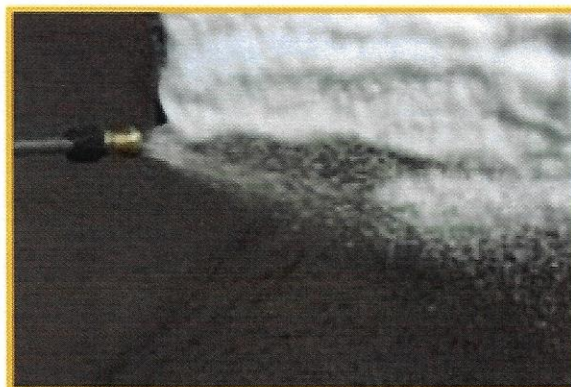


STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV V PRAZE
CENTRUM ZDRAVÍ A ŽIVOTNÍCH PODMÍNEK
Laboratoř hygieny půdy a odpadů



**Validace účinnosti dekontaminace sady Tequendama
Doubleje a PSDS/10 MIL pro dezinfekci odpadových
nádob.
Závěrečná zpráva**



Příloha :
Vypracoval:

Fotodokumentace, Protokol o výsledcích rozborů
Ing. Ladislava Matějů, Ing. Marta Kořínková

[Signature]
Praha, prosinec 2020

1 ÚVOD

Zpráva byla vypracována na základě objednávky ze dne 9. 11. 2020. Cílem provedené práce bylo ověření (validace) technologie čištění odpadových nádob s použitím sady pro dekontaminaci Tequendama Double a PSDS/10. Validace byla provedena 2.12.2020 v prostorách firmy TRUCK servis Čáslav s.r.o.

2 PŘÍSTROJ

Dekontaminační sada se skládá z přístroje **Tequendama Doubleje** a přístroje pro dávkování dezinfekce **PSDS/10 MIL**. Jedná se o přenosný malý dekontaminační systém s ručním vybavením pro dekontaminaci osob, vozidel, zařízení a terénu. Součástí přístroje je kanystr o objemu 10 l s pěnovou tryskou. Jako dekontaminační roztok se používá prostředek BX 24.

Jsou doloženy následující dokumenty :

Bezpečnostní list BX24 – v angličtině

Propagační leták – v angličtině

Prohlášení o shodě – v italštině

2.1. Postup dekontaminace

Kontaminovaná nádoba - kontejner je nejprve umyt pomocí zařízení **Tequendama Double**, který je schopen generovat horkou tlakovou vodu (98 °C, 180BAR), tak aby na povrchu a vnitřních prostorách nádob nebyly viditelné pevné zbytky. Po tlakovém čištění následuje dekontaminace/dezinfekce manuálním přenosným systémem **PSDS/10 MIL**, který obsahuje dezinfekční činidlo BX24, které je nesené vodní parou. Přípravek BX24 se používá jako 5% vodný roztok. Ošetřené povrchy jsou viditelně potřísněné bílým práškem, který umožní rychlou vizuální kontrolu komplexnosti čištění. Bílé skvrny zmizí samy po dalších cca 30 min, nebo je nádobu možné ještě jednou omýt.

Po aplikaci dezinfekčního agens je třeba nechat toto působit 15-20 minut. Teprve po této době je proces čištění považován za kompletní.

Při aplikaci je třeba používat předepsané ochranné pomůcky.

3 POSTUP PRÁCE

Validace účinnosti dekontaminace sady Vapor vacuum byla provedena s využitím uměle kontaminovaného kontejneru pro sběr komunálního odpadu dodaného firmou TRUCK servis Čáslav s.r.o.

Ve vnitřním prostoru kontejneru bylo ohraničeno 10 ploch á 100 cm² (definované plochy jsou uvedeny v Tabulce 1). Povrch těchto ploch byl zdrsňen smirkovým papírem pro lepší aplikaci suspenze kontrolních mikroorganismů o známé koncentraci. Na zdrsňené plochy byla nanášena směs suspenze mikroorganismů s nosičem, která simulovala přirozené znečištění kontejneru. Koncentrace kontrolních mikroorganismů jsou uvedeny v Tabulce 2. Na každou sledovanou plochu byl nanášen 1ml suspenze.

Nanášená směs s mikroorganismy byla ponechána 24 h při laboratorní teplotě, aby došlo k zaschnutí směsi. Poté byl kontejner zapečetěn proti nežádoucí kontaminaci během převozu do areálu firmy TRUCK servis Čáslav s.r.o. Po transportu byl kontejner odpečetěn v místě provedení čištění pracovníci laboratoře.

Tabulka 1: Rozmístění ploch kontejneru pro umělou kontaminaci a stěry povrchů

Označení plochy	rozměry (cm)	popis
č. 1	10 x 10	víko vpravo dole
č. 2	10 x 10	víko střed
č. 3	5 x 20	víko střed lem nahoře
č. 4	10 x 10	levá stěna nahoře
č. 5	10 x 10	levá stěna dole
č. 6	10 x 10	pravá stěna nahoře
č. 7	10 x 10	pravá stěna dole
č. 8	10 x 10	zadní stěna nahoře
č. 9	10 x 10	zadní stěna dole
č. 10	10 x 10	dno

Tabulka 2: Koncentrace kontrolních mikroorganismů

Mikroorganismus	popis	Koncentrace v suspenzi (KTJ/ml)
<i>Escherichia coli</i>	bakterie	$4,1 \cdot 10^8$
<i>Enterococcus faecium</i>	bakterie	$4,5 \cdot 10^8$
<i>Bacillus cereus</i>	sporující bakterie	$3,3 \cdot 10^8$
<i>Aspergillus niger</i>	plíseň	$1,4 \cdot 10^8$
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	kvasinka	$1,6 \cdot 10^8$

Proces čištění probíhal dle návodu výrobce pověřeným pracovníkem firmy CRISTANINI. Nejprve byl kontejner vyčištěn tlakovým čističem **Tequendama Doubleje**, kdy dochází k mechanickému narušení a vymytí nečistot (odstavec 2.1). Po dokončení čisticího procesu byly odebrány stěry definovaných ploch kontejneru.

Odebrané stěry byly umístěny do sterilních obalů, transportovány v chladicí tašce do laboratoře a ihned podrobeny mikrobiologické analýze.

Stěrový tampon byl v laboratoři vytřepán v 10 ml sterilního fyziologického roztoku. Pracovní roztok byl podroben desítkovému ředění. Z každého dílčího ředění bylo vyočkováno 0,2 ml na plotny se selektivní kultivační půdou pro jednotlivé mikroorganismy.

3.1 Stanovení kontaminace povrchů kontejnerů mikroorganismy

Růst kontrolních mikroorganismů byl sledován na selektivních kultivačních půdách a živných médiích. Pro stanovení přeživších *E. coli* byl ke kultivaci použit m-Fc agar selektivní pro koliformní bakterie, 24 h, 44 ± 1 °C. Pro stanovení přeživších enterokoků byl použit selektivní agar Slantz Bartley (SB agar), 48 h, 44 ± 1 °C. Plísně a kvasinky byly kultivovány jednak na selektivní půdě s glukózo-peptonovým agarem s bengálskou červení a chloramfenikolem (3-7 dní, $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) a na sladínovém agaru, 3-7 dní, $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Plotny s neselektivním živným agarem byly inkubovány při teplotě 37°C po dobu 72 h. Odečty probíhaly po 24h a po 72 h. Na plotnách s živným agarem narůstaly kolonie kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* a bakterií *Bacillus cereus*. Tyto mikroorganismy se liší morfologicky, konfirmace kolonií byla

provedena rovněž mikroskopicky (mikroskop Carl Zeiss JENAVAL).

Stěry byly provedeny na ploše 10 x 10 cm (100 cm²), resp 5 x 20 cm (100 cm² pro stěr č. 3) sterilním stěrovým tampónem. Před vlastním stěrem je tampón vysunut z transportní zkumavky, navlhčen ve sterilním ředícím roztoku (fosfátový pufr) a poté je proveden stěr z definované plochy. Inokulovaný stěrový tampón je opět uložen do transportní zkumavky a vložen do termoboxu. Po přepravě do laboratoře je vytřepán v definovaném množství sterilního fosfátového pufru nebo fyziologického roztoku. Dle předpokládané úrovně mikrobiologické kontaminace je pracovní suspenze podrobena desítkovému ředění. Z každé pracovní suspenze byly inokulovány plotny se selektivními a neselektivním živným médiem (0,2 ml) a rovnoměrně rozetřeny sterilní očkovací kličkou. Odečty se provádí vždy podle indikátorového mikroorganismu po 24 h, 48 h, 72 h a 7 dnech. Počítají se všechny charakteristické vyrostlé kolonie. Vyhodnocení se provádí pouze z ploten, které poskytují hodnotitelný výsledek.

Počítají se všechny charakteristické vyrostlé kolonie. Vyhodnocení se provádí pouze z ploten, kde nevyrostlo víc jak 150 KTJ a které poskytují hodnotitelný výsledek.

Data jsou zpracována v operačním systému Windows 7 a v aplikacích Word a Excel, verze 2016 – licence SZÚ Praha.

4 ZAJIŠTĚNÍ KVALITY MĚŘENÍ

Laboratoř SZÚ je od března 2009 akreditována ČIA jako Zkušební laboratoř akreditovaná ČIA pod číslem 1206.

Použité postupy jsou součástí interního systému jakosti, metodiky jsou součástí interních standardních operačních postupů (SOP). Použité metody jsou akreditovány.

SZÚ Praha podle § 86 odst. 2 zákona č. 471/2005 Sb. O ochraně zdraví může provádět činnosti, pro které tento zákon jinak stanoví podmínku autorizace nebo akreditace.

5 DISKUSE A VÝSLEDKY

Zjištěné výsledky jsou uvedeny v protokole 2.3/20/94 a v tabulkách č. 3, 4, 5, 6 a 7. Na žádné z ploten nenarostlo více než 150 KTJ, ani nedocházelo ke splývavému růstu, žádná z ploten tedy nebyla z hodnocení vyloučena. Vzhledem k nízkým počtům vyrostlých kolonií na plotnách (0 – 13 KTJ) byl pro výpočet použit odhad nízkých počtů.

Z dat uvedených v následujících tabulkách je patrné, že u všech kontrolních mikroorganismů došlo k poklesu počtu o minimálně 6 řádů. V případě bakterií *E. coli* a *Enterococcus faecium* je požadována redukce počtů KTJ oproti vnesené suspenzi o ≥ 6 řádů. V obou případech došlo k úplné redukci (k redukci o 8 řádů). U sporulujících bakterií *Bacillus* spp. je požadována redukce počtu KTJ oproti vnesené suspenzi ≥ 4 řády, což je splněno, redukce sporulující bakterie *Bacillus cereus* dosahuje ≥ 6 řádů. V případě kvasinek a plísní je požadována redukce počtů o ≥ 6 řádů, což je v obou případech splněno (*A. niger* redukce o 8 řádů, *S. cerevisiae* redukce o 6 řádů).

Pro posouzení úrovně dekontaminace se vždy používá nejodolnější z kontrolních mikroorganismů, což je např. sporulující bakterie rodu *Bacillus*, zde *Bacillus cereus*.

Jak plyne z uvedených výsledků, sada Vapor vakuum za dodržení výrobcem dodaného návodu k použití a za podmínek měření, splňuje podmínky pro požadovanou účinnost dekontaminace. Úroveň III je inaktivace vegetativních forem bakterií, hub,

lipofilníchúhydrofilních virů, parazitů a mykobakterií vyjádřená jako 6 log₁₀ redukce nebo větší a inaktivace spor *Bacillus stearothermophilus* nebo *Bacillus subtilis* vyjádřená jako 4 log₁₀ redukce nebo větší.

Tabulka 3: Redukce počtů bakterií *E. coli* (v KTJ)

Redukce počtů <i>E. coli</i>							
medián vstupu	log mediánu vstupu	medián výstupu	log mediánu výstupu	log redukce	redukce	Hodnocení*	
4,1.10 ⁸	8,61	1	0	8,61	4,1.10 ⁸	> 6 řádů	vyhovuje

* Hodnocení úrovně účinnosti dekontaminace III dle STAATT (1994)

Tabulka 4: Redukce počtu enterokoky (v KTJ)

Redukce počtů <i>enterokoků</i>							
medián vstupu	log mediánu vstupu	medián výstupu	log mediánu výstupu	log redukce	redukce	Hodnocení*	
4,5.10 ⁸	8,65	1	0	8,65	4,5.10 ⁸	> 6 řádů	vyhovuje

* Hodnocení úrovně účinnosti dekontaminace III dle STAATT (1994)

Tabulka 5: Redukce počtů bakterií *Bacillus cereus* (v KTJ)

Redukce počtů <i>Bacillus cereus</i>							
medián vstupu	log mediánu vstupu	medián výstupu	log mediánu výstupu	log redukce	redukce	Hodnocení*	
3,3.10 ⁸	8,51	1,75.10 ²	2,24	6,27	1,9.10 ⁶	> 6 řádů	vyhovuje

* Hodnocení úrovně účinnosti dekontaminace III dle STAATT (1994)

Tabulka 6: Redukce počtů plísní *Aspergillus niger* (v KTJ)

Redukce počtů <i>Aspergillus niger</i>							
medián vstupu	log mediánu vstupu	medián výstupu	log mediánu výstupu	log redukce	redukce	Hodnocení*	
1,4.10 ⁸	8,15	1	0	8,15	1,4.10 ⁸	> 6 řádů	vyhovuje

* Hodnocení úrovně účinnosti dekontaminace III dle STAATT (1994)

Tabulka 7: Redukce počtů kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* (v KTJ)

Redukce počtů <i>Saccharomyces cerevisiae</i>							
---	--	--	--	--	--	--	--

medián vstupu	log mediánu vstupu	medián výstupu	log mediánu výstupu	log redukce	redukce	Hodnocení*	
$1,6 \cdot 10^8$	8,21	$1,25 \cdot 10^2$	2,10	6,11	$1,29 \cdot 10^6$	> 6 řádů	vyhovuje

* Hodnocení úrovně účinnosti dekontaminace III dle STAATT (1994)

6 ZÁVĚR

Cílem práce byla validace účinnosti dekontaminace čisticí sady **Tequendama Doubleje a PSDS/10 MIL** pro dekontaminaci odpadových nádob.

Tato zpráva se netýká ověření a nenahrazuje posouzení sady z hlediska funkčnosti a posouzení shody, netýká se a nenahrazuje ani posouzení samotného dezinfekčního prostředku. Tato zpráva hodnotí technologický postup čištění a dekontaminace z hlediska účinnosti dekontaminace a snížení počtů mikrobiologické kontaminace na požadovanou úroveň účinnosti dekontaminace III podle klasifikace STAATT. Validace účinnosti technologie dekontaminace odpadů (v tomto případě nádoby pro sběr komunálního odpadu) pro úroveň III je prokázána, jestliže dochází k inaktivaci indikátorových mikroorganismů, které reprezentují vegetativní bakterie, houby, parazity, lipofilní/hydrofilní viry, mykobakterie a bakteriální spory a je-li redukce počtů indikátorových mikroorganismů o šest řádů ($6 \log_{10}$).

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že technologie čištění použitou čisticí sadou **Tequendama Doubleje a PSDS/10 MIL** vyhověla za daných podmínek měření požadavkům daných pro účinnost dekontaminace odpadních nádob pro testované indikátorové organismy.

Použitá literatura:

AHEM 1/2008 (2009): Metodický návod pro stanovení indikátorových organismů v bioodpadech, upravených bioodpadech, kalech z čistíren odpadních vod, digestátech, substrátech, kompostech, pomocných růstových prostředích a podobných matricích, Státní zdravotní ústav v Praze, ISSN 1804-9613.

ČSN ISO 21527-1 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísní – část 1

ČSN ISO 18593: Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchů pomocí kontaktních ploten a stěrů

ČSN EN ISO 8199: Jakost vod - Obecný návod pro stanovení mikroorganismů kultivačními metodami

STAATT (1994): Technical Assistance Manual: State Regulatory Oversight of Medical Waste Treatment Technologies. (State and Territorial Association on Alternative Treatment Technologies, April 1994; www.epa.gov/epaoswer/other/medical/index.htm).

SZÚ (2009): Návrh metodického doporučení pro hodnocení účinnosti dekontaminace odpadů ze zdravotnictví, SP-2f3/227/07 „Hodnocení a minimalizace negativních vlivů na zdraví a životní prostředí při nakládání s odpady ze zdravotnických zařízení, Příloha č. 5 Z