýzou. Mohlo se jednat o mikroorganismy náležící do skupiny koryneformních bakterií. Ty jsou běžnou součástí fyziologického osídlení kůže a sliznic [53].

U zakázky A byly izolovány mikroorganismy pouze ve vzorcích odebraných v prvním zkoumaném kroku výroby, po válcování. Vzorky odebrané z dalších osmi výrobních fází, včetně vzorků hotových finálních výrobků, byly mikrobiologicky čisté. Po válcování nebyla hmota zpracována okamžitě, ale byla uskladněna v mrazicím boxu (viz kapitola 4.1. Výroba jádra). Přítomné mikroorganismy pravděpodobně nebyly odolné mrazu.

V minulosti nebyla u zakázek s totožnou texturou a technologickým postupem výroby zjištěna mikrobiální kontaminace. Mikrobiologické rozbory však firma provádí pouze u konečného výrobku. Analýza vzorků z počáteční fáze výroby byla provedena poprvé až v této diplomové práci.

7.2 Zakázka B

Tato zakázka extrudovaných tužek na oči byla dokončena 8. 2. 2017 v množství 12 600 kusů.

Tabulka 8: Zakázka B po válcování

| | B1.1 | B1.2 | B1.3 |
|--|-------------|-------------------|-------------------|
| Celkové počty | – | – | – |
| MacConkey Agar | – | – | – |
| Mannitol Salt Agar | – | + MAN - | + MAN - |
| Columbia Agar (aerobní kultivace) | – | + bez hemolýzy | + bez hemolýzy |
| Columbia Agar (ananaerobní kultivace) | – | + bez hemolýzy | – |
| Sabouraud Agar | – | – | – |

Ze zakázky B byly opět odebírány vzorky z devíti výrobních fází, včetně hotového výrobku. Podobně jako u zakázky A i zde byly mikroorganismy izolovány pouze ze vzorků z počáteční výrobní fáze, tedy po válcování hmoty, a to pouze v jednom ze tří odebraných vzorků. Růst kolonií byl zjištěn na MSA (bez fermentace manitolu) a na krevním agaru

za aerobních i anaerobních podmínek (Tabulka 17). Kultura na krevním agaru rostla ve formě bílošedých kolonií. Po izolaci čisté kultury bylo zjištěno, že se jedná o grampozitivní koky, kataláza pozitivní a koaguláza negativní. Izolát byl blíže určen pomocí STAPHYtestu jako *Staphylococcus epidermidis* (identifikační skóre 72,39%). Tato bakterie je součástí rezidentní mikroflóry kůže, avšak může být oportunním patogenem u imuno-kompromitovaných osob. Je častým původcem nozokomiálních infekcí. Ve vzorcích této zakázky nebyly zjištěny žádné gramnegativní bakterie ani mikroskopické houby [54].

U zakázky B byly v jednom ze vzorků zjištěny G+ koky opět pouze v prvním kroku zakázky, vzorky z dalších fází byly bez mikrobiální kontaminace. Uložení hmoty v mrazicím boxu mělo zřejmě i zde pozitivní efekt. Kontaminace byla objevena pouze ve dvou ze třech opakování, což může být způsobeno nehomogenním rozmístěním mikroorganismů v hmotě. V minulosti byla zjištěna kontaminace v zakázkách o stejném složení a technologii výroby.

7.3 Zakázka C

Zakázka byla dokončena 1. 2. 2017. Jednalo se o 5 680 tužek na oči vyrobených extrudovanou technologií.

Vzorky byly odebrány ze všech fází výroby, všechny byly bez mikrobiologického nálezu, a to včetně finálního výrobku. Mikrobiální kontaminace byla zjištěna pouze u vzorků odebraných před kartuší. Ve dvou opakováních byly přítomny grampozitivní tyčinky rostoucí na MSA ve formě nažloutlých matných kolonií s nepravidelnými okraji, z krevního agaru byly izolovány kultury fakultativně anaerobních grampozitivních tyčinek rostoucí ve formě šedozelených kolonií s nepravidelnými okraji a zřetelnou hemolýzou. Všechny izolované kmeny byly kataláza pozitivní. Gramnegativní bakterie ani kvasinky a plísně nebyly ve vzorcích zakázky zjištěny.

U zakázky totožné se zakázkou C byla v minulosti kontaminace zjištěna, zde ovšem byly mikroorganismy přítomny ve finálním výrobku. V našem experimentu byla objevena kontaminace G+ tyčinek pouze v kroku 2, po vyndání z mrazicího boxu. Celkový počet mikroorganismů ve vzorku byl 20 KTJ/g. Vzhledem k tomu, že kontaminace nebyla zjištěna v předcházejících ani následujících krocích výroby a ani v konečném výrobku, je pravděpodobná nechtěná kontaminace při odebírání vzorků nebo jejich zpracování.

7.4 Zakázky D a E

Zakázka D byla dokončena 7. 2. 2017, zakázka E 2. 2. 2017. Zakázky byly podobně velké, zakázka D čítala 11 583 kusů tužek na oči, zakázka E 10 230 kusů konturovacích tužek. Obě zakázky byly vyrobeny extrudovanou technologií.

U obou zakázek nebyla v žádném kroku výroby ani ve finálním výrobku zjištěna mikrobiální kontaminace.

7.5 Zakázka F

Tato extrudovaná zakázka byla dokončena 3. 2. 2017. Jednalo se o 11 115 tužek na oči.

U zakázky F byla zjištěna kontaminace ve vzorcích z výrobních fází 7, 8 a 9, tedy ve dvou posledních krocích výroby a ve finálním výrobku. V izolátech z fáze 7 byly zjištěny gram-pozitivní koky rostoucí na MSA bez barevné změny půdy indikující využívání manitolu. Izoláty byly kataláza pozitivní a negativní na tvorbu enzymu koagulázy. Pomocí biochemických testů byly izoláty identifikovány jako *Staphylococcus epidermidis* (identifikační skóre bylo u všech izolátů > 70%). Ze vzorků fáze 8 byl získán ještě jeden izolát fakultativně anaerobních gram-pozitivních koků rostoucí na krevním agaru v lesklých bílých koloniích bez hemolýzy. Tento kataláza pozitivní a koaguláza negativní izolát byl identifikován pomocí STAPHYtestu jako *Staphylococcus schleiferi*. Tato bakterie je obvykle nepatogenní, ale může způsobit infekci ran, kyčelních protéz, mozkový empyém či bakterémii [55].

Ve finálním výrobku byly zjištěny ještě gram-pozitivní pleomorfní tyčinky s pozitivním katalázovým testem, které budou pravděpodobně náležet do skupiny koryneformních bakterií. Jelikož se jedná o běžné kožní bakterie a konečná fáze výroby je riziková z hlediska kontaminace pracovníky, je pravděpodobné, že ke kontaminaci došlo právě až během kompletace finálních výrobků.

Tabulka 9: Zakázka F – jádra – otevřený sendvič

| | F7.1 | F7.2 | F7.3 |
|--|-------------|-------------------|-------------------|
| Celkové počty | – | – | – |
| MacConkey Agar | – | – | – |
| Mannitol Salt Agar | – | + MAN - | + MAN - |
| Columbia Agar (aerobní kultivace) | – | + bez hemolýzy | + bez hemolýzy |
| Columbia Agar (anane-robní kultivace) | – | + bez hemolýzy | + bez hemolýzy |
| Sabouraud Agar | – | – | – |

7.6 Zakázky G a H

Zakázky G a H byly vyrobeny nalévanou technologií, první byla dokončena 8. 2. 2017, druhá 16. 2. 2017. Zakázku G tvořilo 10 285 tužek na oči a zakázku H 4 572 tužek na oči.

U zakázky G byly vzorky odebrány z kroků č. 1, 3, 4, 5 a 6. Krok 2, kdy je hmota přelita do kyblíku a čeká na zpracování, byl ve výrobě vynechán, zakázka probíhala v kuse bez přerušení a uskladnění hmoty. Všechny vzorky ze všech částí výroby byly bez mikrobiologické kontaminace, nebyly zjištěny grampozitivní ani gramnegativní bakterie, kvasinky ani plísně. U zakázky H byl opět při výrobě vynechán krok č. 2 a stejně jako u zakázky G zde nebyla zjištěna kontaminace mikroorganismy. Zakázky se stejnou recepturou a technologií nebyly z mikrobiologického hlediska problematické ani v minulosti.

7.7 Zakázka I

Tato zakázka byla dokončena 13. 2. 2017. Nalévanou technologií bylo vyrobeno 5 082 tužek na oči.

Zakázka I prošla všemi kroky výroby. Všechny odebrané a testované vzorky byly mikrobiologicky čisté. V minulosti nebyla u obdobných zakázek zjištěna kontaminace, v tomto případě rovněž ne.

7.8 Zakázka J

Tato zakázka byla dokončena 4. 2. 2017 v počtu 7 095 nalévaných konturovacích tužek.

Ze vzorků náležících k zakázce J nebyly izolovány žádné gramnegativní bakterie, kvasinky ani plísně. Všechny vzorky byly mikrobiologicky bez vady, s výjimkou jednoho vzorku z první fáze výroby, při jehož vyočkování na tryptonsojový agar bylo zjištěno 40 KTJ/g hmoty. Pravděpodobně se však jednalo o kontaminaci vyplývající z nevhodné manipulace se vzorkem, zbývajících dvě opakování byla mikrobiologicky čistá.

7.9 Zakázky K a L

Tyto nalévané tužky byly dokončeny 8. 2. 2017 (zakázka K) a 9. 2. 2017 (zakázka L). Jednalo se o 10 100 konturovacích tužek v zakázce K a 11 820 tužek na oči v zakázce L.

U zakázek K a L se v minulosti kontaminace objevila, v experimentální části této práce však kontaminace mikroorganismy nebyla zjištěna.

7.10 Mastek

Mastek byl odebrán ze sudu z vážírny (M1), z vaničky u extrudéru 3 na začátku (M2) a na konci směny (M3), ze zásobníku extrudéru 1 (M4), extrudéru 2 (M5) a extrudéru 3 (M6), a zásobníku zakládací linky „Cedr“ (M7) a zakládací linky „Alfa“ (M8). Mastek je používán k obalení jader, aby nedocházelo k jejich slepování.

Ve vzorcích z extrudéru 2 (označených jako M5) byla zjištěna přítomnost grampozitivních koků rostoucích v matných krémových koloniích za aerobních i anaerobních podmínek. Izolát byl kataláza pozitivní a koaguláza negativní. Pomocí biochemických testů byl izolát přiřazen ke druhu *Staphylococcus schleiferi*.

Ze vzorků označených jako M6 (extrudér 3) byly izolovány grampozitivní tyčinky rostoucí na krevním agaru ve formě našedlých lesklých kolonií bez hemolýzy, s pozitivním katalázovým testem.

Z mastku ze zásobníku zakládací linky „Cedr“ byly získány dva izoláty: nehemolytické fakultativně anaerobní grampozitivní koky a sporující grampozitivní tyčinky rostoucí aerobně. Grampozitivní koky byly identifikovány jako *Staphylococcus epidermidis*, grampozitivní tyčinky rostly za aerobních podmínek ve formě velkých našedlých kolonií s mírnou hemolýzou, pravděpodobně se bude jednat o půdní bakterie náležící do rodu *Bacillus*. Obdobný izolát byl získán i ze vzorků mastku ze zakládací linky „Alfa“.

U mastku z vážírny (M1) ani ze zásobní vaničky u extrudéru nebyla nalezena kontaminace ani po konci směny. U mastku ze zásobníků extrudérů i zakládacích linek však byla, s výjimkou extrudéru 1, objevena vždy. Důvodem může být nedostatečná sanitace těchto zásobníků.

7.11 Xiametr

Tato kapalina patří mezi silikony se při výrobě využívá u soft linek k promazávání kanálků masek (Obrázek 11), do kterých se nalévá hmota. Bylo odebráno celkem pět vzorků, a to ze zásobního sudu, z pracovních nádob u soft linek 2 a 3 a z trysek soft linek 2 a 3. I tyto vzorky byly všechny třikrát analyzovány, nicméně žádná kontaminace nebyla zjištěna.

7.12 Dřívka

Pro dřívka byla použita otisková metoda s využitím médií Columbia Agar a Sabouraud Agar. Od každé odebrané zakázky byla vybrána dvě dřívka, která se otiskla na oba agary. Na Sabouraud Agar nebyl žádný nález ani u jednoho vzorku.

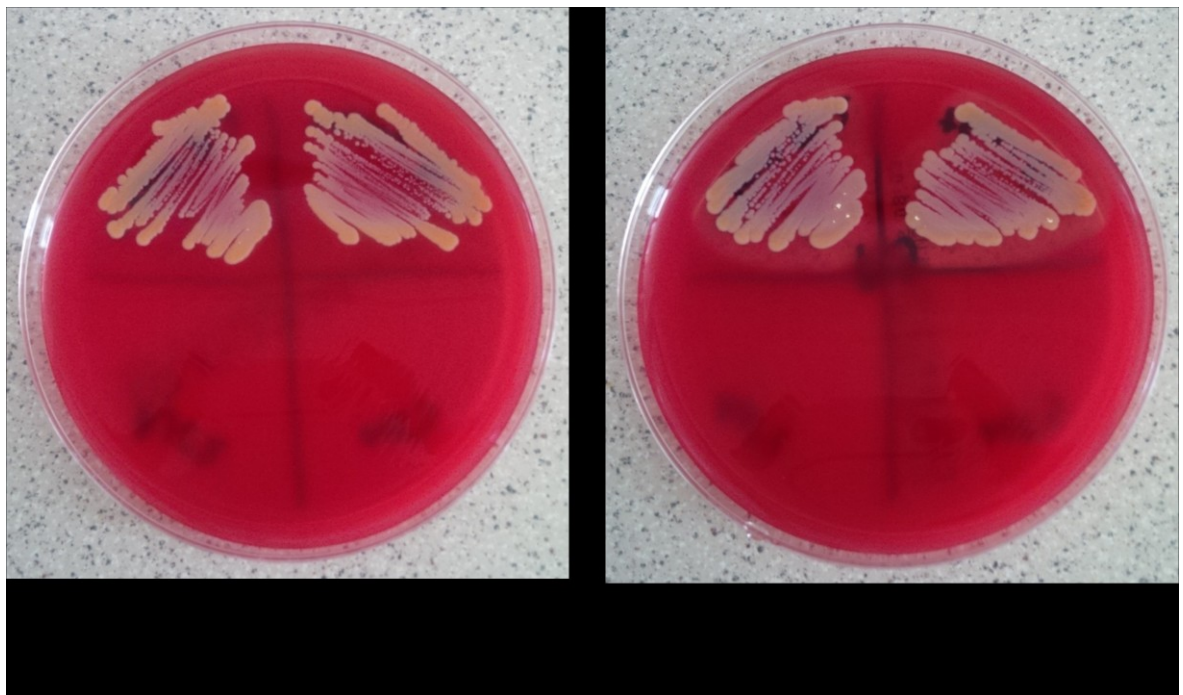
Pomocí otiskové metody na Columbia Agar byla zjištěna kontaminace pouze u tří dřívek. Ze tří vzorků byly izolovány grampozitivní tyčinky, u dvou vzorků grampozitivní koky. Kontaminace však nebyla rozlehlá, na otiskové půdě vyrostly 1 až 2 kolonie.

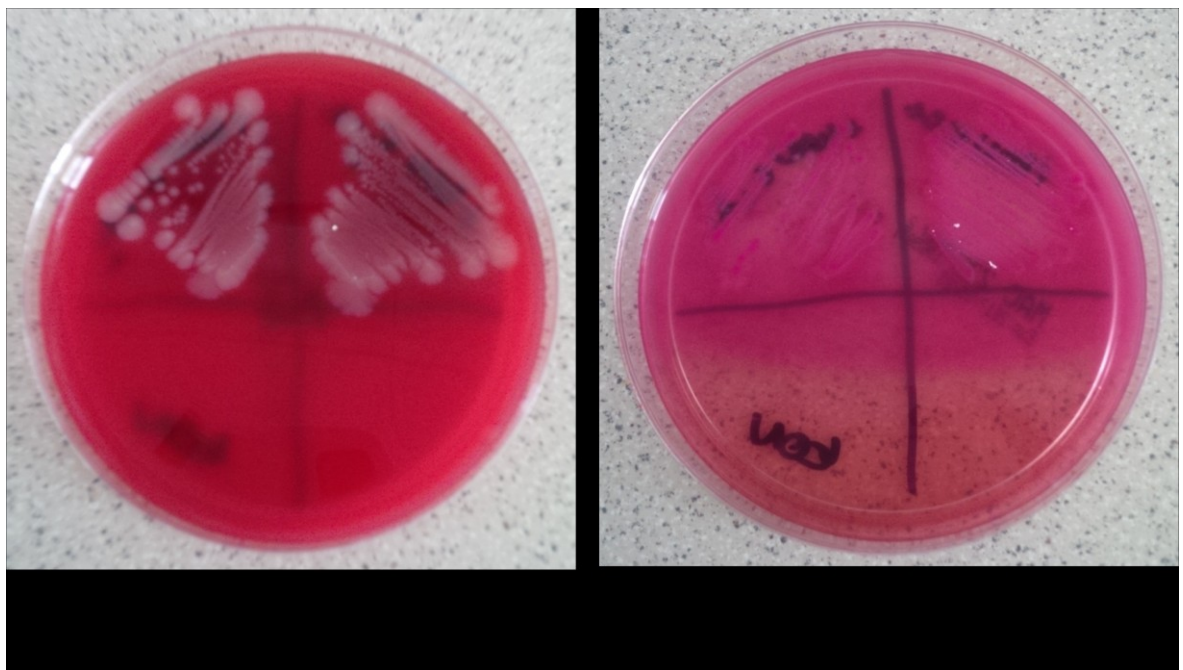
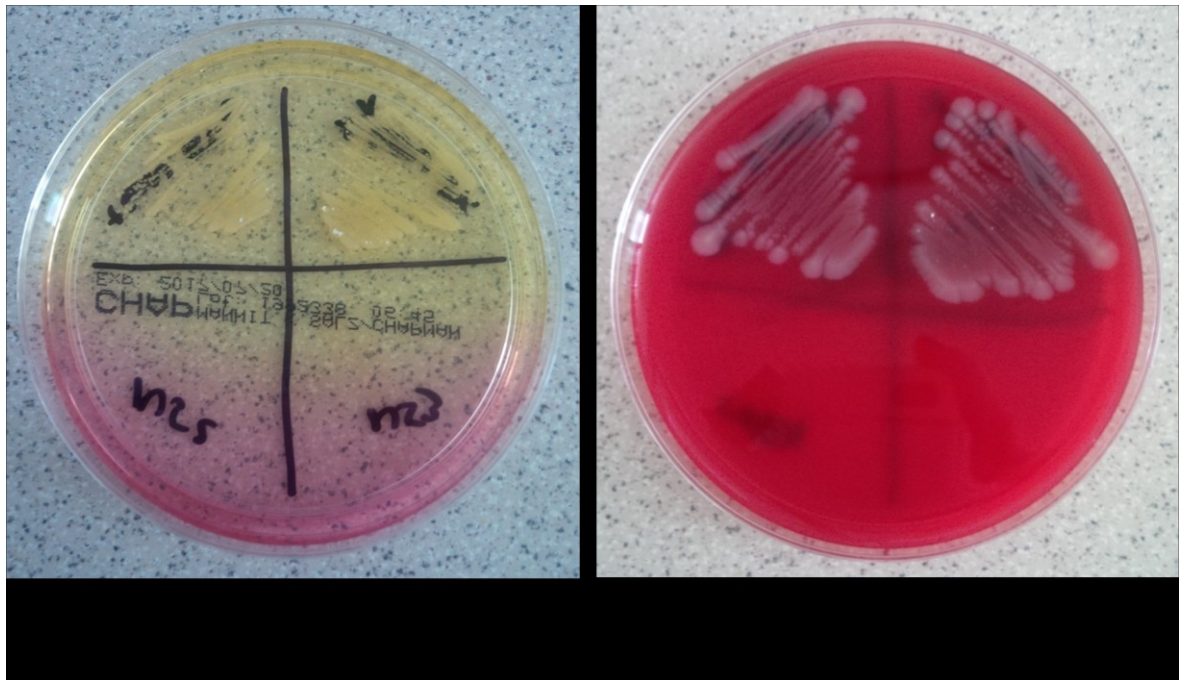
Z dřívek „Alfa“ (odebrané z linky „Alfa“) byly izolovány pleomorfní grampozitivní tyčinky s pozitivní katalázovou reakcí rostoucí ve formě matných krémově šedých kolonií. Z dřívek „Soft“ (odebrané ze Soft linky) byl získán jeden izolát grampozitivních tyčinek se stejnou charakteristikou jako izolát z dřívek „Alfa“. Dalším izolátem byly grampozitivní koky rostoucí ve žlutých koloniích, kataláza i koaguláza pozitivní. Pomocí STAPHYtestu byl izolát identifikován jako *Staphylococcus aureus* (viz kapitola 2.1.1.1. *Staphylococcus aureus*). Z dřívek „Cedr“ (odebrány z linky „Cedr“) byl získán jeden izolát grampozitiv-

ních kataláza pozitivních koků s negativní reakcí na koagulaci plazmy. Tento izolát byl identifikován jako *Staphylococcus xylosus*. Jedná se o komenzál vyskytující se na kůži a sliznicích, lze jej ovšem nalézt i v půdě, přežívá i na různých površích. Obecně se jedná o nepatogenní mikroorganismus, existuje jen málo poddruhů, které mohou být oportunními patogeny. Je využíván jako startérová kultura pro fermentaci mléčných a masných výrobků [56].

7.13 Negativní a pozitivní kontrola

Jak již bylo zmíněno, negativní kontrola byla prováděna každý pracovní den souběžně se vzorky pro ověření správnosti postupu. Pozitivní kontrola byla provedena zaočkováním *S. aureus* subsp. *aureus* CCM 3953 a *E. coli* CCM 3954 do bujónu s naváženým vzorkem. Se vzorky kontrol bylo při mikrobiologické analýze postupováno shodně s ostatními vzorky z jednotlivých zakázek. Vzhled kultur na testovaných médiích je zobrazen na Obrázcích 18–23.





7.14 Souhrn výsledků získaných v praktické části

V praktické části byla zmapována výroba dřevěných kosmetických tužek a statisticky byla zpracovaná firmou dodaná data za roky 2014, 2015 a 2016. Bylo zjištěno, že vliv na mikrobiologickou čistotu má doba čerpání řádné dovolené a generální úklid probíhající za nepřetržitého provozu. Nebyl prokázán vliv textury, typu výrobní technologie ani velikosti zakázky. Dále byla zjištěna zvýšená pravděpodobnost následování úspěšné dekády úspěšnou a také následování neúspěšné dekády neúspěšnou. V těchto ohledech je potřeba zvýšená hygiena, sanitace a mikrobiologická kontrola.

Byly provedeny mikrobiologické rozborů vzorků z různých částí výroby kosmetických tužek extrudovanou a nalévanou technologií, dřívěk a pomocných materiálů mastku a Xiameteru. Dle firemních standardů šarže výrobků není akceptována, pokud je zjištěna přítomnost gramnegativních bakterií, kvasinek a plísní, zástupců rodu *Streptococcus* a *Enterococcus*, a také přítomnost druhu *Staphylococcus aureus*. Dále není šarže akceptována v případě, že je zjištěn celkový počet mikroorganismů vyšší než 10 KTJ/g u hotových výrobků a vyšší než 100 KTJ/g u surových materiálů. U odebraných vzorků byl tedy sledován celkový počet mikroorganismů a dále přítomnost výše zmíněných rodů, druhů a skupin mikroorganismů. Některé izoláty byly podrobeny bližší identifikaci.

Gramnegativní mikroorganismy, kvasinky a plísně nebyly izolovány ze žádné z testovaných zakázek, a to ani při analýze hotových výrobků, ani při analýze hmot a tužek z různých výrobních fází. Ve vzorcích také nebyly zjištěny bakterie rodu *Streptococcus* a *Enterococcus*, stejně tak nebyly v tužkách a hmotách přítomny bakterie druhu *Staphylococcus aureus*. Z hlediska akceptovatelnosti zakázek a firemních standardů byly tedy všechny testované šarže mikrobiologicky přijatelné. Přesto z hmot i tužek mikroorganismy izolovány byly, nejčastěji se jednalo o koaguláza negativní stafylokoky a grampozitivní tyčinky pravděpodobně náležící do skupiny koryneformních bakterií. Získané izoláty patří mezi mikroorganismy běžně přítomné na kůži a v prostředí. Nejpravděpodobnějším zdrojem těchto kontaminantů jsou samotní pracovníci provozu a prašnost výrobních prostor.

Ze vzorků vyráběných extrudovanou technologií byly izolovány grampozitivní tyčinky a grampozitivní koky, *Staphylococcus epidermidis* a *Staphylococcus schleiferi*. Kontaminace objevená u vzorku vyrobeného nalévanou technologií pravděpodobně vznikla nevhodnou manipulací se vzorkem. Z mastku byly izolovány grampozitivní tyčinky, *Staphylococcus schleiferi* a *Staphylococcus epidermidis*. Xiameter byl mikrobiologicky čistý.

Z dřívěk byly opět izolovány grampozitivní tyčinky, dále *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus xylosus*.

Ve dvou případech byla zjištěna kontaminace pouze u prvního kroku výroby, mikroorganismy zřejmě nebyly odolné mrazu. U jedné zakázky byla zjištěna kontaminace u kroků 7, 8 a 9, pravděpodobně tedy došlo ke kontaminaci na zakládací lince. V tomto kroku se tedy doporučuje zvýšená hygiena a sanitace, stejně jako u zásobníků mastku u extrudérů a zakládacích linek, kde byla kontaminace zjištěna ve většině případů. Přestože dřívka byla kontaminovaná, nárůst byl velice malý.

Vzhledem k nízké četnosti kontaminace je zde velký prostor pro další výzkum s větším počtem vzorků. Lze se také zaměřit na odebrání vzorků z jednotlivých strojů, od konkrétních pracovníků nebo na začátku, uprostřed a na konci šarže. Ze statistické analýzy dat vyplývá, že množství kontaminovaných zakázek se dlouhodobě pohybuje kolem 3%. Pravděpodobnost, že při náhodném odběru vzorků bude odebrána zakázka mikrobiologicky nepřijatelná, byla velice malá. Pokud bychom chtěli lépe zmapovat problematická místa výroby, potřebovali bychom získat právě vzorky kontaminované zakázky, což ale není možné předem. Je však v možnostech výrobce na tuto práci navázat dalšími pravidelnými odběry vzorků, a pečlivou evidencí, analýzou a statistickým hodnocením takto získaných dat.

ZÁVĚR

- V teoretické části této práce byla popsána výroba dekorativní kosmetiky, dále bylo pojednáno o kožní mikroflóře, vybraných mikrobiologických normách týkajících se kosmetiky, rizicích výroby kosmetiky a doposud provedených studiích zabývajících se mikrobiologickou čistotou dekorativní kosmetiky.
- V praktické části byl zmapován proces výroby dřevěných kosmetických tužek.
- Byla provedena statistická analýza dat týkající se mikrobiologické kvality finálních výrobků. Bylo zjištěno, že mikrobiologická kvalita tužek není ovlivněna texturou, výrobní technologií ani velikostí zakázky.
- Problematická mohou být období čerpání řádné dovolené a výjimečné situace, jako je například generální úklid probíhající za nepřetržitého provozu.
- Byly provedeny mikrobiologické rozborů vzorků z různých částí výroby kosmetických tužek extrudovanou a nalévanou technologií, dřívěk a pomocných materiálů
- Analyzované vzorky neobsahovaly gramnegativní bakterie, kvasinky ani plísňe.
- Ve vzorcích byly nejčastěji zjištěny koaguláza negativní stafylokoky a grampozitivní tyčinky.
- Lze doporučit zvýšenou mikrobiologickou kontrolu pomocných materiálů (mastek) a dřívěk.
- Z hlediska mikrobiologické jakosti se zdají nejrizikovější konečné fáze výroby. Bylo by však vhodné získat větší množství dat mapujících mikrobiální kontaminaci během výrobního procesu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MITSUI, Takeo. *New cosmetic science*. New York: Elsevier Science, 1997. ISBN 0444826548.
- [2] ROSEN, Meyer R. *Harry's Cosmetology, Volume 3* [online]. 9th Edition. Chemical Publishing Company, 2015 [cit. 2017-04-20]. ISBN 978-0-8206-01786. Dostupné z: databáze Knovel.
- [3] AMPARO, Salvador a Chrisvert ALBERTO. *Analysis of Cosmetic Products* [online]. Amsterdam: Elsevier B.V., c2007 [cit. 2017-05-08]. ISBN 9780444522603. Dostupné z: Knovel.
- [4] TADROS, Tharwat F. *Formulations in Cosmetic and Personal Care*. Wokingham: Walter de Gruyter GmbH & Co, 2016. ISBN 978-3110452365.
- [5] CHRISTIE, R. M. *Colour chemistry*. 2nd ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, c2015. ISBN 978-1-84973-328-1.
- [6] MANAYL, A. a S. SAEIDNIA. *Cosmetics and Personal Care Products. Encyclopedia of Toxicology* [online]. Elsevier, c2014 [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: ScineceDirect.
- [7] BOCCA, Beatrice, Anna PINO, Alessandro ALIMONTI a Giovanni FORTE. *Toxic metals contained in cosmetics: A status report. Regulatory Toxicology and Pharmacology* [online]. Elsevier, c2014, (68) [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: ScineceDirect.
- [8] L.A.'s Top 4 Lip Color Trends Are Everything We Want Right Now. *Refinery29* [online]. 2017 [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: <http://www.refinery29.com/new-la-lipstick-trends>.
- [9] FLICK, Ernest W. *Cosmetic and Toiletry Formulations Database* [online]. Norwich: William Andrew Publishing, c2005 [cit. 2017-04-25]. ISBN 978-0-8155-1670-5. Dostupné z: databáze Knovel.
- [10] DRAELOS, Zoe Diana. *Special Considerations in Eye Cosmetics. Clinics in Dermatology* [online]. New York: Elsevier Scinece, c2001, **19**(4) [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: ScienceDirect.

- [11] ERNEST W. FLICK. *Cosmetic and toiletry formulations database*. Norwich, NY: William Andrew Publishing, 2006. ISBN 9780815516705.
- [12] MALIK, Adeela a Charles CLAOUÉ. Transport and interaction of cosmetic product material within the ocular surface: Beauty and the beastly symptoms of toxic tears. *Contact Lens & Anterior Eye* [online]. Elsevier, c2012, (35) [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: ScienceDirect.
- [13] CLARK, M. *Handbook of Textile and Industrial Dyeing, Volume 2 - Applications of Dyes* [online]. Woodhead Publishing, c2011 [cit. 2017-05-05]. ISBN 978-1-84569-696-2. Dostupné z: Knovel.
- [14] DAWSON, Notoma L. a Donald J. REINHARDT. Microbial Flora of In-Use, Display Eye Shadow Testers and Bacterial Challenges of Unused Eye Shadows. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. Atlanta: Mallinckrodt Diagnostics, 1981, 42(2) [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: aem.asm.org.
- [15] FLICK, E. W. *Cosmetic and Toiletry Formulations, Volume 8* [online]. 2nd Edition. William Andrew Publishing/Noyes, c2001 [cit. 2017-05-05]. ISBN 978-0-8155-1454-1. Dostupné z: Knovel.
- [16] ORTH, Donald S. *Insights into the Cosmetic Microbiology*. Carol Stream: Allured Business Media, c2010. ISBN 978-1-932633-62-7.
- [17] BRANNAN, Daniel K. *Cosmetic Microbiology: A Practical Handbook*. Boca Raton: CRC Press, c1997. ISBN 0-8493-3713-5.
- [18] KLASCHKA, Ursula. Trust, but verify! Personal care products in the rapid alert system database RAPEX. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* [online]. Elsevier B. V., c2017, (5) [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: ScineceDirect.
- [19] ORUS, Pilar a Sonia LERANOZ. Current trends in cosmetic microbiology. *International Microbiolgy* [online]. Barcelona, 2005, (8) [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: www.im.microbios.org.

- [20] GHALLEB, S., S. DE VAUGELADE, O. SELLA, M. LAVARDE, C. MIELCAREK, A.-M. PENSE-LHERITIER a S. PIRNAY. Predictive microbiology for cosmetics based on physicals, chemicals and concentration parameters. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. Society of Cosmetic Scientists, c2014, (37) [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: www.onlinelibrary.wiley.com.
- [21] GIACOMEL, C. B., G. DARTORA, H. S. DIENFETHAELER a S. E. HAAS. Investigation on the Use of Expired Make-up and Microbiological Contamination of Mascaras. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. John Wiley, c2013, (35) [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: www.ebscohost.com.
- [22] BRANNAN, Daniel K. a James C. DILLE. Type of Closure Prevents Microbial Contamination of Cosmetics during Consumer Use. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. American Society for Microbiology, c1990, **56**(5) [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: www.aem.asm.org.
- [23] ORTH, Donald S., Jon J. KABARA, Stephen P. DENYER a S.K. TAN. *Cosmetic and Drug Microbiology*. New York: Informa Healthcare USA, c2006. ISBN 0-8493-7266-6.
- [24] O'LENICK, JR, Anthony J. *Microorganisms and Cosmetics*. Carol Stream: Allured Business Media, c2009. ISBN 978-1-932633-56-6.
- [25] *Klinicky významné bakterie*. Praha: Triton, 2012. ISBN 9788073875886.
- [26] ČSN EN ISO 17516. *Kosmetika – Mikrobiologie – Mikrobiologické limity*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2015.
- [27] ČSN ISO 21148. *Kosmetika – Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro mikrobiologické vyšetřování*. Praha: Český normalizační institut, 2008.
- [28] ČSN ISO 21148 ZMĚNA Z1. *Kosmetika – Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro mikrobiologické vyšetřování*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2009.
- [29] ČSN ISO 18415. *Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz specifických a nespecifických mikroorganismů*. Praha: Český normalizační institut, 2008.

- [30] ČSN EN ISO 22717. *Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz Pseudomonas aeruginosa*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010.
- [31] ČSN EN ISO 22718. *Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz Staphylococcus aureus*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010.
- [32] ČSN EN ISO 21149. *Kosmetika – Mikrobiologie – Stanovení počtu a průkaz aerobních mezofilních bakterií*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010.
- [33] EN ISO 29621. *Cosmetics – Microbiology – Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low-risk products*. Brussels: European Committee for Standardization, 2011.
- [34] NOOR, Rashed, Nagma ZERIN, Kamal Kanta DAS a Luthfun Naher NITU. Safe usage of cosmetics in Bangladesh: a quality perspective based on microbiological attributes. *Journal of Biological Research* [online]. c2015, **22**(10) [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: ProQuest.
- [35] BRANNAN, D. K. a P. A. GEIS. Cosmetics Microbiology. *Encyclopedia of Microbiology* [online]. Elsevier, c2009 [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: ScieceDirect.
- [36] ČSN EN ISO 22716. *Kosmetika – Správná výrobní praxe (SVP) – Směrnice pro správnou výrobní praxi*. Praha: Český normalizační institut, c2008.
- [37] JEFFRIES, Nancy. Quality Control: Bacteria. *Global Cosmetic Industry* [online]. 2004 [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: ProQuest.
- [38] JIMENEZ, L., R. IGNAR, S. SMALLS, P. GRECH, J. HAMILTON, Y. BOSKO a D. ENGLISH. Molecular detection of bacterial indicators in cosmetic/ pharmaceuticals and raw materials. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* [online]. New Jersey: Society for Industrial Microbiology, c1999, (22) [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: ProQuest.
- [39] BRADFORD, Rope. Conquering Contamination: Part II. *Global Cosmetic Industry* [online]. 2002 [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: ProQuest.

- [40] CAMPANA, R., C. SCESA, V. PATRONE, E. VITTORIA a W. BAFFONE. Microbiological study of cosmetic products during their use by consumers: health risk and efficacy of preservative systems. *Letters in Applied Microbiology* [online]. The Society for Applied Microbiology, c2006, (43) [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: www.web.a.ebcohost.com.
- [41] LUNDOV, M. D., L. MOESBY, C. ZACHARIAE a J. D. JOHANSEN. Contamination versus Preservation of Cosmetics: A Review on Legislation, Usage, Infections, and Contact Allergy. *Contact Dermatitis* [online]. Singapore: Blackwell Munksgaard, c2009, (60) [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: www.onlinelibrary.wiley.com.
- [42] Isolation, Characterization and Effect of *Candida parapsilosis* Isolated from a Deteriorated Cosmetic. *International Biodeterioration & Biodegradation* [online]. Elsevier Science, c1997, **40**(2-4) [cit. 2017-05-08]. Dostupné z: ScienceDirect.
- [43] PACK, Latricia D., M. Gary WICKHAM, Rebecca A. ENLOE a Denise N. HILL. Microbial Contamination Associated with Mascara Use. *Optometry* [online]. American Optometric Association, 2008, (79) [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: ScienceDirect.
- [44] CORONEO, Minas T., Marni L. ROSENBERG a Leanne M. CHEUNG. Ocular Effects of Cosmetic Products and Procedures. *The Ocular Surface* [online]. Ethis Communications, c2006, **4**(2) [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: ScienceDirect.
- [45] MUHAMMED, Huda J. Bacterial and Fungal Contamination in Three Brands of Cosmetic Marketed in Iraq. *Iraqi J Pharm Sci* [online]. 2011, **20**(1) [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: www.bjips.com.
- [46] KATUŠIM-RAŽEM, Branka, Branka MIHALJEVIĆ a Dušan RAŽEM. Microbiological decontamination of cosmetic raw materials and personal care products by irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* [online]. Elsevier Science, c2002, (66) [cit. 2017-05-07]. Dostupné z: ScienceDirect.
- [47] SAWANT, Shena Sunil a Varsha KELKAR-MANE. Study of Bacterial Contaminants in Local as Well as Branded Lipsticks Before and After Consumer Use. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research* [online]. 2015, **2**(1) [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: www.ijramr.com.

- [48] ONURDAG, Farma Kaynak, Selda ÖZGEN a Duygu ABBASOGLU. Microbiological Investigation of Used Cosmetic Samples. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy* [online]. 2010, **30**(1) [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: www.citeseerx.ist.psu.edu.
- [49] DADASHI, Leila a Reza DEHGHANZADEH. Investigating Incidence of Bacterial and Fungal Contamination in Shared Cosmetic Kits Available in the Women Beauty Salons. *Health Promotion Perspectives* [online]. c2016, **6**(3) [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: ProQuest.
- [50] Dehydrated Culture Media. *Thermo Scientific: Oxoid Microbiology Products* [online]. [cit. 2017-05-10]. Dostupné z: www.oxoid.com.
- [51] AMBROŽOVÁ, Jana. *Mikrobiologie v technologii vos*. 2nd ed. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2008. ISBN 978-80-7080-676-0.
- [52] MELTER, Oto a Annika MALMGREN. *Principy a praktika lékařské mikrobiologie*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, c2014. ISBN 978-80-246-2414-3.
- [53] DRÉNO, B., E. ARAVIISKAIA, E. BERARDESCA, G. GONTIJO, M. SANCHEZ VIERA, L.F. XIANG, R. MARTIN a T. BIEBER. Microbiome in healthy skin, update for dermatologists. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 2016, **30**(12), 2038-2047 [cit. 2017-05-13]. DOI: 10.1111/jdv.13965. ISSN 09269959. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jdv.13965>.
- [54] MICHAEL, Otto. Staphylococcus epidermidis – the “accidental” pathogen. *Nature Reviews. Microbiology* [online]. Bethesda: The National Institutes of Health, 2009, **7**(8) [cit. 2017-05-14]. Dostupné z: www.researchgate.net.
- [55] VANDENESCH, F., T. GREENLAND a J. ETIENNE. Clotting Activity in Staphylococcus schleiferi Subspecies from Human Patients. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. Lyon Cedex: American Society for Microbiology, c1993, **32**(2) [cit. 2017-05-14]. Dostupné z: www.researchgate.net.
- [56] DORDET-FRISONI, E., G. DORCHIES, C. DE ARAUJO, R. TALON a S. LEROY. Genomic Diversity in Staphylococcus xylosus. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. American Society for Microbiology, c2007, **73**(22) [cit. 2017-05-14]. Dostupné z: www.aem.asm.org.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

| | |
|-------|--|
| INCI | Mezinárodní nomenklatura kosmetických ingrediencí |
| UV | ultrafialové |
| RAPEX | Rapid Alert System for Non-Food Product |
| KTJ | kolonie tvořící jednotky |
| SVP | Správná výrobní praxe |
| HACCP | Systém analýzy rizika a stanovení kontrolních bodů |
| MAN | mannitol |
| MSA | Mannitol Salt Agar |
| G+ | grampozitivní |

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|--|--|
| <i>Obrázek 1: Míchačka</i> | 45 |
| <i>Obrázek 2: Tříválec</i> | 46 |
| <i>Obrázek 3: Extrudér</i> | 47 |
| <i>Obrázek 4: Kartuše</i> | 47 |
| <i>Obrázek 5: Zakládací linka – extrudovaná technologie</i> | 48 |
| <i>Obrázek 6: Lis na sendviče</i> | 49 |
| <i>Obrázek 7: Sendviče</i> | 49 |
| <i>Obrázek 8: Surová tužka</i> | 49 |
| <i>Obrázek 9: Masky</i> | 50 |
| <i>Obrázek 10: Soft linka</i> | 51 |
| <i>Obrázek 11: Aplikátory</i> | 51 |
| <i>Obrázek 12: Dokončovací linka</i> | 52 |
| <i>Obrázek 13: Kartáčkové chránítka</i> | 52 |
| <i>Obrázek 14: Zásobníky s chránítka</i> | 53 |
| <i>Obrázek 15: Dočišťování hrotů</i> | Chyba! Záložka není definována. |
| <i>Obrázek 16: Vývoj vadných zakázek v měsících</i> | 56 |
| <i>Obrázek 17: Vývoj vadných zakázek v dekadách</i> | 57 |
| <i>Obrázek 18: S. aureus, Columbia Agar, aerobní kultivace</i> | 73 |
| <i>Obrázek 19: S. aureus, Columbia Agar, anaerobní kultivace</i> | 73 |
| <i>Obrázek 20: S. aureus, Mannitol Salt Agar</i> | 74 |
| <i>Obrázek 21: E. coli, Columbia Agar, aerobní kultivace</i> | 74 |
| <i>Obrázek 22: E. coli, Columbia Agar, anaerobní kultivace</i> | 74 |
| <i>Obrázek 23: E. coli, MacConkey Agar</i> | 74 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|---|----|
| <i>Tabulka 1: Složení silikonového make-upu [2, s. 1344–1345]</i> | 17 |
| <i>Tabulka 2: Složení rtěnky s vysokým leskem [9]</i> | 21 |
| <i>Tabulka 3: Složení řasenky typu olej ve vodě [11]</i> | 25 |
| <i>Tabulka 4: Složení krémových očních stínů [15, s. 51]</i> | 27 |
| <i>Tabulka 5: Výrobní fáze a označení extrudovaných zakázek</i> | 61 |
| <i>Tabulka 6: Výrobní fáze a označení nalévaných zakázek</i> | 62 |
| <i>Tabulka 7: Zakázka A po válcování</i> | 66 |
| <i>Tabulka 8: Zakázka B po válcování</i> | 67 |
| <i>Tabulka 9: Zakázka F – jádra – otevřený sendvič</i> | 70 |