

Badania jakościowe kosmetyków

Ustawa z dnia 4 października 2018 r. o produktach kosmetycznych

PN-EN ISO 29621:2017-04- kosmetyki-- Mikrobiologia-- Wytyczne dotyczące oceny ryzyka i identyfikacji produktów o niskim ryzyku mikrobiologicznym

PN-EN ISO 17516:2014-11-Kosmetyki-- Mikrobiologia-- Limity mikrobiologiczne

Liczba tlenowych bakterii mezofilnych wg PN EN ISO 22149;

Liczba drożdży i pleśni wg PN EN ISO 16212;

Obecność *Staphylococcus aureus* wg PN EN ISO 22718;

Obecność *Pseudomonas aeruginosa* wg PN EN ISO 22717;

Obecność *Escherichia coli* wg PN EN ISO 21150;

Obecność *Candida albicans* wg PN EN ISO 18416.

Art. 27. Kto wprowadza do obrotu produkt kosmetyczny bez spełnienia wymogów dotyczących oceny bezpieczeństwa, o której mowa w art. 10 rozporządzenia nr **1223/2009**, podlega karze pieniężnej w wysokości do 100 000 zł.

Szczególną uwagę należy zwracać na kosmetyki **stosowane w okolicach oczu**, ogólnie na **błony śluzowe**, na **skórę uszkodzoną**, u **dzieci** w wieku poniżej trzech lat, u **osób starszych** i osób, u których obserwuje się **nieprawidłowe reakcje immunologiczne**.

Źródła zakażeń mikrobiologicznych produktów kosmetycznych

- Kontaminacja mikrobiologiczna kosmetyku może nastąpić **w trakcie produkcji** (zakażenia pierwotne) jak i **w trakcie użytkowania produktu** gotowego (zakażenia wtórne).
- W celu zminimalizowania ryzyka kontaminacji kosmetyku na etapie jego produkcji przeprowadza się **monitoring czystości mikrobiologicznej środowiska** produkcyjnego. Standardowo zawiera on analizę:
 - czystości linii produkcyjnych,
 - powierzchni roboczych
 - powietrza w pomieszczeniu produkcyjnym
 - czystości dzieży ochronnej i dłoni personelu.
- częste badania środowiska produkcyjnego pozwalają na szybką reakcję w razie zanieczyszczenia. Mogą one być wykonywane przez **laboratorium przykładowe lub przez laboratorium zewnętrzne** mające w swojej ofercie analizę wymazów, odcisków oraz powietrza.

Tabela 1. Kryteria akceptacji czystości mikrobiologicznej produktów kosmetycznych zgodnie z PN-EN ISO 17516:2014

Badany parametr	Produkty kosmetyczne przeznaczone dla dzieci poniżej trzeciego roku życia, stosowane w okolicy oczu lub na błony śluzowe	
	Pozostałe produkty	
Ogólna liczba tlenowych mikroorganizmów mezofilnych	$\leq 1 \times 10^2$ cfu na 1 g lub 1 ml	$\leq 1 \times 10^3$ cfu na 1 g lub 1 ml
<i>Escherichia coli</i>	Nieobecne w 1 g lub 1 ml	Nieobecne w 1 g lub 1 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nieobecne w 1 g lub 1 ml	Nieobecne w 1 g lub 1 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Nieobecne w 1 g lub 1 ml	Nieobecne w 1 g lub 1 ml
<i>Candida albicans</i>	Nieobecne w 1 g lub 1 ml	Nieobecne w 1 g lub 1 ml

Pseudomonas aeruginosa

Na podłożu z cetrimidem (pkt 7 — Roztwory typowe kolonie *P. aeruginosa* są płaskie, przejrzyste, żółto-zielonkawe do niebieskich.

Należy przeprowadzić co najmniej następujące testy potwierdzające:

- barwienie metoda Gramma,
- test oksydazy,
- test na ruchliwość,
- wzrost w 42°C

P. aeruginosa jest Gram-ujemną pałeczką, ruchliwą, oksydazo-dodatnią i rośnie w temp. 42°C

Żyje w wodzie i glebie oraz na powierzchni roślin

Test oksydazowy- Test jest przeznaczony do wykrywania oksydazy cytochromowej u Gram-ujemnych bakterii produkujących ten enzym, tj. *Neisseria* lub *Pseudomonas*.

Patogeneza

Wytwarza:

otoczkę alginianową — działa jako czynnik adhezyjny i antyfagocytny

pilinę — istotna we wstępnej kolonizacji nabłonka

adhezyny (niezwiązane z fimbriami) — jak wyżej

hemolizyny — mogą niszczyć surfaktant powodując niedodmę

proteazy — np. elastaza, trawia białka

toksyny — m.in. lipopolisacharyd, enterotoksyna, egzotoksyna S (rany oparzeniowe) , egzotoksyna A, która jest główną toksyną wydzielaną przez *Pseudomonas* a jej działanie jest identyczne z toksyną błoniczą.

Tworzy biofilm

Powoduje zakażenia szpitalne

Wykazuje dużą odporność na antybiotyki

Wytwarza piocyjaninę – niebiesko-zielony barwnik obecny niekiedy w wydzielinach z miejsc zakażonych

Staphylococcus aureus

Na podłożu u Baird-Parkera typowe kolonie *S. aureus* są czarne, błyszczące, wypukłe, otoczone przejrzystym obszarem, który może opalizować.

Należy przeprowadzić co najmniej następujące testy potwierdzające:

- barwienie metoda Grama,
- test katalazowy,
- test koagulazowy.

Chorobotwórczość:

Gram-dodatnia bakteria występująca w jamie nosowo-gardłowej oraz na skórze.

Wytwarza enzymy warunkujące zjadliwość:

Enterotoksyny A, B, C1, C2, D, E, F – powodują zatrucia pokarmowe

Hemolizyny – wywołują lizę erytrocytów

Koagulaza – powoduje aktywację kaskady krzepnięcia krwi.

Leukocydyna – uszkadza leukocyty, głównie granulocyty i makrofagi

Czynnik CF – ścina fibrynogen

Hialuronidaza – ułatwia wnikanie i rozprzestrzenianie się gronkowców

Fibrynolizyna – rozpuszczanie skrzepu i rozprzestrzenianie się procesu chorobowego

Penicylinaza – warunkuje oporność gronkowców na penicylinę

Fosfolipaza – rozkłada fosfolipidy

Jednostki chorobowe:

Zakażenia ropne skóry, tkanek podskórnych oraz tkanek miękkich (WAŻNE!!):

czyraki (karbunkul)

jęczmień

ropnie

ropne zakażenia ran pooperacyjnych, pourazowych i innych

liszajec (zwykle gronkowiec wtórnie dołącza się zakażenia paciorkowcem ropotwórczym)

zapalenie sutka u kobiet karmiących piersią

piodermia

zastrzał

zanokcica

figówka

zapalenie mieszków włosowych.

Zakażenia układowe o etiologii gronkowcowej:

zapalenie szpiku kostnego i kości

zapalenie tchawicy

zapalenie płuc- jako powikłanie grypy

zapalenie mięśnia sercowego, ostre zapalenie wsierdzia

zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, ropnie mózgu

zapalenie żył

zakażenie układu moczowego

posocznica gronkowcowa.

Zakażenia lub zatrucia związane z produkcją swoistych toksyn
choroba Rittera
zespół wstrząsu toksycznego
gronkowcowe zatrucia pokarmowe

Diagnostyka mikrobiologiczna

- Identyfikację prowadzi się poprzez określenie morfologii kolonii, barwienie metoda Grama, wykorzystanie testu katalazowego, oraz próby na wytwarzanie koagulazy.
- Koncowa identyfikację prowadzi się do gatunku *Staphylococcus aureus* oraz pozostałych gronkowców określanych jako CNS (Coagulase Negative Staphylococci)

Test gronkowcowy - reakcja dodatnia – wystąpienie wyraźnej aglutynacji świadczy o obecności na powierzchni komórki bakteryjnej czynnika zlepiającego „clumping factor” charakterystycznego dla gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*).

Candida albicans

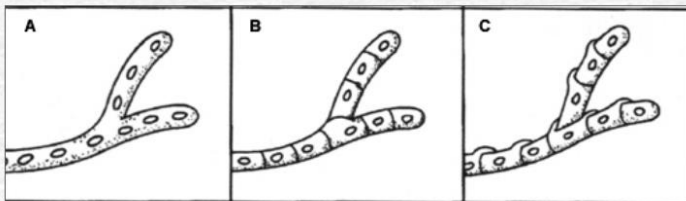
- *Candida albicans* na podłożu Sabouarda typowe kolonie *C. albicans* są białe do beżowych, kremowe, wypukłe.
- Należy przeprowadzić co najmniej następujące testy potwierdzające:
 - badanie mikroskopowe,
 - test tworzenia nibystrzpek,
 - tworzenie chlamidosporów.
- W każdym przypadku powinny być prowadzone inne odpowiednie testy, aby potwierdzić identyfikację np. test filamentacji
- Na podłożu Sabouarda z chloramfenikolem po 24/48 h inkubacji w temp. 37°C tworzą białokremowe, ciastowate kolonie. Grzyby drożdżopodobne uwalniają charakterystyczny drożdżowy zapach.

Identyfikacja grzybów drożdżopodobnych – fazy wzrostu:

Faza YEAST- DROŹDZOWA

Pseudogrzybnia- nibystrzeczki

- **Pseudogrzybnia (pseudomycelium)** – wydłużone, nitkowate struktury, często rozgałęziające się, złożone wyłącznie z komórek pączkujących lub pojedyncza, nitkowata komórka, mogąca rozgałęziać się, nie posiadająca przegród poprzecznych



- Flora fizjologiczna, wywołuje zakażenia oportunistyczne

- Infekcji sprzyja przewlekła antybiotykoterapia, osłabienie odporności, sztuczne zastawki, cewniki, zabiegi inwazyjne etc. Zazwyczaj kandydozę dzieli się na powierzchowną oraz znacznie poważniejszą uogólnioną.
- *C. albicans* jest uważany za największego producenta biofilmu wśród gatunków *Candida*

Escherichia coli – chorobotwórczość

Czynniki zjadliwości *Escherichia coli* dotyczą głównie ich zdolności do przylegania i adhezji do nabłonka przewodu pokarmowego oraz wytwarzania toksyn przez niektóre szczepy.

Adhezji sprzyjają fimbrie, z czego najgroźniejsze są typy I oraz P (powinowactwo do dróg moczowych) i typu S (powinowactwo do naczyń mózgowych)

Innym czynnikiem zjadliwości jest otoczka o właściwościach antyfagocytarnych, zwana antygenem K, adhezyny CEA, endotoksyna (LPS) oraz α -hemolizyny.

Niektóre szczepy wytwarzają egzotoksyny oraz toksynę typu Shiga.