

Praní – Hygienicko-epidemiologické kontroly v prádelně**OS 80-05**

Vydávání oborových specifikací Textilním zkušebním ústavem (Centrum technické normalizace) bylo odsouhlaseno na zasedání správního výboru a dozorčí rady Asociace textilního-oděvního-kožedělného průmyslu dne 1. 9. 2009 a na zasedání předsednictva Asociace prádelen a čistíren dne 10. 9. 2009.

Souvisící normy a technické specifikace

ČSN EN 14065 (80 0876) Textilie – Postupy praní textilií – Kontrolní systém biokontaminace

OS 80-01 Praní – Odborné ošetření prádla ze zdravotnických zařízení a zařízení sociálních služeb

OS 80-02 Praní – Odborné ošetření prádla z potravinářských provozů

OS 80-03 Praní – Odborné ošetření hotelového prádla

Souvisící právní předpisy

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 6/2003 Sb., kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb.

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, ve znění pozdějších předpisů.

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 306/2012 Sb., o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče, ve znění pozdějších předpisů.

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 852/2004 o hygieně potravin.

Nahrazení předchozí oborové specifikace

OS 80-05:2020 nahrazuje OS 80-05 z 2015.

Změny proti předchozí oborové specifikaci

V porovnání s předchozí oborovou specifikací byly provedeny změny související se sladěním požadavků Oborové certifikace s požadavky certifikace podle RAL 992/1, 2, 3 a 4:

- doplnění a upřesnění přípravy a zpracování vzorků;
- úprava specifikace kontrolních bodů;
- doplnění a upřesnění metodiky odběrů;
- upravena kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů;
- upřesnění požadavků na výsledné hodnoty.

Údaje o projednání

Tato OS 80-05:2020 byla projednána se zainteresovanými stranami, kterými jsou:

- Asociace prádelen a čistíren ČR;
- Asociace textilního-oděvního-kožedělného průmyslu;
- Společnost nemocniční epidemiologie a hygieny;
- Česká společnost pro sterilizaci.

Vypracování oborové specifikace

Zpracovatel: Textilní zkušební ústav, s. p., Brno, IČO: 00013251, Centrum technické normalizace,
Mgr. Markéta Hrubanová, Mgr. Hana Polášková, Ing. Václav Štika, Ing. Lubomír Prokop

Obsah

1	Předmět.....	4
2	Termíny a definice.....	4
3	Podstata kontrol	5
4	Kultivační půdy a reagentie	7
4.1	Krevní Agar	7
4.2	Clausenův bujón	7
4.3	Další pomocné tekuté a pevné (kultivační) půdy	7
5	Zkušební zařízení.....	8
6	Metodika odběru vzorků v prádelně	8
6.1	Otisky	8
6.2	Stěry.....	8
6.3	Odběr vody.....	8
6.4	Odběr vzduchu.....	8
6.5	Kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů	8
7	Příprava a vyhodnocení vzorků	9
7.1	Otisky	9
7.2	Stěry.....	9
7.3	Odběr vody.....	9
7.4	Odběr vzduchu.....	9
7.5	Kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů	9
8	Vyjádření výsledků a požadavky	9
8.1	Otisky	9
8.2	Stěry.....	10
8.3	Odběr vody.....	10
8.4	Odběr vzduchu.....	10
8.5	Kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů	10
9	Protokol.....	11
	Příloha A (informativní) Kultivační půdy a reagentie.....	12
	Příloha B (informativní) Příklady uvádění výsledků v protokolu (pro zdravotnické prádlo	16
	Příloha C (informativní) Průvodní dokumentace k bioindikátorovým testům	19

1 Předmět

Pro provozy prádelen, které perou prádlo ze zdravotnických zařízení a zařízení sociálních služeb, jsou právním předpisem stanoveny požadavky na procesy, kterými je prádlo připravováno pro opakované použití. Existuje ale i celá řada dalších klientů, zejména z potravinářských provozů nebo hotelů, která má srovnatelně přísné požadavky na mikrobiologickou čistotu prádla.

V provozu prádelny, který pere prádlo těchto klientů, je potřeba přijmout taková opatření, aby se prádlo v procesu údržby dekontaminovalo a vrátilo do použití bez mikrobiální kontaminace. Součástí těchto opatření vždy musí být kontrolní mechanismy, kterými se ověřuje účinnost přijatých postupů a opatření. Předmětem této specifikace je metodika a zkušební postupy, které mají být použity při hygienicko-epidemiologických kontrolách v provozech prádelen, a také stanovení požadavků na jednotlivé typy provozů.

2 Termíny a definice

2.1

agarová plotna

Petriho miska o průměru 90 mm naplněná pevnou živnou půdou nebo otisková plotna sloužící ke kultivaci mikroorganismů

2.2

biologický indikátor (bioindikátor)

zkušební systém obsahující životaschopné mikroorganismy v množství minimálně 10^5 CFU používaný k ověření dezinfekční účinnosti pracích procesů

2.3

CFU, KTJ

colony forming units, kolonie tvořící jednotky

2.4

dekontaminace

soubor metod, postupů a prostředků k účinnému odstranění mikrobiální kontaminace

2.5

dezinfekce

soubor opatření, která mají za cíl přerušit cestu šíření nákazy od zdroje k jedinci

2.6

mikrobiální kontaminace

označuje znečištění prádla, povrchů, rukou atd. mikroorganismy

2.7

mikroorganismus

mikroskopicky viditelný organismus (patří sem např. bakterie, kvasinky a mikroskopické vláknité houby)

2.8

otisk

mikrobiologická metoda zachycení mikroorganismů a jejich přímý přenos formou otisknutí na pevné živné půdy

2.9

primárně patogenní mikroorganismy (striktní patogeny)

mikroorganismy vyvolávající nemoc u zdravého hostitele (např. *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Corynebacterium diphtheriae* atd.)

2.10

podmíněně patogenní mikroorganismy (oportunní)

mikroorganismy vyvolávající nemoc pouze při oslabení hostitele; jsou běžně přítomné jako součást mikroflóry, ale za určitých okolností mohou vyvolat onemocnění (např. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a jiné bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*)

2.11

stěr

mikrobiologická metoda zachycení mikroorganismů pomocí sterilního stěrového tamponu

2.12**limitní hodnota**

hodnota, která nesmí být překročena. Pokud k překročení limitní hodnoty dojde, kontrolor ověří účinnost prádelnou provedených nápravných opatření v rozsahu technologických souvislostí neshody

2.13**prahová hodnota**

hodnota, při jejímž překročení je prádelna povinna zavést nápravná opatření, informovat o nich písemně kontrolora a dohodnout s ním způsob ověření účinnosti

2.14**doporučená hodnota**

hodnota, při jejímž překročení je prádelna povinna zavést nápravná opatření, o jejichž účinnosti informuje písemně kontrolora

3 Podstata kontrol

Hygienicko-epidemiologická kontrola ověřuje účinnost všech používaných postupů a opatření k odstranění mikrobiální kontaminace použitého prádla a zabránění rekontaminace čistého prádla v provozu prádelny, expedici čistého prádla včetně dopravy a případných externích pracovištích nebo skladech. Vedle pravidelných externích kontrol provádí prádelna další kontroly při jakýchkoliv pochybnostech o mikrobiologické čistotě dodávaného prádla. Také po podstatné změně technologie praní musí být kontrola provedena nejpozději při uvádění do rutinního provozu.

Je důležité, aby odebrané vzorky byly reprezentativní a odrážely tak skutečné mikrobiologické poměry v provozu prádelny. Mikrobiální kontaminace by měla v průběhu zpracování po každém technologickém kroku klesat nebo zůstat negativní. Pokud mezi jednotlivými technologickými kroky kontaminace vzroste, je to signál pro nápravná opatření v technologii zpracování prádla. Výsledky hygienicko-epidemiologické prověrky musí splňovat požadavky uvedené v kapitole 8.

Kontrolní body pro mikrobiologickou prověrku jsou specifikovány v obrázku 1.

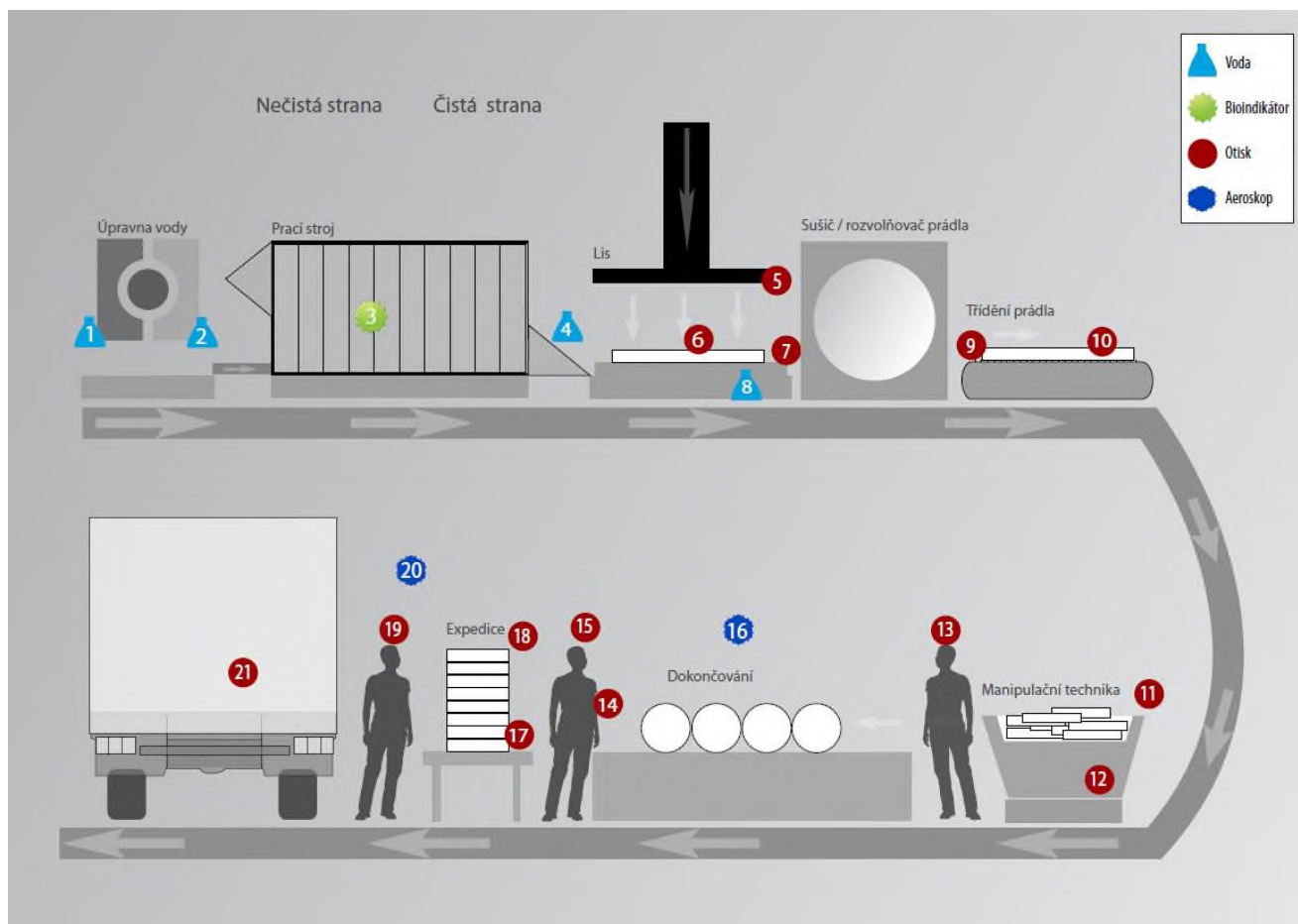
V prádelnách, které používají jiný typ technologického zařízení, než je znázorněn na obrázku 1, musí být odběry provedeny z technologicky analogických míst (např. místo membrány lisu je odběr proveden z vnitřní strany bubny pracího stroje s odstředěním a místo otisku z koláče z lisu z prádla vyjmutého z pracího stroje s odstředěním apod.).

Mimo těchto kontrolních bodů, musí být provedeny odběry z potenciálně rizikových míst (např. stěry pod nehty pracovníků nebo stěry na místech, kde nelze otisk s vypovídající hodnotou provést, např. klecový vozík).

Hygienicko-epidemiologická prověrka musí zahrnovat:

- stanovení mikrobiální kontaminace suchého prádla připraveného k expedici formou otisků, do odběrů musí být zahrnuty otisky ze švů, horních kusů z vrstev naskládaného prádla a také je nutno dbát na to, aby otisky byly ve vhodném poměru odebrány z prádla, které bylo dokončeno žehlením, sušením nebo v tunelfinišeru;
- stanovení mikrobiální kontaminace vlhkého prádla formou otisků (odběry by měly zohlednit hlavně riziková místa např. koláč z lisu nebo prádlo, které není ihned zpracováno);
- mikrobiologické otisky a stěry z rukou personálu a z povrchů předmětů, které jsou označovány za čisté a dezinfikované, přičemž při odběrech musí být zohledněna tato kritická místa:
 - dopravníky pod shozy prádla, vnitřní části lisu včetně membrány, transportní vozíky a pásy, všechny stroje, které mohou vytvářet aerosol (např. prací stroje s odstředěním a odstředivky);
 - možné rezervoáry, kde mohou mikroorganismy přežívat a rozmnožovat se, popř. vytvářet biofilm (např. upravená voda z iontoměniče, zásobníky vody, shozy prádla, transportéry, vozíky, lisy, odstředivky, lahve s vodou k vlhčení prádla aj). Je třeba se zaměřit na gramnegativní fermentující i nefermentující tyčinky, stafylokoky, legionely apod.
- mikrobiologický rozbor surové vody, upravené vody vstupující do praček, poslední máchací vody a lisové vody (pokud prádelna používá kontinuální prací linku s lisem);
- mikrobiologickou kontrolu vzdušné kontaminace na čisté straně prádelny (dokončování prádla a v expedici) jako doplňující měření v případě, že otisky z dokončeného prádla nevyhovují předepsaným limitům;
- ověření dezinfekční účinnosti pracího procesu pomocí biologických indikátorů (bioindikátorů).

Obrázek 1 – Příklad kontrolních bodů pro hygienicko-epidemiologickou prověrku podle OS 80-05



Legenda:

1. surová (neupravená) voda
2. vstupní (upravená) voda
3. ověření dezinfekční účinnosti praní biologickými indikátory*
4. poslední máchací voda*
5. membrána lisu
6. koláč z lisu*
7. pásový dopravník za lisem
8. lisová voda*
9. pásový dopravník (třídění vlhkého prádla)
10. vlhké prádlo na pásovém dopravníku
11. vlhké prádlo v přepravní vaně
12. manipulační technika
13. ruce personálu (manipulace s vlhkým prádlem)
14. pracovní plocha za žehličem
15. ruce personálu (manipulace se suchým prádlem po dokončování)
16. vzduch v okolí kalandru (v případě nevyhovujících otisků z prádla)
17. pracovní plochy v expedici (regály, poličky, pracovní plochy na skládání prádla)
18. suché prádlo a prádlo v expedici
19. ruce personálu v expedici
20. vzduch v expedici (v případě nevyhovujících otisků z prádla)
21. auto na expedované prádlo

* všechny odběry provést pro jeden prací program u tunelové pračky

4 Kultivační půdy a reagenty

4.1 Krevní Agar

4.1.1 Složení

Pepton	15,0 g
Extrakt z jater	2,5 g
Kvasničný extrakt	5,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Agar	13,0 g
Voda	1000 ml

4.1.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Kultivační půda se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

4.1.3 Příprava agarových ploten

Kultivační půda se rozeřeje a ochladí na (42 ± 1) °C. K základu se přidá 5–7 % defibrinované ovčí krve, agar se promíchá a bezprostředně se rozlévá do sterilních Petriho misek a nechá se ztuhnout.

4.2 Clausenův bujón

4.2.1 Složení

Ke 40 g komerčně dodávaného sušeného média (např. Oxoid CM 0353) se přidá Tween 80 (3 g) a glycerol (5 g).

4.2.2 Příprava

Kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě za varu.

Bujónem se naplní zkumavky, které se pak sterilizují v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

4.3 Další pomocné tekuté a pevné (kultivační) půdy

Složení a příprava dalších tekutých a pevných (kultivačních) půd je uvedeno v příloze A.

4.3.1 Živný bujón

4.3.2 Tryptonová voda

4.3.3 PCA agar

4.3.4 Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG)

4.3.5 Violet Red Bile Lactose Agar (VRBL)

4.3.6 Sabouradův agar

4.3.7 Baird-Parker agar

4.3.8 Slanetz and Bartley agar

4.3.9 Pseudomonas Agar Base (+ CFC supplement, + CN supplement)

5 Zkušební zařízení

Obvyklé vybavení mikrobiologické laboratoře a dále následující.

- 5.1 **Přístroj ke sterilizaci horkým vzduchem** (sušárna) **nebo parou** (autokláv).
- 5.2 **Inkubátory** s teplotou udržovanou v rozmezí 22 °C až 37 °C.
- 5.3 **Vodní lázeň** nebo podobné zařízení schopné udržovat teplotu mezi 44 °C a 47 °C.
- 5.4 **Nádoby, zkumavky, baňky či lahve**, vhodné pro sterilizaci a uchování kultivačních pūd a odběr vzorků.
- 5.5 **Petriho misky**, skleněné nebo plastové o průměru 90 mm, otiskové plotny.
- 5.6 **Kličky** (o průměru asi 3 mm), **očkovací jehly** platino-iridiové nebo nikel-chromové **a skleněné tyčinky**, nebo ekvivalentní sterilní kličky či očkovací jehly na jednorázové použití.
- 5.7 **Pipety kalibrované na úplný výtok, mechanické pipety s fixním a variabilním objemem; špičky pro pipety**
- 5.8 **pH metr**
- 5.9 **Jednorázové sterilní stěrové tampóny**
- 5.10 **Zařízení pro odběr vzduchu** schopné aktivně odebírat okolní vzduch tak, aby během měření bylo zanalyzováno 500 l vzduchu (např. průtok vzduchu 100 l/min po dobu 5 minut).

6 Metodika odběru vzorků v prádelně

6.1 Otisky

Odběr vzorků otiskem je prováděn na laboratorně vyrobené otiskové plotny s krevním agarem připravené podle čl. 4.1, nebo komerčně dodávané. Plotna se pevně přitiskne na zkoušený povrch na dobu přibližně 3 sekundy.

6.2 Stěry

Sterilní stěrový tampón se namočí do tekuté pomnožovací pūdy připravené podle čl. 4.2 a za stálého otáčení se stírá plocha na sebe kolmými tahy. Stěr je prováděn z plochy 10 cm x 10 cm nebo z celého menšího předmětu.

6.3 Odběr vody

Vzorek se odebírá do sterilní láhve se zábrusem o objemu 500 ml. Láhev se otevře těsně před samotným odběrem a naplní se vodou tak, aby mezi hladinou vzorku a víčkem zůstal asi 2 cm vzduchový prostor. Při odběru výpustním kohoutem se kohout, pokud je to možné, opálí, nechá zchladnout a poté se voda nechá ještě nejméně 1 minutu stejnoměrně odtékat. Pokud opálení není možné, ústí kohoutu se dezinfikuje prostředkem určeným k dezinfekci povrchů, přičemž se při aplikaci řídí pokyny výrobce. Voda se také nechá odtékat (alespoň 1 minutu) a potom se naplní odběrová láhev. V případě odběru vody z tanku (stojaté vody) se vzorek odebere ponořením odběrové lahve do vody. Láhev musí být vysterilizovaná v obalu z hliníkové fólie nebo jiného materiálu, který se sterilizací neporuší. Obal se odstraní těsně před odběrem.

6.4 Odběr vzduchu

Do zařízení sloužícímu k odběru vzduchu se upevní Petriho miska s krevním agarem připravená podle čl. 4.1, nebo komerčně dodávaná. Zařízení se nastaví tak, aby během měření bylo nasáto 500 l vzduchu (tj. např. na průtok vzduchu 100 l/min, po dobu 5 minut). Po ukončení odběru se miska opět uzavře, vrchní víko přístroje se vydezinfikuje.

6.5 Kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů

Biologické indikátory s testovacími kmeny například *Enterococcus faecium* ATCC 6057 nebo *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 v množství minimálně 10^5 CFU (výběr vhodného kmene záleží na parametrech praní) se umístí k rutinní náplni (zamíchají se do prádla) a nechá se proběhnout příslušný prací program. K otestování jednoho pracího programu se použijí minimálně tři kusy biologických indikátorů. Jeden biologický indikátor se nepere, ponechá se jako referenční pro ověření životaschopnosti testovacího kmene (pozitivní růstová kontrola). Po skončení pracího programu se vyjmou všechny indikátory (v případě praní na kontinuální prací lince před

vstupem do sušiček/rozvolňovače) a co nejdříve (nejpozději do 24 hod) se doručí do mikrobiologické laboratoře k dalšímu zpracování.

7 Příprava a vyhodnocení vzorků

Vzorky musí být po odběru v co nejkratším časovém úseku (nejpozději do 24 hod od odběru) dopraveny do laboratoře. Během transportu musí být vzorky uchovány při teplotě (2-8) °C a nesmí dojít k jakémukoliv poškození vzorku, které by mohlo vést ke zkreslení výsledků. Po transportu jsou vzorky co nejdříve zpracovány (nejpozději do 24 hodin od odebrání vzorků).

7.1 Otisky

Plotny se v laboratoři umístí dnem vzhůru do termostatu nastaveného na (37±1) °C na dobu 48 hodin. Po 48 hodinách jsou zachycená agens dále dourčována standardními mikrobiologickými technikami (např. mikroskopie, Gramovo barvení, použití selektivních, popř. selektivně-diagnostických pūd připravených např. podle čl. A.4.3.4, A.4.3.5, A.4.3.6, A.4.3.7, A.4.3.8 a A.4.3.9 přílohy A nebo komerčně dodávaných a biochemických konfirmačních testů).

7.2 Stěry

Zkumavky se stěrovými tampony se umístí do termostatu nastaveného na (37±1) °C na dobu 10 dnů. Následuje kultivace zachycených agens na speciálních pūdách a druhová diagnostika pomocí standardních mikrobiologických technik (viz 7.1).

7.3 Odběr vody

Vzorky jsou v laboratoři ihned zpracovávány, nebo uloženy v lednici a zpracovány do 24 hodin od odběru. Mikrobiologický rozbor je proveden dle standardních vyšetřovacích metod pro pitnou vodu za použití médií připravených např. dle čl. A.4.3.2, A.4.3.3, A.4.3.5, A.4.3.8 a A.4.3.9 přílohy A nebo komerčně dodávaných nebo jiných vhodných pūd.

7.4 Odběr vzduchu

Plotny se v laboratoři umístí dnem vzhůru do termostatu nastaveného na (37±1) °C na dobu 48 hodin. Po 48 hodinách jsou zachycená agens dále dourčována pomocí standardních mikrobiologických technik (viz 7.1).

7.5 Kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů

Biologické indikátory jsou v laboratoři ihned zpracovávány, nebo uloženy v lednici, ale musí být zpracovány do 24 hodin od ukončení praní. Sterilní pinzetou se přenese nosič do sterilní kultivační pūdy (živný bujon připravený dle čl. A.4.3.1 přílohy A, nebo selektivní médium pro daný kmen). Kultivace probíhá dle údajů výrobce biologického indikátoru. Standardními mikrobiologickými metodami se pak vyhodnotí, zda testovací mikroorganismy přežily, nebo ne, popř. se vyloučí sekundární kontaminace. U každé vyprané sady je nutné provést pozitivní růstovou kontrolu (ověření životaschopnosti testovacího kmene).

8 Vyjádření výsledků a požadavky

V této kapitole je uvedena forma vyjádření výsledků a jsou zde stanoveny požadavky na jednotlivé typy provozů podle sortimentu prádla. V případě neshody s požadavky musí prádelna provést nápravná opatření a musí být prokázána jejich účinnost dle tabulky 3.

8.1 Otisky

Vyhodnocení se provádí bakteriologickými postupy umožňujícími stanovit počet CFU na ploše 10 cm².

Požadavek pro suché prádlo připravené k expedici: Počet CFU/10 cm² nepatogenní mikroflóry nesmí být pro zdravotnické prádlo po dokončení a v expedici větší než 2 a pro potravinářské prádlo větší než 5. Při provedení 10 přímých otisků na krevní agar musí 9 vyhovět. 3 otisky musí být odebrány ze švů. Na prádle nesmí být přítomny primární patogeny ani podmíněně patogenní mikroorganismy.

Požadavek pro vlhké prádlo: Počet CFU/10 cm² nepatogenní mikroflóry nesmí být pro vlhké zdravotnické prádlo větší než 3 a pro potravinářské prádlo větší než 10. Musí být provedeny 3 otisky. Na prádle nesmí být přítomny primární patogeny ani podmíněně patogenní mikroorganismy.

Požadavek pro povrchy transportních, úložných, pracovních a technologických zařízení: Počet CFU/10 cm² nepatogenní mikroflóry nesmí být pro povrchy větší než 10. Na površích nesmí být přítomny primární patogeny ani podmíněně patogenní mikroorganismy.

Požadavek pro ruce personálu: Počet CFU/10 cm² nepatogenní mikroflóry nesmí být na rukou personálu větší než 10. Na rukou nesmí být přítomny primární patogeny ani podmíněně patogenní mikroorganismy.

Tabulka 1 – Požadavky na výsledné hodnoty otisků

Odběrové místo	Požadavek na počet CFU/10 cm ² nepatogenní mikroflóry	
	pro zdravotnické prádlo	pro potravinářské prádlo
suché prádlo připravené k expedici	≤ 2 Při provedení 10 přímých otisků na krevní agar musí 9 vyhovět.	≤ 5 Při provedení 10 přímých otisků na krevní agar musí 9 vyhovět.
vlhké prádlo	≤ 3	≤ 10
povrchy transportních, úložných a technologických zařízení	≤ 10	≤ 10
ruce personálu	≤ 10	≤ 10

8.2 Stěry

Výsledné nálezy nejsou kvantifikovány, ale označeny pouze rodovým, případně druhovým názvem.

Požadavek: Stěry nesmí prokázat výskyt primárně patogenního nebo podmíněně patogenního mikroorganismu.

8.3 Odběr vody

Hodnoty jsou přepočteny a vztaženy na 1 ml a 100 ml odebraného vzorku (dle následující tabulky).

Požadavek: Vzorky upravené, poslední máchací a lisové vody (pokud je relevantní) musí splňovat požadavky specifikované v tabulce 2.

Tabulka 2 – Požadavky na výsledné hodnoty rozboru vody

Ukazatel	Jednotka	Požadavek
Koliformní bakterie	CFU/100 ml	negativní
Enterokoky	CFU/100 ml	negativní
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CFU/100 ml	negativní
Počty kolonií při 22 °C	CFU/1 ml	≤ 100*
Počty kolonií při 36 °C	CFU/1 ml	≤ 100*

8.4 Odběr vzduchu

Zjištěné hodnoty jsou přepočteny na CFU/m³ vzduchu.

Požadavky na kvalitu vnitřního prostředí staveb, s výjimkou prostorů vyžadujících zvýšené nároky na jeho čistotu, se pokládají za splněné, nepřekročí-li koncentrace bakterií 500 CFU/m³ na čisté straně prádelny.

8.5 Kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů

Výsledkem je buď negativní růst testovacího mikroorganismu, který svědčí o dostatečné účinnosti dezinfekčního procesu, nebo pozitivní růst testovacího mikroorganismu, který naopak svědčí o nedostatečné dezinfekční účinnosti. Prací proces lze považovat za dezinfekční, pokud dojde ke snížení počtu mikroorganismů minimálně o 5 logaritických řádů (viz příloha C Průvodní dokumentace k bioindikátorovým testům)

Požadavek: Všechny biologické indikátory, které byly použity pro otestování daného pracího programu, musí být negativní.

Tabulka 3 – Hodnoty pro různé kontrolní body a kroky v případě nesplnění požadavků

Hodnota	Kontrolní bod	Kroky v případě nesplnění požadavků
Limitní	Otisky ze suchého prádla, kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů pomocí biologických indikátorů	Zavedení nápravných opatření. Jejich účinnost musí být ověřena opakovaným vzorkováním v rozsahu technologických souvislostí neshody.
Prahová	Otisky z vlhkého prádla, odběr upravené a poslední máchací (popř. lisové) vody	Zavedení nápravných opatření, zopakování vzorkování dle dohody s kontrolorem a písemným doložením účinnosti nápravných opatření kontrolorovi
Doporučená	Otisky z rukou personálu, odběry z povrchů transportních, úložných a technologických zařízení	Zavedení nápravných opatření a písemné doložení jejich účinnosti kontrolorovi

9 Protokol

Protokol o kontrole musí obsahovat alespoň tyto informace:

- číslo protokolu o zkouškách
- název a adresu laboratoře, kde byly vzorky vyhodnoceny a osobu, která odběr provedla
- datum příjmu vzorků do laboratoře, zahájení analýzy a ukončení analýzy
- odkaz na tuto oborovou specifikaci
- čísla stránek a celkový počet stránek
- informace potřebné k identifikaci místa odběru (viz příloha C Průvodní dokumentace k bioindikátorovým testům)
- použitou metodiku zkoušení
- použité inkubační teploty
- všechny podrobnosti o pracovním postupu, které zde nejsou specifikovány, které jsou považovány za volitelné a dále všechny události, které mohly mít vliv na výsledky zkoušení
- výsledky zkoušení podle pořadí článků kapitoly 8
- jméno a podpis osoby odpovědné za vystavení protokolu

Příloha A (informativní)**Kultivační půdy a reagensie****A.4.3.1 Živný bujón****A.4.3.1.1 Složení**

Masový extrakt	1,0 g
Kvasničný extrakt	2,0 g
Pepton	5,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.1.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($7,4 \pm 0,2$) při 25 °C.

Kultivační půda se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

A.4.3.2 Peptonová (tryptonová) voda**A.4.3.2.1 Složení**

Pepton	10,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.2.2 Příprava

Komerčně dodávaný suchý dehydratovaný pepton se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním. Roztok se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

A.4.3.3 Plate Count Agar (PCA)**A.4.3.3.1 Složení**

Pepton	5,0 g
Extrakt z jater	2,5 g
Glukóza	1,0 g
Agar	15,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.3.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($7,0 \pm 0,2$) při 25 °C.

Kultivační půda se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

A.4.3.4. Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG)**A.4.3.4.1 Složení**

Enzymaticky natrávené živočišné tkáně	7,0 g
Kvasniční extrakt	3,0 g
Glukóza	10,0 g
Žlučové soli	1,5 g
Chlorid sodný	5,0 g
Neutrální červeň	0,03 g
Krystalová violet	0,002 g
Agar	12,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.4.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($7,4 \pm 0,2$) při 25 °C.

Kultivační půda se pomalu přivede k varu do úplného rozpuštění. Neautoklávuje se.

A.4.3.5 Violet Red Bile Lactose Agar (VRBL)**A.4.3.5.1 Složení**

Pepton	7,0 g
Kvasniční extrakt	3,0 g
Laktóza	10,0 g
Žlučové soli	1,5 g
Chlorid sodný	5,0 g
Neutrální červeň	0,03 g
Krystalová violet	0,002 g
Agar	12,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.5.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($7,4 \pm 0,2$) při 25 °C.

Kultivační půda se pomalu přivede k varu do úplného rozpuštění. Neautoklávuje se.

A.4.3.6 Sabouradův agar**A.4.3.6.1 Složení**

Enzymaticky natrávený kasein	5,0 g
Enzymaticky natrávené živočišné tkáně	5,0 g
Glukóza	40,0 g
Agar	15,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.6.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($5,6 \pm 0,2$) při 25 °C.
Kultivační půda se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

A.4.3.7 Baird-Parker Agar

A.4.3.7.1 Složení

Enzymaticky natrávený kasein	10,0 g
Hovězí extrakt	5,0 g
Kvasniční extrakt	1,0 g
Chlorid lithný	5,0 g
Glycin	12,0 g
Pyruvát sodný	10,0 g
Agar	17,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.7.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($7,2 \pm 0,2$) při 25 °C.

Kultivační půda se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Po ochlazení na 45-50 °C se asepticky přidá supplement (žloutková emulze a teluričitan draselný) v množstvích odpovídajících údajům výrobce.

A.4.3.8 Slanetz and Bartley agar

A.4.3.8.1 Složení

Tryptóza	20,0 g
Kvasniční extrakt	5,0 g
Glukóza	2,0 g
Hydrogenfosforečnan draselný	4,0 g
Azid sodný	0,4 g
Trifenyltetrazoliumchlorid	0,1 g
Agar	15,0 g
Voda	1000 ml

A.4.3.8.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($7,2 \pm 0,2$) při 25 °C.

Kultivační půda se pomalu přivede k varu do úplného rozpuštění. Neautoklávuje se.

A.4.3.9 Pseudomonas Agar Base + CFC supplement, Pseudomonas Agar Base + CN supplement

A.4.3.9.1 Složení Pseudomonas Agar Base

Enzymaticky natrávená želatina	16,0 g
Enzymaticky natrávený kasein	10,0 g
Chlorid hořečnatý	1,4 g
Síran draselný	10,0 g
Glycerol	10,0 g

Agar	13,6 g
Voda	1000 ml

A.4.3.9.2 Příprava

Složky, nebo kompletní sušená půda se rozpustí ve vodě, je-li třeba zahříváním.

Pokud je potřeba, upraví se pH tak, aby po uvaření jeho hodnota činila ($7,2 \pm 0,2$) při 25 °C.

Kultivační půda se sterilizuje v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Po ochlazení na 50 °C se asepticky přidá CFC (Cephalothin-Sodium Fusidate-Cetrimide) supplement (pro izolaci *Pseudomonas spp.* nebo CN (Cetrimide-Nalidixic acid) supplement pro selektivní izolaci *Pseudomonas aeruginosa*.

Příloha B (informativní)**Příklady uvádění výsledků v protokolu (pro zdravotnické prádlo)****Tabulka B.1 – Výsledky – otisky ze suchého prádla:**

Č. vzorku	Odběrové místo	Požadavek	Mikrobiologický nález – CFU/10 cm ²
1	Prádlo v expedici	max. 2 CFU/10 cm ² pro zdravotnické prádlo 9 z 10 otisků musí vyhovět	<i>negativní</i>
2	Prádlo v expedici (šev)		<i>negativní</i>
3	Prádlo v expedici		<i>negativní</i>
4	Prádlo v expedici (šev)		2 (<i>Micrococcus sp.</i> , <i>aerobní sporulující bakterie</i>)
5	Prádlo v expedici		<i>negativní</i>
6	Prádlo v expedici		<i>negativní</i>
7	Prádlo v expedici		0,4 (<i>aerobní sporulující bakterie</i>)
8	Prádlo v expedici		<i>negativní</i>
9	Prádlo po žehlení (šev)		<i>negativní</i>
10	Prádlo po žehlení		<i>negativní</i>

Vysvětlivky:

negativní: bakterie neprokázány použitou metodikou

Tabulka B.2 – Výsledky – otisky z vlhkého prádla:

Č. vzorku	Odběrové místo	Požadavek	Mikrobiologický nález – CFU/10 cm ²
1	Koláč z lisu	max. 3 CFU/10 cm ² pro zdravotnické prádlo	3 (<i>koaguláza neg. stafylokoky</i>)
2	Prádlo v manipulačním vozíku		<i>negativní</i>
3	Prádlo na třídícím pásu		<i>negativní</i>

Tabulka B.3 – Výsledky – otisky z technologických a transportních zařízení, pracovních ploch atd.:

Č. vzorku	Odběrové místo	Požadavek	Mikrobiologický nález – CFU/10 cm ²
1	Výstup z prací linky	max. 10 CFU/10 cm ²	<i>negativní</i>
2	Membrána lisu		<i>negativní</i>
3	Pásový dopravník za lisem		<i>negativní</i>
4	Výstup z odstředivky		<i>negativní</i>
5	Vnitřní plocha dveří pracího stroje s odstředěním		<i>negativní</i>
6	Třídící pás		<i>negativní</i>
7	Kontejner na prádlo/ závěsný pytel		<i>negativní</i>
8	Regál na prádlo		2,8 (<i>aerobní sporulující bakterie koaguláza neg. stafylokoky</i>)
9	Polička na prádlo		3,6 (<i>aerobní sporulující bakterie</i>)
10	Automobil na expedované prádlo (boční stěna)		<i>negativní</i>

Tabulka B.4 – Výsledky – otisky z rukou personálu:

Č. vzorku	Odběrové místo	Požadavek	Mikrobiologický nález – CFU/10 cm ²
1	Expedientka	max. 10 CFU/10 cm ²	<i>negativní</i>
2	Pracovnice (za žehličem)		5 (koaguláza negativní stafylokoky)
3	Pracovnice (třídění vlhkého prádla)		<i>negativní</i>

Tabulka B.5 – Výsledky – stěry:

Č. vzorku	Odběrové místo	Požadavek	Mikrobiologický nález
1	Klecový vozík po dezinfekci	Neprokázán patogenní/podmíněně patogenní mikroorganismus	<i>negativní</i>

Tabulka B.6 – Výsledky – měření vzdušné kontaminace:

Č. vzorku	Odběrové místo	Požadavek CFU/m ³		Mikrobiologický nález CFU/m ³	
1	Expedice	bakterie	≤ 500	bakterie	126
		mikroskopické vláknité houby	≤ 500	mikroskopické vláknité houby	16
2	Čistá strana	bakterie	≤ 500	bakterie	184
		mikroskopické vláknité houby	≤ 500	mikroskopické vláknité houby	22

Tabulka B.7 – Výsledky – mikrobiologický rozbor vody:

Mikrobiologický rozbor vstupní upravené vody

Ukazatel	Jednotka	Požadavek	Hodnota
Koliformní bakterie	CFU/100 ml	negativní	<i>pro danou jednotku nezjištěno</i>
Enterokoky	CFU/100 ml	negativní	<i>pro danou jednotku nezjištěno</i>
<i>P. aeruginosa</i>	CFU/100 ml	negativní	<i>pro danou jednotku nezjištěno</i>
Počty kolonií při 22°C	CFU/1 ml	≤ 100*	80
Počty kolonií při 36°C	CFU/1 ml	≤ 100*	20

Tabulka B.8 – Výsledky – kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů:

Test č.	Testovací bakterie	Prací stroj	Program/teplota	Zákazník	Požadavek	Růst testované bakterie
1	<i>E. faecium</i>	XXX	XX	XXX	negativní	<i>negativní</i>
2					negativní	<i>negativní</i>
3					negativní	<i>negativní</i>
1	<i>S. aureus</i>	XXX	XX	XXX	negativní	<i>negativní</i>
2					negativní	<i>negativní</i>
3					negativní	<i>negativní</i>

Vysvětlivky:

negativní – testovací bakterie (*E. faecium*, *S. aureus*) neprokázánypozitivní – testovací bakterie (*E. faecium*, *S. aureus*) prokázány**Tabulka B.9 – Požadavky OS 80-05 byly/nebyly splněny.**

Odběr	Požadavek splněn
Otisky ze suchého prádla	Ano
Otisky z vlhkého prádla	Ano
Odběry z technologických a transportní zařízení, pracovní plochy	Ano
Odběry z rukou personálu	Ano
Mikrobiologický rozbor vody	Ano
Kontrola dezinfekční účinnosti pracích procesů	Ano

Příloha C (informativní)

Průvodní dokumentace k bioindikátorovým testům

TEXTILNÍ ZKUŠEBNÍ ÚSTAV s.p.
Cejl 480/12
602 00 Brno



Prádelna:				
Odpovědná osoba:				
PRŮVODNÍ DOKUMENTACE č.				
HODNOCENÍ DEZINFEKČNÍ ÚČINNOSTI TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU PRANÍ				
Data použitého bioindikátoru				
Počet použitých ks LOT Datum expirace	Staphylococcus aureus		Enterococcus faecium	
Data pracího stroje				
Výrobce a typ pracího stroje, prací program	Náplň v kg suchého prádla		Způsob ovládání Ruční / autom.	Způsob ohřevu (pára, plyn, elektr.)
	Jmenovitá	Pracovní		
Údaje o technologii				
Sortiment prádla, se kterým byl indikátor vyprán	Způsob dávkování pracích prostředků		Způsob dávkování pomocných pracích prostředků	
Popis technologického postupu praní				
Krok / komora	Produkt (název a dávkování - zvolte správné jednotky !) (g / kg prádla) nebo (g / l lázně)	Čas (min)	Teplota (°C)	Lázněvý poměr 1 : x
předepírka předepírka předepírka praní praní bělení/dez. máchání máchání máchání				
vyplní prádelna vyplní TZÚ Poznámky:				
V.....dne		Podpis.....		