

ST EDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ INNOST

Výzkum rezistence vybraných bakteriálních kmen
na Incidur

Lukáš Slatinský

Vale 2013

ST EDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ INNOST

Obor SO : 06. Zdravotnictví

Výzkum rezistence vybraných bakteriálních kmenů na Incidur

Research of resistance of selected bacterial strains to Incidur

Autor: Lukáš Slatinský

Škola: Gymnázium Třebí

Masarykovo nám. 9/116

Třebí 674 01

Konzultant: Mgr. Zdena Svítlová

MVDr. Lenka Jourová

MUDr. Věra Melicherčíková, CSc.

Vale 2013

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci vypracoval samostatně, použil jsem pouze podklady (literaturu, SW atd.) uvedené v příloženém seznamu a postup při zpracování a dalším nakládání s prací je v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.

V dne podpis:

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval Mgr. Zdeně Svítlové za vedení práce, MUDr. Lence Jourové za odbornou pomoc a dozor při práci v laboratoři, MUDr. Věře Melicheríkové, CSc. za odbornou konzultaci metodiky a v neposlední řadě Mgr. Haně Laštůvkové za stylistické úpravy a jazykové korektury. Všem výše zmíněným bych také rád poděkoval za jejich trpělivost a čas, který mi vnovaly, aby mohla vzniknout tato práce. Dále bych chtěl vyjádřit poděkování společnosti UniLAB, s.r.o. za poskytnutí prostor jejich mikrobiologické laboratoře a za materiál potřebný k uskutečnění pokusů.

Anotace

Práce vychází z předpokladu, že mikrob, na kterého působil dezinfekční prostředek, byl vystaven selektivnímu tlaku a vytvořil si vůči dezinfektantu rezistenci. Je tedy odolnější než mikrob, který tomuto selektivnímu tlaku vystaven nebyl.

Cílem je pomocí sterilizovaných prostředí, ve kterém se denně pohybuje mnoho lidí, izolovat bakterie, které byly a které nebyly vystaveny selektivnímu tlaku, a pomocí standardní kvalitativní suspenzní metody zjistit, jestli platí předpoklad, že dříve dezinfikované bakterie jsou vůči dezinfekci odolnější než dříve nedezinfikované. Pokud se předpoklad potvrdí, může být velice obtížné testované bakterie zničit. Tyto pak mohou způsobovat závažné nozokomiální infekce.

Klíčová slova: Dezinfekce; rezistentní bakterie; standardní kvalitativní suspenzní metoda; Incidur

Annotation

The treatise is based on the assumption that microbe on which was used disinfectant was exposed to selection pressure and became resistant to the disinfectant. So the microbe is more resistant than the microbe which was not exposed to the selection pressure.

The target is to isolate bacteria which were exposed to selection pressure and which were not by smears from surroundings in which there are daily many people and by the standard qualitative suspension test to ascertain if the assumption is true. The assumption is that the disinfected bacteria earlier are more resistant to disinfection than the others. If the assumption is true, it may be very hard to destroy the tested bacteria. These can cause serious nosocomial infections.

Key words: Disinfection; resistant bacteria; standard qualitative suspension test; Incidur

Obsah

0. Úvod	9
1. Teoretická část	11
1.1. Dezinfekce	11
1.2. Laboratorní metody.....	12
1.2.1. Kultivační metody.....	12
1.2.1.1. Masopeptonový bujón.....	12
1.2.1.2. Masopeptonový agar.....	13
1.2.1.3. Masopeptonový krevní agar.....	14
1.2.2. Odborné metody.....	15
1.2.2.1. Otisková metoda	15
1.2.2.2. Stěrková metoda	15
1.2.3. McFarlandova zákalová stupnice.....	16
1.2.4. Účinnost dezinfekčního prostředku	18
1.2.5. Expozice.....	19
1.2.6. Suspenzní metody pro stanovení účinnosti dezinfekčních látek	19
1.2.6.1. Kvalitativní suspenzní metoda.....	20
1.2.6.1.1. Standardní suspenzní metoda.....	20
1.2.6.1.2. Suspenzní mikrometoda.....	21
1.2.6.2. Kvantitativní suspenzní metoda.....	22
2. Praktická část	24
2.1. Odběr vzorků a jejich kultivace	24
2.1.1. Místa s předpokládaným výskytem určitých bakterií.....	29
2.1.1.1. Automaty na teplé nápoje na poliklinice v Třebíči.....	30
2.1.1.1.1. Automat v lékárně – ovládací prvky.....	31
2.1.1.1.2. Automat v lékárně – schránka na vrácené mince	33
2.1.1.1.3. Automat u trafiky – ovládací prvky	34
2.1.1.2. Automat na teplé nápoje na Gymnáziu Třebíči	35
2.1.1.2.1. Automat na gymnáziu – ovládací prvky	36
2.1.1.2.2. Automat na gymnáziu – schránka na vrácené mince.....	37
2.1.1.3. Počítačové klávesnice v bakteriologické laboratoři na poliklinice v Třebíči ...	38

2.1.1.3.1. Pořádková klávesnice levého pořádku	38
2.1.1.3.2. Pořádková klávesnice pravého pořádku	39
2.1.2. Místnost s předpokládaným výskytem dezinfikovaných bakterií.....	40
2.1.2.1. Umyvadlové výpusti na poliklinice v Třebíči.....	41
2.1.2.1.1. Umyvadlová výpusť pánských toalet v prvním patře polikliniky v Třebíči..	41
2.1.2.1.2. Umyvadlová výpusť dámských toalet v prvním patře polikliniky v Třebíči.	42
2.1.2.1.3. Umyvadlová výpusť v bakteriologické laboratoři na poliklinice v Třebíči...	42
2.1.2.2. Kliky vstupních dveří pánských toalet na poliklinice v Třebíči	43
2.1.2.2.1. Kliky vstupních dveří pánské toalety v přízemí na poliklinice v Třebíči	43
2.1.2.2.2. Kliky vstupních dveří pánské toalety v prvním patře na poliklinice v Třebíči	45
2.1.2.3. Kliky vstupních dveří dámských toalet na poliklinice v Třebíči.....	46
2.1.2.3.1. Kliky vstupních dveří dámské toalety v přízemí na poliklinice v Třebíči.....	46
2.1.2.3.2. Kliky vstupních dveří dámské toalety v prvním patře na poliklinice v Třebíči	47
2.1.3. Mikrobi získaní z prostředí Nemocnice Třebíče a k nim patří oddělených pacientů	48
2.2. Testování vybraných mikrobů	49
2.2.1. Staphylococcus epidermidis	55
2.2.2. Micrococcus luteus	58
2.2.3. Pseudomonas aeruginosa	61
2.2.4. Klebsiella pneumoniae.....	64
3. Závěr	67
4. Zdroje.....	70
5. Přílohy.....	75
Příloha 1	76
Příloha 2	85

0. Úvod

Lidstvo je na každém kroku obklopeno miliardami různých mikroorganismů. Jedni z nich jsou i bakterie. Některé z nich jsou neškodné, a jsou dokonce s člověkem v symbiotickém vztahu (takovým příkladem může být například *Escherichia coli*). Jiné mohou kolonizují bez jakýchkoliv vedlejších efektů, ale při přemnožení mohou svého hostitele ohrozit na zdraví i život. Takovéto přemnožení je nebezpečné pro lidi s oslabenou imunitou, například po úrazech, operacích a popáleninách, zvláště pak pro novorozence a staré lidi. Nejnebezpečnějším místem, kde se vyskytuje velké množství bakterií a lidé s oslabenou imunitou, je nemocnice. Proto se lidstvo snaží nemocniční mikroorganismy z prostředí odstranit, a to nejjednoduššími a nejlevnějšími metodami. Tomu odpovídají dezinfekční prostředky, které však skrývají, stejně jako antibiotika, obrovské nebezpečí. To spočívá ve špatném používání těchto přípravků. Mezi nejzávažnější pochybení patří špatné vedení prostředí, nedostatečná expozice a chybná aplikace na dezinfikovaný povrch. Tím mikrobi získávají v přítomnosti dezinfektantů odolnost a spolu s vybudovanou rezistencí na antibiotika se jedná o skutečnou biologickou hrozbu, nebo odstranění takového „supermikroba“ z prostředí nemocnice je velice obtížné, nákladné a v mnoha případech, kvůli rozloze prostoru, prakticky nemožné.

Tato práce vychází z předpokladu, že mikrob, na kterého působí dezinfekční prostředek, je vystaven selektivnímu tlaku, a pokud přežívá, vytváří si v rámci této přípravky rezistenci. Naproti tomu mikrob, který nebyl vystaven působení dezinfekce, si tuto rezistenci nevytváří.

Ve své práci si kladu za cíl otestovat některé kmeny bakterií, které byly vystaveny působení dezinfekce, jestli vykazují větší rezistenci než ty kmeny, které dezinfekčnímu procesu vystaveny nebyly. Všechny testované kmeny byly izolovány z prostředí a nebyly uměle navyknuty na dezinfektanty. Nanejvýš prošly pouze standardním dezinfekčním procesem ve zdravotnických zařízeních.

Téma jsem si vybral kvůli svému budoucímu zaměření. Chtěl bych studovat na Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Původní nápad pro tuto práci byl výzkum rezistence bakterií vůči antibiotikům, kde bych používal tzv.

e-testy¹. Bohužel tyto jsou velmi drahé a v praktické bioanalytice se používají jen zřídka. Po diskuzi s MVDr. Lenkou Jourovou jsme se dohodli na tomto tématu, které není tak finančně náročné, a celkovou formu a metodiku jsem dopravitel po konzultaci se SZÚ.

¹ epsilon test – diagnostický proužek, kde se logaritmicky snižuje koncentrace léčiva

1. Teoretická část

1.1. Dezinfekce

„Základní odstranění, ničení choroboplodných zárodků fyzikálními nebo chemickými prostředky.“ [8: 116]

Zničení patogenních zárodků v prostředí nebo na předmětech. Po dezinfekci mohou v prostředí zůstat neškodní mikroby². Tím se dezinfekce liší od sterilizace³.

Dezinfekcí prostředí nejčastěji přímě poškozují strukturu mikroorganismů nebo naruší jejich metabolické procesy. Rozlišují se látky bakteriocidní a bakteriostatické. Bakteriocidní látky přímě mikroby usmrcují, kdežto bakteriostatické pouze brání jejich množení.

Druhy dezinfekce:

- a) Dezinfekce fyzikálními prostředky (teplo, záření, filtrace)
- b) Dezinfekce chemickými prostředky (louhy, kyseliny...)

Požadavky na dezinfekci prostředí:

- a) Dezinfekcí přípravků nebo dezinfektantů nesmí být dezinfikovaný předmět.
- b) Krátká expozice⁴.
- c) Snadná aplikace.
- d) Široké spektrum účinnosti (může byt účinná na všechny druhy mikroorganismů), která by neměla být ovlivována přítomností bílkovin, teplem nebo přítomností mikroorganismů.
- e) Usmrcení co nejvíce poškozených mikroorganismů. Účinnost musí být 100 %, nebo se této hodnotě co nejvíce blížit.

² mikroorganismus, například bakterie, prvok apod.

³ usmrcení všech mikroorganismů, jak patogenních, tak nepatogenních

⁴ doba působení

- f) Netoxicita pro lidi a zvířata.
- g) Stálost při působení v různých podmínkách (teplo, pH...)

1.2. Laboratorní metody

1.2.1. Kultivační média

Existuje mnoho druhů médií, na kterých se bakterie kultivují. Liší se složením, vlastnostmi a velice často i barvami. Zde uvedené média jsou ty nejzákladnější a nejčastěji používanější.

1.2.1.1. Masopeptonový bujón

Neboli živný bujón. Tekutá nažloutlá média. Slouží ke kultivaci bakterií. Složení:

Pepton ⁵	10,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Masový vývar	1 000,0 ml
pH	7,2 ± 0,1

Tabulka 1: Složení živného bujónu. Zdroj: AHEM 7/1992.

⁵ štěpný produkt bílkovin, obsahuje peptidy a aminokyseliny



Obrázek . 1: Živný bujón.

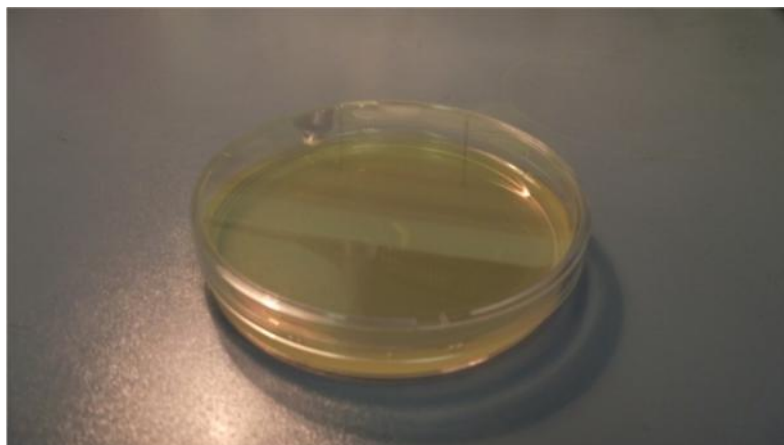
1.2.1.2. Masopeptonový agar

Neboli také živný agar. írá, mírně zakalená želatinová pevná p da. Slouží ke kultivaci a stanovení po tu bakterií. Složení:

Agar ⁶	20,0 g
Masopeptonový bujón	1 000,0 ml
pH	7,2 ± 0,1

Tab. 2: Složení živného agaru. Zdroj: AHEM 7/1992.

⁶ polysacharid získávaný z mořských řas, za tepla je tekutý, po vychladnutí má rosolovitou strukturu, do pevné se přeměňuje kvůli jejich zpevnění



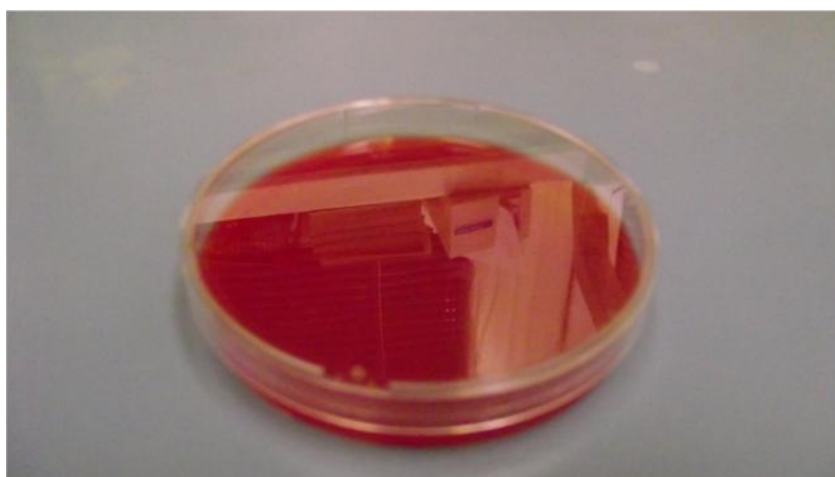
Obr. 2: Živný agar.

1.2.1.3. Masopeptonový krevní agar

červená želatinová pevná pasta. Slouží ke kultivaci a diagnostice bakterií. Složení:

Masopeptonový agar	1 000,0 ml
Defibrinovaná ⁷ beraní krev	70,0 ml

Tab. 3: Složení krevního agaru. Zdroj: AHEM 7/1992.



Obr. 3: Krevní agar.

⁷ zbavená fibrinu, tudíž se nemůže vytvořit krevní kolá

1.2.2. Odb rové metody

Odb rových metod existuje velké množství. Zde uvedené jsou jednoduché a vhodné pro rychlý a účinný sběr mikrobů.

1.2.2.1. Otisková metoda

„Jedná se o přímý otisk pomocí plochy na živnou půdu nebo nepřímý otisk zvlhčeným sterilním filtračním papírem. Ten se po otisku přenesou na kultivační půdu.“
[2: 7]

1.2.2.2. Sterilní metoda

Nejjednodušší odb rová metoda. Sterilní se provádí sterilním vatovým tamponem zvlhčeným fyziologickým roztokem. Výhodou tamponu je, že se dostane i do velice úzkých míst a manipulace s ním je jednoduchá. Nejvhodnější pro sterilní je výt rová sada obsahující sterilní vatový tampon a odb rovou zkumavku s transportní půdou. Po sterilní se tampon umístí do přiložené zkumavky. Tam může mikrob díky přímému přechodu přežít i několik dní, než bude vykořeněn na pevnou půdu.



Obr. 4: Výt rová sada.

1.2.3. McFarlandova zákalová stupnice

Udává přibližný počet CFU/ml, neboli počet jedinců v 1 ml bakteriální suspenze schopných tvořit kolonie, v bakteriové suspenzi. Zákal bakteriální suspenze se určuje buď starší metodou, vizuálním srovnáváním, nebo novější a rychlejší metodou, měřením pomocí denzitometru (obr. 5).

Při přípravě bakteriové suspenze se bakterie rozmíchají ve fyziologickém roztoku, což je sterilní 0,9% roztok chloridu sodného (NaCl). Suspenze musí být homogenní, nesmí obsahovat shluky nebo „chuchvalce“ bakterií. Ty se případně rozmění klíčkou, lépe však sterilním vatovým tamponem.

V případě vizuálního srovnávání se připraví suspenze smícháním roztoku chloridu barnatého (BaCl_2) a kyseliny sírové (H_2SO_4). Vznikne nerozpustná sraženina síranu barnatého (BaSO_4). Roztoky se míchají v určitém poměru, podle toho, jakého stupně McFarlandovy stupnice chceme dosáhnout. Následně pohledem srovnáváme zákal síranu barnatého s bakteriovou suspenzí. Závislost na poměru roztoků, stupni McFarlandovy stupnice a přibližném počtu mikrobu ukazuje tabulka:

	íslo stupn										
	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1,175% roztok BaCl ₂ (ml)	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
1% roztok H ₂ SO ₄ (ml)	9,95	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9
P íbližný po et bakterií (x10 ⁸ /ml)	1,5	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

Tab. 4: McFarlandova zákalová stupnice. Zdroj: www.microbiol.org.

P í m ení pomocí denzitometru se použije ístá nepoškrábaná zkumavka. Provede se alespo dvakrát kontrolní m ení sterilního fyziologického roztoku. Pokaždé musí vyjít 0 McF (McFarland). P í p imíchávání edidla nebo bakterií se zkumavka vždy vytáhne.



Obr. 5: Denzitometr.

1.2.4. ed ní dezinfek ního prost edku

edí se dle návodu výrobce. Pokud se testuje neznámý prost edek, provede se p edpokus v ed ních mezi 10^{-1} až 10^{-5} (1:10 až 1:100 000) a dle výsledk se vyberou vhodné koncentrace. Pom r ed ní je uvád n v procentech, gramech na liter (g/l) i mililitrech na liter (ml/l). P i posledních dvou zmín ných je nutné edit dle zn ní objemového procenta: Objem v procentech udává, kolik látky v mililitrech (v p ípad g/l v gramech) je rozpušt no v 1000 mililitrech roztoku.

Nap . pokud výrobce uvádí ed ní p ípravku 15 ml/l, edíme 15 ml p ípravku s 985 ml vody.

edí-li se dezinfektant sterilní destilovanou vodou, hovo í se v tomto p ípad o tzv. práci bez zát že. Jeho ú innost však ovliv uje p ítomnost organických látek v roztoku, a tak se prost edek testuje i ed ním 20% vodným roztokem krevního séra⁸. V tomto p ípad se jedná o tzv. práci se zát ží.

P ípravek by m l mít rezervu v ú innosti. Tzn., že p i práci bez zát že by m l ú inkovat ješt v 10x nižší koncentraci, než uvádí výrobce, nebo v praxi není známo skute né zatížení organickými a anorganickými látkami. V p ípad práce se zát ží tato rezerva vycházet nemusí, protože dezinfektant pracuje již v zatíženém prost edí. Pokud rezerva nevychází ani u bezzát žových test , je prost edek ú inný dle výsledk u vyšších ed ní, ale v zatíženém prost edí jeho ú innost klesá.

Pro testování se použijí minimáln ty i ed ní:

1. ed ní uvád né výrobcem.
2. ed ní vyšší, než uvádí výrobce (p edpoklad, že je ú inné).
3. ed ní nižší, než uvádí výrobce (p edpoklad, že je neú inné).
4. ed ní 10x nižší, než uvádí výrobce (rezerva v ú innosti).

⁸ nažloutlá tekutina, nebun ná složka krve, vzniká po sražení krve a následném odstran ní krevního kolá e

1.2.5. Expozice

Neboli doba působení. Je to čas, po který dezinfekce působí na mikroby. Měla by být co nejkratší. Účinnou expozici dezinfektantu uvádí jeho výrobce. Když ji známe, při testování se jí postupujeme tak, abychom použili hodnoty, které se co nejvíce blíží hodnotám evropské normy (1, 2, 4, 8, 16 atd. min.), ale které nejsou příliš daleko od hodnoty doporučené. Je zbytečné nechávat působit dezinfekci 64 min., když má účinnou expozici 2 min. A naopak u prostředku s expozicí 64 min. sledovat jeho působení již po 2 min.

Pokud účinnou expozici neznáme, provedeme předpokus. U kvalitativní suspenzní metody se v předpokusu používá čas 1, 2, 4 atd. min., u kvantitativní suspenzní metody 1, 10, 20 a 30 min. Pak zvolíme vhodné časy.

1.2.6. Suspenzní metody pro stanovení účinnosti dezinfekčních látek

Zde popsané metody jsou základní a jednoduché. V Evropě jsou prvním a druhým stupněm při testování nových dezinfekčních prostředků. V první fázi se používají pouze pro zjištění účinnosti daného prostředku. Podmínky při testování se v této fázi standardizují a dále se odlišují od těch skutečných. Druhá fáze je rozdělena na dva kroky. Při prvním se znovu používají suspenzní metody, ale tentokrát se podmínky co nejvíce postupují praxi. Ve druhém kroku se testuje praktické využití (např. dezinfekce rukou, různých povrchů apod.). V závěrečné fázi se prostředek testuje v terénu.

1.2.6.1. Kvalitativní suspenzní metoda

Nelze p i ní stanovit počet p eživších mikroorganism . Je možno pouze stanovit, jestli mikrobi po p sobení testované látky rostou a množí se.

1.2.6.1.1. Standardní suspenzní metoda

„Technicky nejjednodušší metoda, která umož ũje jednak ur ení nejkratší ũinné expozice p i ur ité koncentraci, jednak ur ení nejnižší ũinné koncentrace p i standardní expozici. Je vhodná pro rychlou kontrolu ũinnosti dezinfek ních prost edk i pro srovnávání ũinnosti r zných p ípravk .“ [1: 14]

Není náro ná ani na pom cky a lze provést v jakékoliv mikrobiologické, hygienické nebo epidemiologické laborato i.

Postup:

Pokud známe ũinnou koncentraci a expozici (od výrobce):

1. Zkoušený dezinfek ní prost edek se na edí na požadovanou koncentraci. Objem se zvolí dle p edpokládané spot eby.
2. P ípraví se bakteriální suspenze o denzit 5 McF. Objem se op t zvolí dle p edpokládané spot eby.
3. Nachystají se zkumavky s 5 ml bujonu. Co expozice a koncentrace, to jedna zkumavka.
4. Do Petriho misek se nalije 9,9 ml dezinfek ního prost edku a k n mu se p idá 0,1 ml bakteriální suspenze. Vše se d kladn promíchá.
5. Po expozici se kli kou o pr m ru 4 mm (objem 10 μ l) mikrob inokuluje do zkumavek s bujonem.
6. Zkumavky se kultivují v inkubátoru podle r stových podmínek mikroba.

7. Hodnotí se zákal, případně sedimentace v bujonu. Pokud je v něm zákal, je dezinfekce neúčinná, pokud je bujon čistý, dezinfekce je účinná.
8. Za účinný se považuje prostředek, u něhož při dané koncentraci a expozici nedošlo k růstu mikroba v minimálně 3x opakovaném pokusu.

Pozn.: Provádí se tzv. kontrolní pokus, kdy se zjistí, jestli je mikroba v bujónu schopný růstu v bujónu a jestli není bujón kontaminován mikroorganismy.

Průběh kontrolního pokusu:

1. Mikroba se ze suspenze ihned inokuluje do bujónu, aniž by byl vystaven působení dezinfekce. Zkumavka se kultivuje v termostatu.
2. Inkubuje se stejný bujón.

Pokud neznáme účinnou koncentraci a expozici:

1. Účinnost se určí předpokusem v edních v rozmezí 10^{-1} až 10^{-5} při použití jednoho standardního mikroba. Postup viz výše uvedené body 1-7.
2. Vyhodnotí se nársty a zvolí se vhodné ední a doby působení. Následně postupujeme jako v případě, kdy známe účinnou koncentraci a expozici.

1.2.6.1.2. Suspenzní mikrometoda

„Modifikovaná standardní suspenzní metoda. Využívá mikroední a kultivace v polystyrenových mikrodestičkách, které obsahují 96 jamek. Do každé jamky se plní 0,1 ml edidla pro zkoušený přípravek nebo 0,1 ml kultivačního media. Na jednu destičku je možné umístit ve vodorovné řadě 4 vzorky, každý ve třech jamkách. Tím se získá trojnásobné opakování v jednom pokusu.“ [2: 105]

Tato metoda je velice rychlá a efektivní. Lze s ní stanovit citlivost vztahu mezi mikroba a dezinfekčním prostředkem.

1.2.6.2. Kvantitativní suspenzní metoda

Jedná se o nezávislejší metodu, než je metoda kvalitativní. Lze z ní však zjistit přesný počet CFU/ml v závislosti na různých proměnných, jako je koncentrace dezinfektantu, teplota a expozice. Pro hodnocení účinnosti se zavedl pojem mikrobicidní efekt (ME). Ten udává řádový pokles počtu CFU/ml. Pro výpočet se používá vzorec:

$$ME = \log \frac{N_0}{N_d} = \log N_0 - \log N_d$$

Kde N_0 je počet CFU/ml v kontrolním pokusu (mikrob se zpočátku ní suspenze inokuluje přímo do bujony) a N_d je počet CFU/ml po vystavení mikroba dezinfekci. Dezinfekční prostředek je účinný, pokud je pokles počtu CFU/ml alespoň o 5 řádů ($ME = 5$), tj. o 99,999 %. (Pokud $ME = 1$ je pokles o 90 %, pro $ME = 2$ je 99 %.)

Postup:

Pokud známe účinnou koncentraci a expozici (od výrobce):

1. Prostředek se naředí do požadované koncentrace. Objem se zvolí dle předpokládané spotřeby.
2. Připraví se bakteriová suspenze o denzitě 5 McF. Objem se opět zvolí dle předpokládané spotřeby.
3. Pro každou expozici a koncentraci se nachystá 5 zkumavek. V první z nich je 4,5 ml neutralizátoru, v následujících čtyřech 4,5 ml bujony nebo 1% peptonové vody (roztok peptonu v destilované vodě s 0,5 % NaCl). Navíc se pro každou zkumavku připraví 1 nebo 2 agarové plotny.
4. Do Petriho misek se nalije 9,9 ml testovaného přípravku a k nim se přidá 0,1 ml bakteriální suspenze. Vše se důkladně promíchá.
5. Po zvolené expozici se odebere 0,5 ml z roztoku z Petriho misky do zkumavky s neutralizátorem. Tento nový roztok se promíchá a opět se z něj odebere 0,5 ml do zkumavky . 2 (tentokrát s bujonem). Zde se postup opět opakuje, dokud se nedostaneme ke zkumavce . 5.

6. Z každé z pěti zkumavek se pipetuje 0,5 ml na agarové plotny (viz bod 3) a tekutina se nechá rozlít po celé ploše plotny.
7. Otevřené plotny se usuší v termostatu při teplotě 30-35°C. Po usušení se uzavou víčkem a kultivují dle podmínek mikroba.
8. Po inkubaci se spočítají jednotlivé kolonie, které na agaru vyrostly, a vypočítá se počet CFU/ml (Na každou plotnu jsme pipetovali 0,5 ml suspenze, a pokud nám na ní vyrostl počet kolonií z 0,5 ml. Pokud jsme si připravili pouze jednu plotnu na zkumavku, násobíme počet zjištěných kolonií dvěma. Pokud jsme si připravili na každou zkumavku dvě, sečteme hodnoty z obou ploten.).
9. Hodnocení účinnosti dle výše uvedeného vzorce.

Pokud neznáme účinnou koncentraci a expozici:

1. Provede se předpokus s dáními 10^{-1} až 10^{-5} při použití jednoho standardního mikroba. Postup viz výše uvedené body 1-9.
2. Vyhodnotí se nároky a zvolí se vhodné dání a doby působení. Dále postupujeme jako v případě, kdy známe účinnou koncentraci a expozici.

2. Praktická část

Všechny pokusy a laboratorní práce probíhaly v prostředí akreditované zdravotnické laboratoře v objektu polikliniky na ulici Vltavínská 1289 v Třebíči. Laboratoř vlastní společnost UniLAB, s.r.o. Po celou dobu práce prováděla odborný dozor MVDr. Lenka Jourová, která také určila všechny narostlé druhy bakterií.

Předpoklad: Ve zdravotnických zařízeních se vyskytují nemocniční kmeny⁹ bakterií, které jsou vystaveny úniku dezinfekčních prostředků. Jsou tedy vystaveny selektivnímu tlaku a vytvářejí si vůči dezinfektantům rezistenci. Ta vzniká kvůli výskytu velice odolných jedinců, kteří odolávají úniku dezinfekce a dále se množí, nebo kvůli špatnému postupu při dávkování či aplikaci dezinfekčních prostředků.

Cíl: Zjistit, jestli bakterie vystavené dezinfekci (dále jen dezinfikované) jsou vůči ní odolnější než bakterie, které působení dezinfekčních prostředků vystaveny nebyly (dále jen čisté).

Průběh: Sběr mikrobů, jejich selekce, izolace z prvotního stavu a testování na dezinfektant, který se používá ve zdravotnických zařízeních, odkud byly izolovány dezinfikované bakterie.

2.1. Odběr vzorků a jejich kultivace

Sběr mikrobů se prováděl pomocí sterilizovaným tamponem. Cílem bylo získat dva k sobě kompatibilní jedince od stejného druhu, jednoho dezinfikovaného a jednoho čistého. Sterily byly provedeny na poliklinice v Třebíči (Vltavínská 1289, 674 01, Třebíč) a na Gymnáziu Třebíč (Masarykovo nám. 9/116, 674 01, Třebíč). Vzhledem k malému počtu získaných kompatibilních dvojic byly dva nemocniční kmeny získány z Nemocnice Třebíč (Purkyňovo nám. 2, 674 01, Třebíč) a k nim čisté od anonymních

⁹ Bakteriální kmen vyskytující se ve zdravotnickém zařízení. Vyvolává nákazu u hospitalizovaných pacientů s oslabenou imunitou.

dětských pacientů, kde byla předpokládána jejich primoinfekce z komunity, kde mikrob nebyl vystaven významnému dezinfekčnímu procesu jako ve zdravotnickém zařízení.

Větší počet je dle vodem toho, že nebylo známo, kolik bakterií se na jednotlivých místech objeví a pokud se objeví, zdali budou vzájemně kompatibilní.

Střepy byly provedeny pomocí výtřecí sady (obr. 6 a 7).



Obr. 6: Odběr vzorků z automatu na poliklinice v Třebíči.



Obr. 7: Odběr vzorků z odtoku umyvadla na poliklinice v Třebíči.

Vzorek z výt rové zkumavky se pak p enesl na agarovou plotnu.

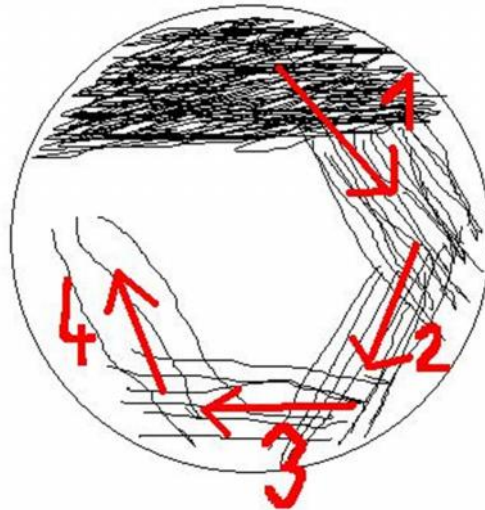
Postup:

- a) Popíše se Petriho miska s krevním agarem (název sb rného místa), na který se bude st r kultivovat (obr. 8).



Obr. 8: Popisování Petriho misky s krevním agarem.

- b) Vatový tampon se vytáhne ze zkumavky a otírá se na agar (obr. 10) tak, aby pot ená plocha zaujímala zhruba 1/3 plochy p dy (obr. 9, nejtmaší zóna).



Obr. 9: O kování na plotnu.



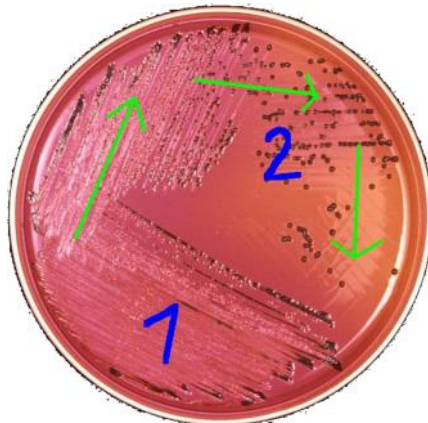
Obr. 10: Inokulace vzorku na plotnu pomocí tamponu.

- c) Poté se tato plocha roz edí bakteriologickou kli kou (obr. 11). Z plochy, odkud se edí, se vede n kolik vodorovných ar (obr. 9, šipka 1). Na ploše inokulované tamponem v tšinou vyroste souvislý povlak r zných druh bakterií a jejich

ur ení je složité. Proto se provádí ed ní, po kterém na agaru vyrostou jednotlivé kolonie (obr. 12, zelené šipky – sm r ed ní, 1 – plocha inokulovaná tamponem, 2 – jednotlivé kolonie).



Obr. 11: Roz e ování vzorku na plotn pomocí kli ky.



Obr. 12: Kultivovaná plotna. Zdroj: www.komonews.com.

- d) Provádí se zhruba další 3 ed ní (obr. 9, šipky 2 – 4). Každé se vede z toho p edchozího a na každé se použije nová kli ka. Použité kli ky se odkládají do nádoby s dezinfek ním prost edkem (obr. 13).



Obr. 13: Použité kličky.

e) Plotna se kultivuje v inkubátoru 24 hodin při teplotě 36 – 37°C.

Celkově bylo provedeno 15 sěr na 14 místech (automat na poliklinice v lékárně byl setřen dvakrát, podruhé kvůli cílenému získání rodu *Micrococcus luteus*, viz níže). Dva kmeny byly získány z Nemocnice Třebí (jednalo se o kmeny nemocniční) a dva od anonymních dětských pacientů.

2.1.1. Místa sěr s předpokládaným výskytem istých bakterií

Jako nejvhodnější místa pro výskyt istých mikrobů se jeví nápojové automaty. Denně je s nimi v kontaktu velké množství lidí (potencionálních nosičů) a nejsou dezinfikovány, tudíž se předpokládalo, že z provedených sěrů naroste velké množství rozmanitých druhů bakterií.

2.1.1.1. Automaty na teplé nápoje na poliklinice v Třebíči

Na poliklinice se nacházejí dva z odborných automatů. První automat na kávu a jiné teplé nápoje se nachází v příměstí na levé straně po vstupu do lékárny. Druhý stojí v příměstí vedle trafiky. Oba jsou hojně využívány a ani jeden není dezinfikován. Stejně tak byly provedeny na ovládacích prvcích (tlačítkách) a u automatu v lékárně i ve schránce na vrácení mince.



Obr. 14: Automat v lékárně.



Obr. 15: Automat u trafiky.

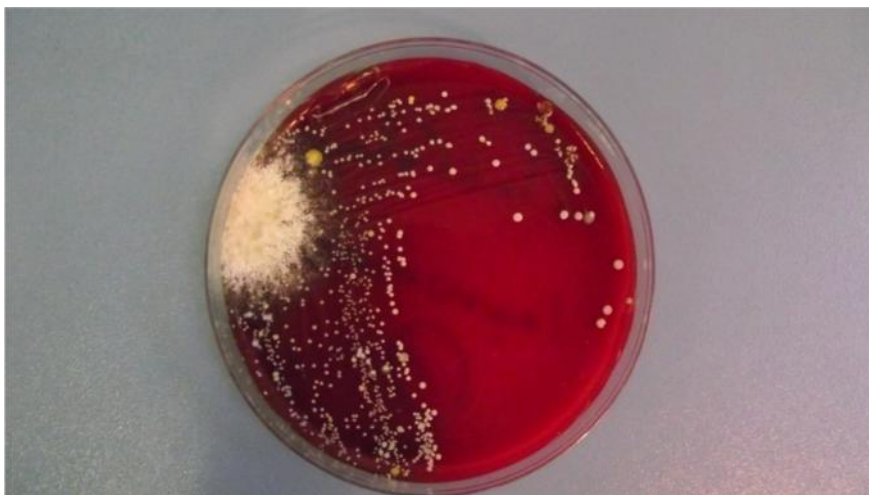


Obr. 16: Kontaminace automatu.

2.1.1.1.1. Automat v lékárně – ovládací prvky



Obr. 17: Ovládací prvky automatu v lékárně .



Obr. 18: Nár st st ru z ovládacích prvku automatu v lékárně .

Nár st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie, vyskytuje se na kůži savců, onemocnění vyvolává jen u osob se sníženou imunitou
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie, vyskytuje se na sliznici nosohltanu a kůži, napadá oslabené pacienty (po popáleninách, složitých chirurgických zákrocích apod.), často se drží na předmětech zaváděných do těla (katetry, umělé klouby...)
- c) plíseň

V lednu 2013 byl proveden ještě jeden test (první proveden v říjnu 2012), který, dle výsledků prvního, vedl k cílenému získání rodu *Micrococcus luteus*.



Obr. 19: Nár st druhého st ru z ovládacích prv k automatu v lékár n .

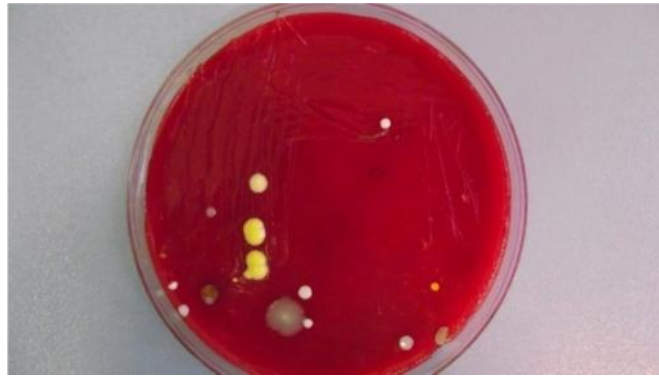
Nár st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) plíse

2.1.1.1.2. Automat v lékár n – schránka na vrácené mince



Obr. 20: Schránka na mince automatu v lékár n .



Obr. 21: Nár st st ru ze schránky na vrácené mince automatu v lékárně .

Nár st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie
- c) *Bacillus sp.* – šedá kolonie s nejasnými okraji

2.1.1.1.3. Automat u trafiky – ovládací prvky



Obr. 22: Ovládací prvky automatu u trafiky.



Obr. 23: Nár st st ru z ovládacích prv k automatu u trafiky.

Nár st: Negativní záchyt mikroorganism .

2.1.1.2. Automat na teplé nápoje na Gymnáziu T ebí

Na Gymnáziu T ebí se nachází celkem t i automaty. Ten, na kterém byly provedeny st ry, se nachází v druhém pat e u výtahové šachty. Vedle n j je automat na chlazené nápoje a potraviny. St ry byly provedeny na ovládacích prvcích a ve schránce na vrácené mince.

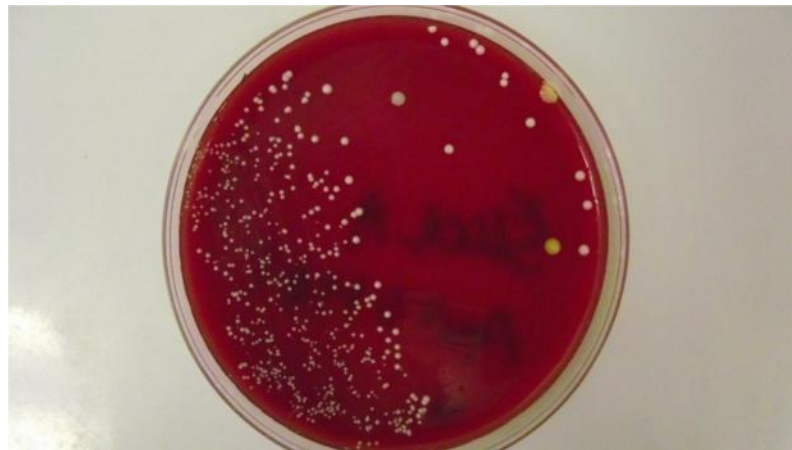


Obr. 24: Automat na teplé nápoje na Gymnáziu T ebí .

2.1.1.2.1. Automat na gymnázium – ovládací prvky



Obr. 25: Ovládací prvky automatu na gymnázium.



Obr. 26: Nárosty na ovládacích prvku automatu na gymnázium.

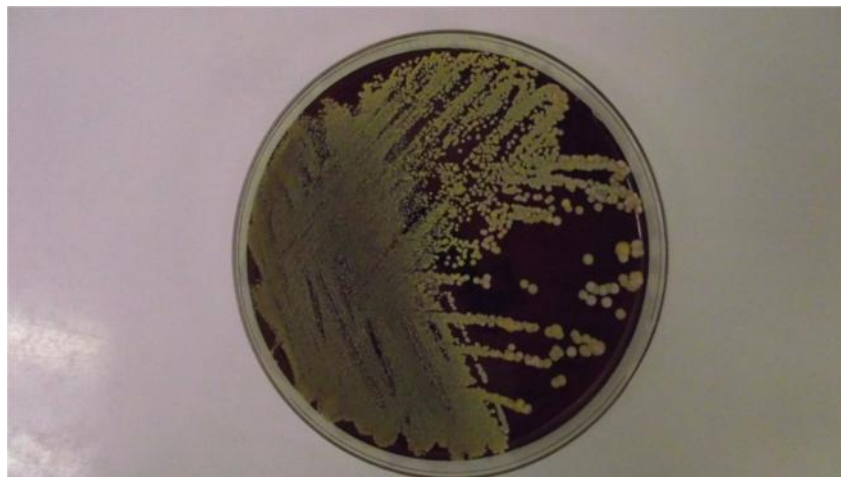
Nárost:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie

2.1.1.2.2. Automat na gymnáziu – schránka na vrácené mince



Obr. 27: Schránka na vrácené mince automatu na gymnáziu.



Obr. 28: Nár st st ru ze schránky na vrácené mince automatu na gymnáziu.

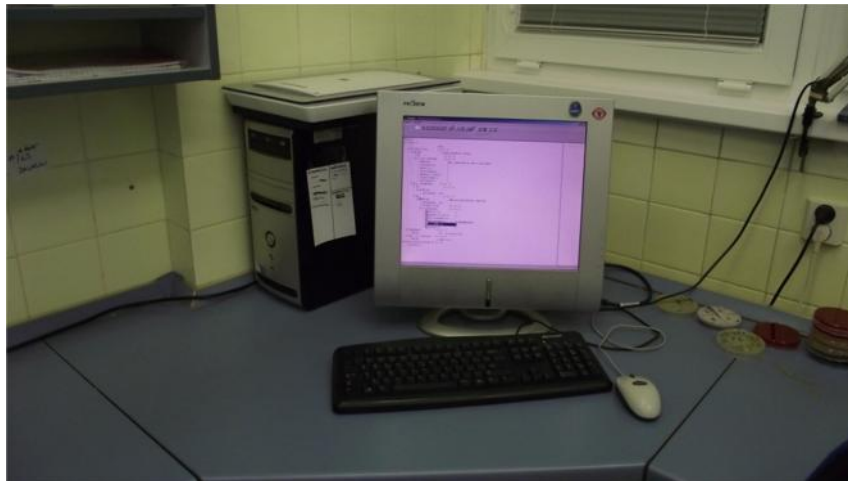
Nár st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie

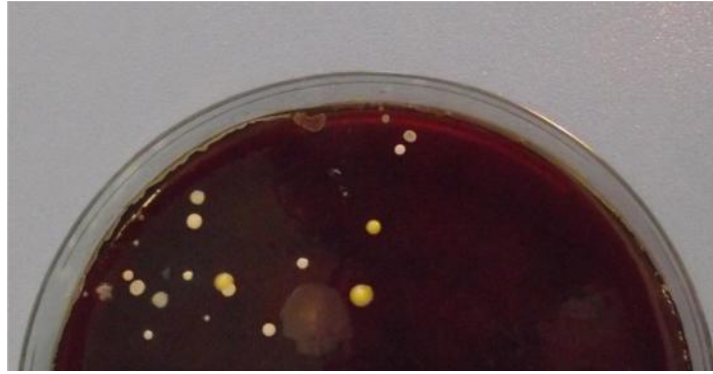
2.1.1.3. Poítačové klávesnice v bakteriologické laboratoři na poliklinice v Třebíči

Seteny byly dvě klávesnice v mikrobiologické laboratoři, v níž byly prováděny všechny pokusy. Obě klávesnice se nacházejí v laboratorní místnosti. Jedna u počítače vlevo, druhá u počítače vpravo.

2.1.1.3.1. Poítačová klávesnice levého počítače



Obr. 29: Levý počítač.

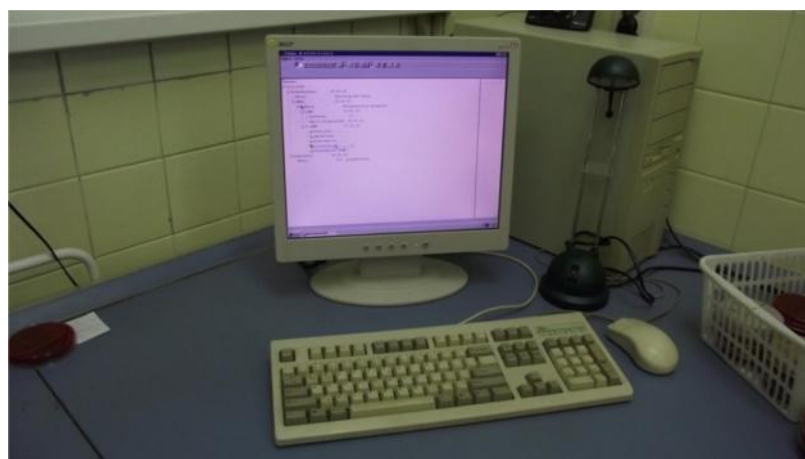


Obr. 30: Nár st z klávesnice levého po íta e.

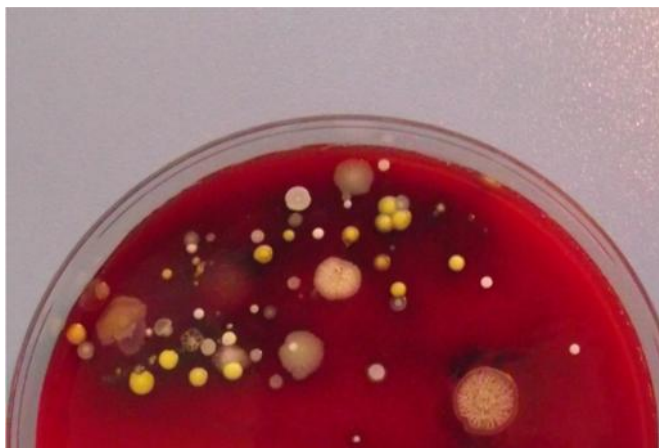
Nár st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie
- c) *Bacillus sp.* – šedá kolonie s nejasnými okraji

2.1.1.3.2. Po íta ová klávesnice pravého po íta e



Obr. 31: Právý po íta .



Obr. 32: Nár st z klávesnice pravého po íta e.

Nár st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie
- c) *Bacillus sp.* – šedé kolonie s nejasnými okraji

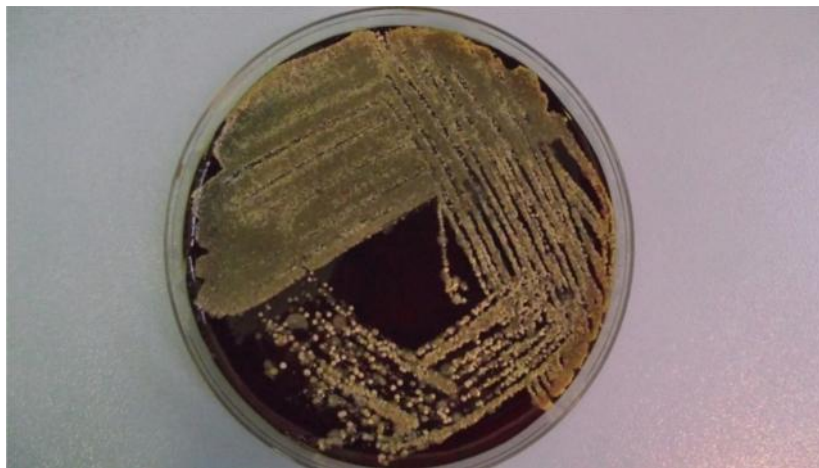
2.1.2. Místa st r s p edpokládaným výskytem dezinfikovaných bakterií

Jako nejvhodn ější byla vytipována místa, s nimiž p ijde pacient ěasto do styku a která jsou pravideln ě dezinfikována. (Nap . kliky na toaletách, zábradlí, umyvadla, apod.)

2.1.2.1. Umyvadlové výpusti na poliklinice v Třebíči

Zde se předpokládá výskyt v těšho množství r zných druh bakterií, které se smyjí proudem vody a ulpí na výpusti. St ry byly provedeny v umyvadlových výpustech pánských a dámských toalet v prvním pat e na poliklinice v Třebíči a v umyvadlové výpusti v bakteriologické laborato i, taktěž na třebí ské poliklinice.

2.1.2.1.1. Umyvadlová výpus pánských toalet v prvním pat e polikliniky v Třebíči

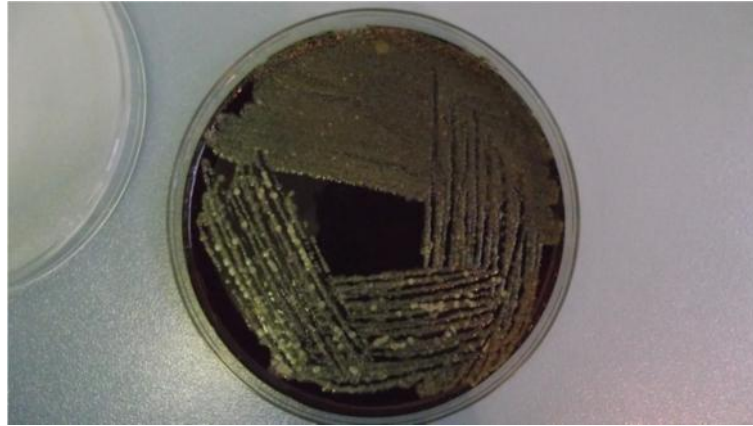


Obr. 33: Nár st st ru z umyvadlové výpust pánských toalet v prvním pat e.

Nár st:

- a) G^+ koky
- b) G^- ty inky
- c) *Proteus sp.*

2.1.2.1.2. Umyvadlová výpus dámských toalet v prvním patře polikliniky v Třebíči



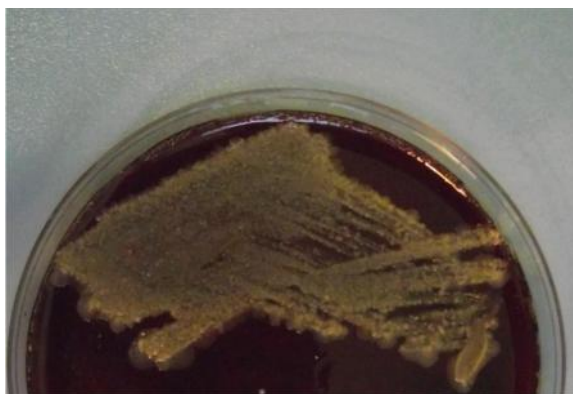
Obr. 34: Nář st st ru z umyvadlové výpus dámských toalet v prvním patře.

Nář st:

- a) G^+ koky
- b) G^- tyinky
- c) *Proteus sp.*

2.1.2.1.3. Umyvadlová výpus v bakteriologické laboratoři na poliklinice v Třebíči

St r byl proveden na výpusi v laboratorní místnosti.



Obr. 35: Nár st st ru umyvadlové výpust bakteriologické laborato e.

Nár st:

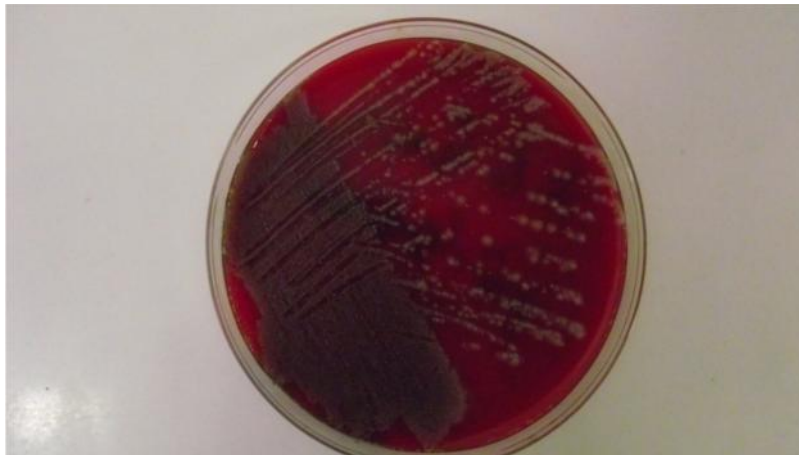
- a) G⁺ koky
- b) G⁻ ty inky
- c) *Proteus sp.*

2.1.2.2. Kliky vstupních dve í pánských toalet na poliklinice v T ebí i

2.1.2.2.1. Klike vstupních dve í pánské toalety v p ízemí na poliklinice v T ebí i



Obr. 36: Dve e toalet v p ízemí.



Obr. 37: Nár st st ru z kliky pánských toalet v p ízemí.

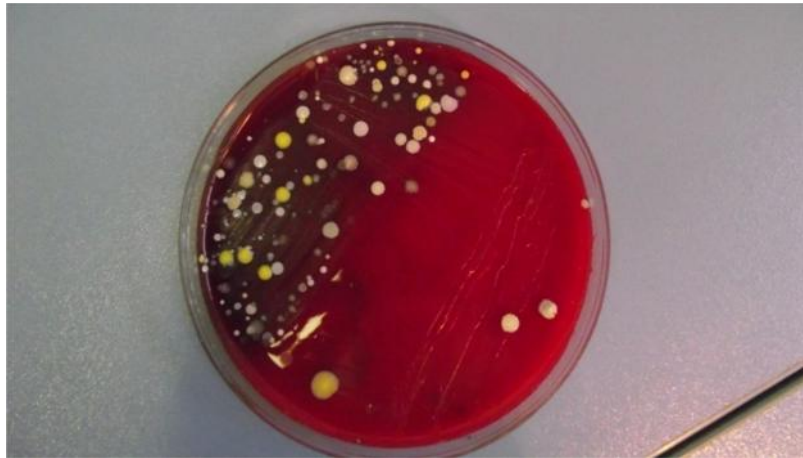
Nár st:

- a) G⁻ ty inky – lesklé kolonie
- b) *Corynebacterium* – suché kolonie, odolné v prost edí

2.1.2.2.2. Klika vstupních dveří pánské toalety v prvním patře na poliklinice v Třebíči



Obr. 38: Dveře toalet v prvním patře.



Obr. 39: Nářez stěrku z kličky pánských toalet v prvním patře.

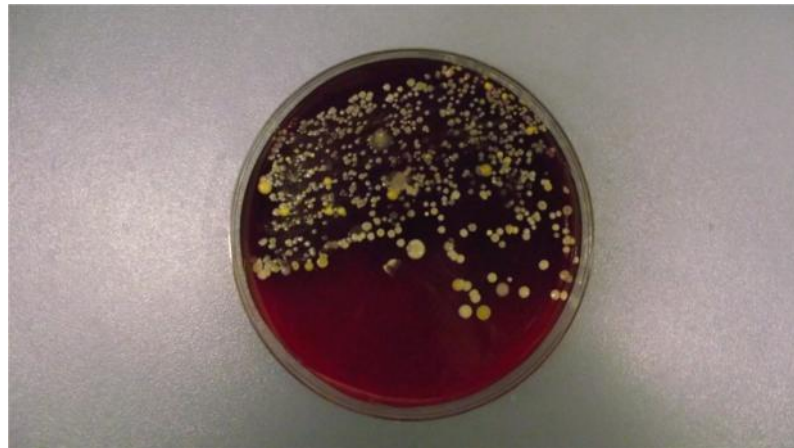
Nářez:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie

2.1.2.3. Kliky vstupních dveří dámských toalet na poliklinice v Třebíči

2.1.2.3.1. Kliky vstupních dveří dámské toalety v přízemí na poliklinice v Třebíči

Obr. viz obr. 36.



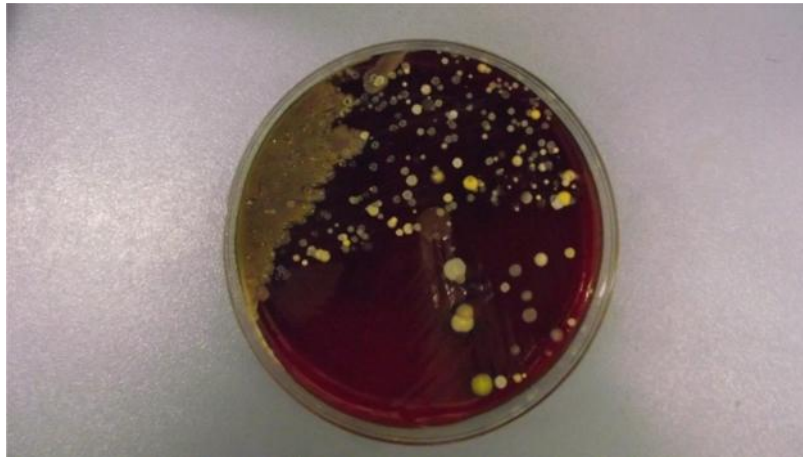
Obr. 40: Nář st st ru z kliky dámských toalet v p ízemí.

Nář st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie
- c) G⁻ ty inky – šedé kolonie

2.1.2.3.2. Kliky vstupních dveří dámské toalety v prvním patře na poliklinice v Třebíči

Obr. viz obr. 38.



Obr. 41: Nář st st ru z kliky dámských toalet v prvním patře.

Nář st:

- a) *Micrococcus luteus* – žluté kulaté kolonie
- b) *Staphylococcus epidermidis* – bílé kulaté kolonie
- c) *Bacillus sp.* – hnědé kolonie s nejasnými okraji
- d) G^- tyinky – šedé kolonie

2.1.3. Mikrobi získaní z prostředí Nemocnice Třebí a k nim istí oddělských pacient

Pseudomonas aeruginosa:



Obr. 42: *Pseudomonas aeruginosa*.

Vyskytuje se v odpadních vodách, v p d , ve stolici domácích zví at i lidí. Onemocn ní vyvolává u jedinc s oslabenou imunitou. Má charakteristickou v ni a na plotn tvo í „zrcátka“.

Klebsiella pneumoniae:



Obr. 43: *Klebsiella pneumoniae*.

G⁻ ty inka. Nachází se ve st evním traktu. Je p vodcem infekcí na novorozeneckých odd leních a jednotkách intenzivní pé e.

2.2. Testování vybraných mikrob

Z výsledk st r se vybraly vhodné kompatibilní dvojice, které byly dále testovány na rezistenci v i dezinfekci. Jako dezinfek ní prost edek byl vybrán Incidur¹⁰ (šarže 4501 F1 0104, expirace 12/2013), který se používá jak na t ebí ské poliklinice, tak v Nemocnici T ebí .



Obr. 44: Incidur.

Vybrané druhy bakterií:

- a) *Staphylococcus epidermidis*

¹⁰ Kapalný koncentrovaný dezinfek ní a istící prost edek ur ený pro povrchovou dezinfekci a išt ní všech omyvatelných ploch a p edm t . Je vhodný na podlahy, st ny, kachlíky, nábytek apod., i na plochy z plexiskla. Výrobce Ecolab Hygiene, s.r.o. Bezpe nostní list p iložen v p íloze.

- b) *Micrococcus luteus*
- c) *Klebsiella pneumoniae*
- d) *Pseudomonas aeruginosa*

Cílem tohoto testování bylo potvrdit předpoklad, že mikroorganismus, který byl vystavený působení dezinfekce, je výrazně odolnější (a tudíž i nebezpečnější pro člověka) než mikroorganismus, který nebyl tomuto působení vystaven.

Při testování byla použita standardní kvalitativní suspenzní metoda (viz 1.2.6.1.1.). Práce probíhala bez zábrany (viz 1.2.4.).

Minimální hodnoty pro účinnost bakteriové suspenze na požadovanou hodnotu 5 McF bylo prováděno denzitometrem (viz 1.2.3.).

Výrobce Inciduru doporučuje následující expozice a koncentrace:

Doporučené použití pro použití	Koncentrace (%)	Koncentrace (ml/l)	Expozice
Plošná dezinfekce v nemocniční profylaxi ¹¹ a všeobecné praxi	0,50	5	4 h
	1,00	10	1 h
	1,50	15	30 min.
	2,00	20	15 min.
Plošná dezinfekce proti bakteriím a mikroskopickým kvasinkovitým i vláknitým houbám při pravidelném použití (kumulativní ¹² efekt)	0,25	2,5	4 h
	0,50	5	1 h
Omezená virucidní (x HIV, HBV, HCV)	0,50	5	30 min.
Účinnost proti adenovirům	0,50	5	1 h
Účinnost proti rotavirům	1,00	10	15 min.
Dezinfekce ochranných plynových masek	2,00	20	15 min.

Tab. 5: Doporučené použití Inciduru. Zdroj: obal Inciduru.

¹¹ konkrétní ochrana před určitou nemocí

¹² hromadný

Podle této tabulky, konkrétně druhého řádku (plošná dezinfekce proti bakteriím) a požadavků standardní kvalitativní suspenzní metody (viz 1.2.6.1.1.) se pro testování zvolily následující koncentrace přípravku:

1%, 0,5%, 0,25% a 0,05%

Dle tabulky se 0,5 % roztok dostane smícháním 5 ml přípravku s 995 ml vody. 1 % roztok tedy dostaneme smícháním dvojnásobného množství přípravku s 990 ml (poměr 1:100) sterilní destilované vody (dále jen vody). Z tohoto výpočtu se dále vycházelo při ední všech koncentrací.

Cílem bylo dostat 10 ml (nebo násobek, viz níže) výsledného roztoku dané koncentrace, protože při testování standardní kvalitativní suspenzní metodou je třeba 9,9 ml dezinfekce na jednu Petriho misku. Pokud bylo Petriho misek pro jednu koncentraci více, zjistilo se celkové potřebné množství výpočtem:

potřebné množství roztoku (v ml) = počet Petriho misek * 10 ml

Dle výsledku se upravila i předchozí množství, aby bylo zřejmé edit.

Pro lepší výpočty a provedení se nejprve edil 10 % roztok poměrem 1:10 (1 ml dezinfektantu a 9 ml vody). Z něj se edilo opět poměrem 1:10 (1 ml 10% roztoku a 9 ml vody) na koncentraci 1 %.

5 % roztok byl namíchán poměrem 5:100 (při požadovaném množství 10 ml se smíchalo 0,5 ml dezinfektantu s 9,5 ml vody). Z 5 % se získal 0,5 % edním v poměru 1:10 (1 ml 5 % roztoku a 9 ml vody). 0,05 % roztok je desetkrát z edný 0,5 % (1 ml 0,5 % roztoku a 9 ml vody).

0,25 % roztok se získá z edním 0,5 % v poměru 1:1 (5 ml 0,5 % roztoku a 5 ml vody).



Obr. 45: *ed ní dezinfekce.*



Obr. 46: *Kádinky s na ed nou dezinfekcí.*

Z každé požadované koncentrace se napipetovalo 9,9 ml na Petriho misku. Pak se p idalo 0,1 ml bakteriové suspenze.



Obr. 47: *Misky s napipetovanou z. ed nou dezinfekcí.*



Obr. 48: Pracovní prostředí.

Expozice se volila op t dle tabulky (tab. 5, plošná dezinfekce proti bakteriím, doporu ená koncentrace 0,5 % a k ní expozice 1 h) a p izp sobovala se evropské norm (viz 1.2.5.), asy použité v pokusu proto byly:

8, 16, 32 a 64 minut

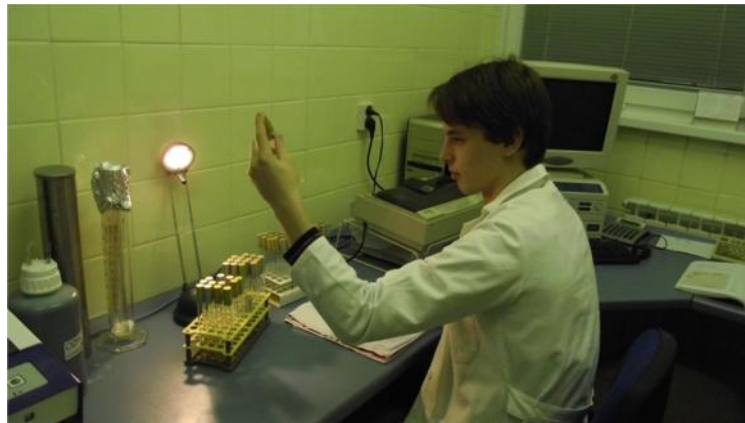
Po t chto asech od asu 0 (smíchání 0,1 ml bakteriové suspenze a 9,9 ml dezinfek ního roztoku) se mikrob inokuloval kli kou o objemu 10 μ l (0,01 ml) do zkumavky s bujónem (obr. 49). Tyto pak byly inkubovány dle r stových podmínek daného mikroba.



Obr. 49: Inokulace do bujónu.

Každý testovaný kmen byl při testování vystaven působení 1 %, 0,5 %, 0,25 % a 0,05 % Inciduru působících působení 8, 16, 32 a 64 minut. V jedné sérii tedy bylo dosaženo 16 výsledků. Celkem byly provedeny 3 série pro každý kmen, aby byly výsledky přesnější a vyloučila se případná chyba.

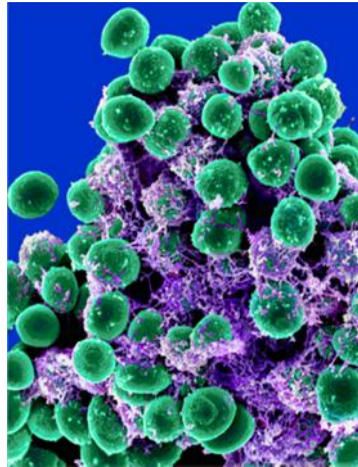
Po kultivaci se pro výsledné zhodnocení a porovnání odolnosti kompatibilních dvojic vytvořila tabulka, kde + značí nárůst mikroba a – značí sterilní bujón. Základem se hodnotil vizuálně, při nejasném vizuálním výsledku se daná zkumavka proměřila denzitometrem.



Obr. 50 : Vizuální hodnocení nárůstu.

Provádí se také kontrolní pokus (viz 1.2.6.1.1.)

2.2.1. Staphylococcus epidermidis



Obr. 51: Staphylococcus epidermidis. Zdroj: www.microbeworld.org.

Dezinfikovaný kmen z kliky vstupních dveří pánských toalet v prvním patře (viz 2.1.2.2.2.).

istý kmen z ovládacích prvků automatu v lékárně (viz 2.1.1.1.1.).

Staphylococcus epidermidis - istý					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,5 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,25 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,05 %	I	+	+	+	+
	II	+	+	+	+
	III	+	+	+	+
Kontrola		bez dezinfekce		+	
		bujón		-	

Tab. 6: Staphylococcus epidermidis – istý. Výsledky.

Staphylococcus epidermidis - dezinfikovaný					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,5 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,25 %	I	-	-	-	-
	II	+	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,05 %	I	+	+	+	+
	II	+	+	+	-
	III	+	+	+	+
Kontrola	bez dezinfekce			+	
	bujón			-	

Tab. 7: *Staphylococcus epidermidis* – dezinfikovaný. Výsledky.

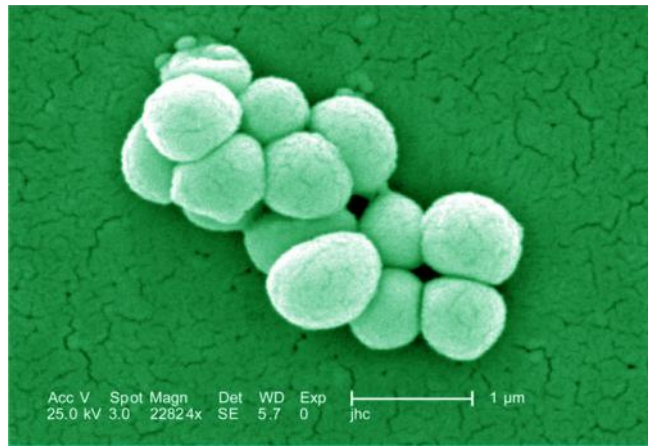
Zhodnocení:

Ani jeden kmen z této kompatibilní dvojice nevykazuje zvýšenou rezistenci v i Inciduru. Výsledky pokus jsou tím totožné. Nár st u dezinfikovaného rodu *Staphylococcus* vystaveného ve 2. sérii 8 minut 0,25 % Inciduru lze vysv tlit n kolika zp soby:

1. Výskyt n kolika odolných jedinc , kte í p ežili po tuto dobu p sobení dané koncentrace dezinfekce.

2. Vznik koagula¹³, např. při přípravě bakteriové suspenze špatným rozmícháním nebo až následně v Petriho misce.

2.2.2. *Micrococcus luteus*



Obr. 52: *Micrococcus luteus*. Zdroj: newscenter.lbl.gov.

Dezinfikovaný kmen z kliky vstupních dveří dámských toalet v prvním patře (viz 2.1.2.3.2.)

istý kmen z ovládacích prvků automatu v lékárně (viz 2.1.1.1.1.).

¹³ sraženina několika jedinců, kde ti, co jsou na povrchu, uhynou kvůli působení dezinfekce či antibiotik, ale ti, co jsou uvnitř, přežívají a vytvářejí si vůči dezinfekci nebo antibiotikům rezistenci

Micrococcus luteus - istý					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,5 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,25 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,05 %	I	+	+	+	-
	II	+	+	+	+
	III	+	+	+	-
Kontrola	bez dezinfekce			+	
	bujón			-	

Tab. 8: Micrococcus luteus – istý. Výsledky.

Micrococcus luteus - dezinfikovaný					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,5 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,25 %	I	-	-	-	-
	II	+	-	-	-
	III	-	+	-	-
0,05 %	I	+	+	+	+
	II	+	+	+	+
	III	+	+	+	+
Kontrola		bez dezinfekce			+
		bujón			-

Tab. 9: *Micrococcus luteus* – dezinfikovaný. Výsledky.

Zhodnocení:

Dezinfikovaný *Micrococcus* je odolnější než *istý*. Je patrný jasný rozdíl v nárůstu ve všech třech sériích 0,05 % koncentrace při expozici 64 minut. Nárůst ve druhé sérii po působení 0,25 % roztoku 8 minut se objevil pouze jednou a nebyl potvrzen ani v jednom z dalších dvou pokusů. Může se tedy jednat o vznik koagulační o skutečně odolnou jednotku. Tímtož způsobem se dá vysvětlit růst mikroba vystaveného ve 3. sérii 16 minut 0,25 % Inciduru.

2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*



Obr. 53: Pseudomonas aeruginosa. Zdroj: www.beama.org.uk.

Dezinfikovaný nemocniční kmen z Nemocnice Třebí.

Istý kmen od anonymního českého pacienta, u kterého byla předpokládána primoinfekce.

Pseudomonas aeruginosa - istá					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	+	-	-
0,5 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,25 %	I	+	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,05 %	I	+	+	+	+
	II	+	+	+	+
	III	+	+	+	+
Kontrola	bez dezinfekce			+	
	bujón			-	

Tab. 10: Pseudomonas aeruginosa – istá. Výsledky.

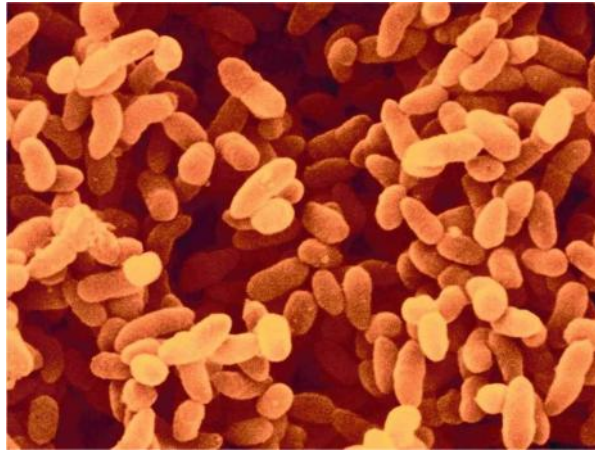
Pseudomonas aeruginosa - dezinfikovaná					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,5 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,25 %	I	-	-	+	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,05 %	I	-	-	+	+
	II	+	+	-	+
	III	+	+	+	+
Kontrola	bez dezinfekce			+	
	bujón			-	

Tab. 11: *Pseudomonas aeruginosa* – dezinfikovaná. Výsledky.

Zhodnocení:

istá *Pseudomonas* se jeví jako odoln ější, i když d íve nebyla vystavena p sobení Inciduru. To by platilo za p edpokladu, kdy negativní nár sty u dezinfikované, vystavené p sobení 0,05 % Inciduru, jsou zp sobeny odum ením všech CFU a nikoli lidskou chybou p i pr b hu pokusu.

2.2.4. Klebsiella pneumoniae



Obr. 54: Klebsiella pneumoniae. Zdroj: www.tagesspiegel.de.

Dezinfikovaný nemocniční kmen z Nemocnice Třebíč.

Istý kmen kmen od anonymního českého pacienta, u kterého byla předpokládána primoinfekce.

Klebsiella pneumoniae - istá					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	+	-	-	-
	II	+	-	-	-
	III	+	-	-	-
0,5 %	I	+	+	-	-
	II	+	+	-	-
	III	+	+	-	-
0,25 %	I	+	+	+	+
	II	+	+	+	+
	III	+	+	+	+
0,05 %	I	+	+	+	+
	II	+	+	+	+
	III	+	+	+	+
Kontrola	bez dezinfekce			+	
	bujón			-	

Tab. 12: Klebsiella pneumoniae – istá. Výsledky.

Klebsiella pneumoniae - dezinfikovaná					
Koncentrace dezinfektantu	íslo série	Expozice (min)			
		8	16	32	64
1 %	I	-	-	-	-
	II	-	-	-	-
	III	-	-	-	-
0,5 %	I	+	+	-	-
	II	+	-	-	-
	III	+	+	-	-
0,25 %	I	+	+	+	-
	II	+	-	+	-
	III	+	+	+	-
0,05 %	I	+	+	+	+
	II	+	+	+	+
	III	+	+	+	+
Kontrola	bez dezinfekce			+	
	bujón			-	

Tab. 13: *Klebsiella pneumoniae* – dezinfikovaná. Výsledky.

Zhodnocení:

istá *Klebsiella* je odoln ější než dezinfikovaná, i když d íve nebyla vystavena p sobení Inciduru. Anomálii u dezinfikované, vystavené ve 2. sérii 16 minut p sobení 0,25 % Inciduru, lze vysv tít n kolika zp soby. Bu se jedná o lidskou chybu p i provád ění pokusu, nebo o skute né uhynutí všech CFU.

3. Závěr

Z každého ze dvou úseků praktické části (sterily, testování rezistence) lze vyvodit samostatné závěry.

Při provádění sterily z prostředí byly otevírány bohaté nársty rozmanitých druhů bakterií. Jako nejslibnější se jevily automatové schránky na vrácené mince. Jsou uzavřené, lidé jsou s nimi často v kontaktu, a pokud se automat umyje, je velice nepravděpodobné, že by byla řádně umyta i tato schránka. Dalším místem, u kterého se předpokládá výskyt různorodých bakterií, jsou kliky na toaletách. Jsou velice frekventované a kvůli tomu, že někteří lidé zanedbávají či dokonce vynechávají hygienickou očištění, byl taktéž zde otevírán zajímavý nárost. Zde však má, na rozdíl od nápojového automatu, na výskyt mikrobů vliv dezinfekční proces, který se provádí denně po určitých časových úsecích.

Z výsledků těchto steril je patrné, že nársty nebyly z hlediska rozmanitosti moc významné a všude se vyskytují stejné druhy (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus sp.*) bez ohledu na dezinfikovanost prostředí. Tyto bakterie jsou běžnou mikroflórou lidské kůže, ale při přemnožení způsobují svému hostiteli zdravotní potíže. Vzhledem k tomu, že se vyskytovaly jak v prostředí nedezinfikovaném, tak i v dezinfikovaném, lze je považovat za bakterie odolné v prostředí.

Také nársty sterily z umyvadlových výpustí byly všechny totožné, s výskytem těchto druhů (*Proteus sp.*, G^- tyinky, G^+ koky). Tyto přezívají i v nepříznivých podmínkách odpadního odtoku. Dalo by se očekávat, že bakterie, jež byly nalezeny na klikách a automatech, kam se dostaly z rukou, budou při umývání smyty proudem vody a taktéž ulpí ve výpusti a budou se zde množit. To se však nestalo, z čehož vyplývá, že v umyvadlové výpusti jsou pro ně nevhodné podmínky k životu.

Na ovládacích prvcích automatu v lékárně se objevila i plíseň. Je otázkou, zda spory, které se na tlačítkách uchytily, jsou ze vzdušného spadu nebo je sem dotykem přinesl zákazník. Vzdušný spad by se dal prokázat pokusem, kdy se otevřená Petriho miska s krevním agarom nechá nějakou dobu v blízkosti automatu. Pak se nechá kultivovat, a pokud plíseň naroste, jedná se o spory ze vzduchu.

Výsledky pokusů testování na Incidur se dají porovnat s známými zprávy. Ten, ke kterému tato práce měla dospět, je vzájemné porovnání odolnosti čistého a dezinfikovaného kmenu téhož druhu bakterie.

V případě rodu *Staphylococcus epidermidis* nevykazoval ani jeden testovaný kmen zvýšenou rezistenci na Incidur. Výsledky se téměř shodovaly.

Jediným případem, kdy se potvrdil předpoklad, je testovaný *Micrococcus luteus*. Dezinfikovaný kmen vykazoval zvýšenou rezistenci. Sice jen nepatrnou a v nejnižších hodnotách koncentrace (0,05 %), ale i tak zde máme dva kladné výsledky více než čistý kmen.

Zajímavé skutečnosti vyplynuly z testování nemocničních kmenů a k nim kompatibilních od anonymních domácích pacientů. Zde se dalo také očekávat, že dezinfikované kmeny budou odolnější, ale zjištění ukázalo pravý opak. Rezistentnější jsou kmeny čisté, od domácích pacientů s primoinfekcí z komunity. Výrazněji se to projevilo u testované *Klebsiella pneumoniae*, kde jsou nároky i po působení 1 % Inciduru a po působení 0,25 % 64 minut. U testované *Pseudomonas aeruginosa* nejsou výsledné hodnoty tak výrazné jako v předchozím případě, ale i tak se čistá jeví jako odolnější.

Tento neočekávaný výsledek se dá vysvětlit tím, že mikroorganismus (na povrchu i uvnitř) je vystaven velkému selektivnímu tlaku. Tento tlak je větší než u mikroba žijícího ve zdravotnickém zařízení. Na toho jsou aplikovány pouze dezinfekční prostředky a antibiotika, a tak si vytváří odolnost pouze v nich. Kdežto jedinec kolonizátor se musí bránit rozličnějším vnějšími podmínkami a obaluje se silnější kapsulou¹⁴.

Další způsob, jak porovnat zjištěné hodnoty, je porovnat odolnost druhů bakterií navzájem. Jako nejodolnější ze všech testovaných bakterií je *Klebsiella pneumoniae*. „V poslední době přibývají její kmeny rezistentní na antibiotika“ [5: 265] a pokud by se objevovaly i kmeny odolné vůči dezinfektantům, jednalo by se o nastupující biologickou hrozbu. To by však vyžadovalo další a rozsáhlejší testování.

¹⁴ pouzdro chránící bakterii, je tvořené polysaridy a proteiny

Další příky nelze určit, nebo zbylé testované kmeny (*Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus epidermidis*) vykazovaly srovnatelnou odolnost.

Celkově lze tedy výsledky shrnout tak, že předpoklad, který byl vysloven na začátku této práce, se potvrdil pouze v jednom případě, konkrétně u rodu *Micrococcus luteus*. Při testování nebyl objeven kmen, který by projevoval větší Inciduru vysokou odolnost. Testovaný dezinfekční prostředek (Incidur) je při výrobce doporučené koncentraci a expozici účinný na všechny testované kmeny bakterií. Na které níže uvedené menších hodnotách. Je však lepší dodržovat postupy stanovené výrobcem, nebo tyto menší hodnoty mohou být pouze bakteriostatické, nikoli bakteriocidní.

Výsledky, případně postupy této práce jsou aplikovatelné do praxe (například zjištění viz odstavec výše).

Ve výzkumu by se také dalo pokračovat a zkoumat a následně porovnávat odolnosti různých nemocničních kmenů získaných v daném zdravotnickém zařízení na různých odděleních a místech. Na bakterie by byly aplikovány rozličné dezinfektanty od různých výrobců. Testování by se také mohlo periodicky opakovat, například po půl roce. To vše by však znamenalo práci navíc pro hygienické a epidemiologické laboratoře. Takovýto výzkum by byl efektivní jen v případě celosvětového rozšíření, kdy by se všechny získané hodnoty ukládaly do centrální databáze. Pak by se dal efektivně sledovat vývoj rezistence vůči dezinfekčním prostředkům, jak je tomu například u sledování vývoje rezistence na antibiotika.

4. Zdroje

Seznam obrázk :

Obr. 1: Živný bujón.

Obr. 2: Živný agar.

Obr. 3: Krevní agar.

Obr. 4: Výt rová sada.

Obr. 5: Denzitometr.

Obr. 6: Odb r vzork z automatu na poliklinice v T ebí i.

Obr. 7: Odb r vzork z odtoku umyvadla na poliklinice v T ebí i.

Obr. 8: Popisování Petriho misky s krevním agarem.

Obr. 9: O kování na plotnu.

Obr. 10: Inokulace vzorku na plotnu pomocí tamponu.

Obr. 11: Roz e ování vzorku na plotn pomocí kli ky.

Obr. 12: Kultivovaná plotna.

Obr. 13: Použité kli ky.

Obr. 14: Automat v lékárn .

Obr. 15: Automat u trafiky.

Obr. 16: Kontaminace automatu.

Obr. 17: Ovládací prvky automatu v lékárn .

Obr. 18: Nár st st ru z ovládacích prv k automatu v lékárn .

Obr. 19: Nár st druhého st ru z ovládacích prv k automatu v lékárn .

- Obr. 20: Schránka na mince automatu v lékárně .
- Obr. 21: Návrh státní ruže ze schránky na vrácené mince automatu v lékárně .
- Obr. 22: Ovládací prvky automatu u trafiky.
- Obr. 23: Návrh státní ruže z ovládacích prvků automatu u trafiky.
- Obr. 24: Automat na teplé nápoje na Gymnáziu Třebí .
- Obr. 25: Ovládací prvky automatu na gymnáziu.
- Obr. 26: Návrh státní ruže ovládacích prvků automatu na gymnáziu.
- Obr. 27: Schránka na vrácené mince automatu na gymnáziu.
- Obr. 28: Návrh státní ruže ze schránky na vrácené mince automatu na gymnáziu.
- Obr. 29: Levý počítač .
- Obr. 30: Návrh státní ruže z klávesnice levého počítače .
- Obr. 31: Pravý počítač .
- Obr. 32: Návrh státní ruže z klávesnice pravého počítače .
- Obr. 33: Návrh státní ruže z umyvadlové výpusti pánských toalet v prvním patře .
- Obr. 34: Návrh státní ruže z umyvadlové výpusti dámských toalet v prvním patře .
- Obr. 35: Návrh státní ruže z umyvadlové výpusti bakteriologické laboratoře .
- Obr. 36: Dveře toalet v přízemí.
- Obr. 37: Návrh státní ruže z kliky pánských toalet v přízemí.
- Obr. 38: Dveře toalet v prvním patře .
- Obr. 39: Návrh státní ruže z kliky pánských toalet v prvním patře .
- Obr. 40: Návrh státní ruže z kliky dámských toalet v přízemí.
- Obr. 41: Návrh státní ruže z kliky dámských toalet v prvním patře .

Obr. 42: *Pseudomonas aeruginosa*.

Obr. 43: *Klebsiella pneumoniae*.

Obr. 44: Incidur.

Obr. 45: ed ní dezinfekce.

Obr. 46: Kádinky s na ed nou dezinfekcí.

Obr. 47: Misky s napipetovanou z ed nou dezinfekcí.

Obr. 48: Pracovní prost edí.

Obr. 49: Inokulace do bujónu.

Obr. 50 : Vizuelní hodnocení nár st .

Obr. 51: *Staphylococcus epidermidis*.

Obr. 52: *Micrococcus luteus*.

Obr. 53: *Pseudomonas aeruginosa*.

Obr. 54: *Klebsiella pneumoniae*.

Seznam tabulek:

Tab. 1: Složení živného bujónu.

Tab. 2: Složení živného agaru.

Tab. 3: Složení krevního agaru.

Tab. 4: McFarlandova zákalová stupnice.

Tab. 5: Doporu ené ed ní Inciduru.

Tab. 6: *Staphylococcus epidermidis* – istý. Výsledky.

Tab. 7: *Staphylococcus epidermidis* – dezinfikovaný. Výsledky.

Tab. 8: *Micrococcus luteus* – istý. Výsledky.

Tab. 9: *Micrococcus luteus* – dezinfikovaný. Výsledky.

Tab. 10: *Pseudomonas aeruginosa* – istá. Výsledky.

Tab. 11: *Pseudomonas aeruginosa* – dezinfikovaná. Výsledky.

Tab. 12: *Klebsiella pneumoniae* – istá. Výsledky.

Tab. 13: *Klebsiella pneumoniae* – dezinfikovaná. Výsledky.

Literatura:

[1] Standardní metody pro hodnocení dezinfekční účinnosti chemických látek. *AHEM*, 1985, příloha . 1. 25 s.

[2] Vybrané mikrobiologické metodiky používané při prevenci a výskytu nemocí nákaz. *AHEM*, 1992, příloha . 7. 107 s. ISSN 0862-5956

[3] REYBROUCK, Gerald. The testing of disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 41, 1998, p. 269-272.

[4] LUPPENS, Suzanne B. I. et al. Development of a Standard Test To Assess the Resistance of *Staphylococcus aureus* Biofilm Cells to Disinfectants. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, 2002, p. 4194–4200.

[5] BEDNÁŘ, Marek et al. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vydání. Praha: Marvil, 1996. 558 s. ISBN 80-238-0297-6

[6] PÍVORA, Miroslav. *Dezinfekce, dezinfekce, deratizace*. 1. vydání. Praha: Avicenum, zdravotnické nakladatelství, n. p., 1980. 224 s. ISBN 08-071-80.

[7] SEDLÁK, Jiří; BLAHOŠLAV, Petr; HAVRÁNEK, Jiří. *Mikrobiologie, epidemiologie a hygiena*. Avicenum, zdravotnické nakladatelství, n. p., 1971. 250 s. ISBN 08-009-71.

[8] KLIMEŠ, Lumír. *Slovník cizích slov*. 5. přepracované a doplněné vydání. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1994. 855 s. ISBN 80-04-26059-4

Internetové zdroje:

[9] <http://www.microbiol.org/resources/monographswhite-papers/measurement-of-cell-concentration-in-suspension-by-optical-density/>

[10] <http://www.lf2.cuni.cz/info2lf/ustavy/ulm/praktika.htm>

[11] <http://www.ecolabcz.cz/divize.php?b1=healthcare&b2=6&b3=dezinfekce-ploch-a-povrchu&sh=26&b4=Incidur>

[12] <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=7264>

[13] <http://newscenter.lbl.gov/feature-stories/2010/06/18/enzyme-trio-for-hydrocarbon-fuels/>

[14] <http://www.beama.org.uk/en/energy/thermostatic-mixing-valves/frequently-asked-questions-on--pseudomonas.cfm>

[15] <http://www.tagesspiegel.de/wissen/keimende-gefahr-bakterien-wie-diese-kolonie-klebsiella-pneumoniae-sind-immer-haeufiger-gegen-fast/1905084.html>

[16] <http://www.komonews.com/news/national/New-tests-could-hamper-food-outbreak-detection-182994631.html>

5. P ílohy

P íloha 1

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ

Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 1/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

1 IDENTIFIKACE LÁTKY / PŘÍPRAVKU A SPOLEČNOSTI / PODNIKU

- 1.1 Identifikace látky nebo přípravku:**
Obchodní název přípravku: **Incidur**
- 1.2 Použití látky nebo přípravku:**
Účel použití: **Kapalný dezinfekční prostředek s parfémací. Dezinfekce ploch a povrchů.**
Popis funkce přípravku: **Určen pro oblast zdravotnictví a hygieny. Pouze pro profesionální použití.**
- 1.3 Identifikace společnosti nebo podniku:**
Výrobce: **Ecolab GmbH & Co. OHG
Reisholzer Werfstr. 38-42, /Postfach 13 04 06,
40554 Düsseldorf, SRN
Tel.: +49 211 9893-0**
- Distributor: **Ecolab Hygiene s. r. o.
Hlinky 118, 603 00 Brno
Česká republika
Tel.: 543 518 250
Fax: 543 518 299
e-mail: office.brno@ecolab.com
Nouzový telefon: 543 518 250**
- 1.4 Telefonní číslo pro naléhavé situace:** **Toxikologické informační středisko (TIS)
Klinika nemocí z povolání
Na Bojišti 1, 128 00 Praha 2
tel. nepřetržitě: 224 919 293, 224 915 402**

2 IDENTIFIKACE NEBEZPEČNOSTI

Přípravek je klasifikován jako nebezpečný podle směrnice 1999/45/ES, ve znění pozdějších předpisů.

- 2.1 Nejzávažnější nepříznivé účinky na zdraví člověka při používání přípravku:**
- Klasifikace:
- | | |
|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Xn – zdraví škodlivý | Xi – dráždivý |
| R20/22 Zdraví škodlivý při vdechování a při požití. | R37/38 Dráždí dýchací orgány a kůži. |
| Mutagenita - kategorie 3 | R41 Nebezpečí vážného poškození očí. |
| R68 Možné nebezpečí nevratných účinků. | |
| R42/43 Může vyvolat senzibilizaci při vdechování a při styku s kůží. | |
- 2.2 Nejzávažnější nepříznivé účinky na životní prostředí při používání přípravku:**
Přípravek není klasifikován jako nebezpečný pro životní prostředí. Větší množství koncentrovaného přípravku může nepříznivě ovlivnit vody a ekosystém, nevylévat do vod a kanalizace.
- Klasifikace: -
- 2.3 Nejzávažnější nepříznivé účinky z hlediska fyzikálně-chemických vlastností při používání přípravku:**
Přípravek není klasifikován jako hořlavý nebo oxidující.
- 2.4 Jiná rizika:**
Odpadá.
- 2.5 Možné nesprávné použití přípravku:**
Výrobek se nesmí používat k jiným účelům a jiným způsobem, než je uvedeno v návodu k použití a v tomto bezpečnostním listu.

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ

Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 2/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

3 SLOŽENÍ / INFORMACE O SLOŽKÁCH

- 3.1. Složení podle nařízení ES o detergitech č. 648/2004:
 ≥5-<15%: aniontové povrchové aktivní látky,
 <5%: neiontové povrchové aktivní látky.
 Obsahuje: dezinfekční činidla (Glyoxal, Glutaral). Obsahuje parfémy (Geraniol, Amyl Cinnamal, Limonene, Linalool, Citronellol, Hydroxyisohexyl 3-Cyclohexene Carboxaldehyde).

Další složky:

pomocné látky, inhibitory koroze, rozpouštědla, chelatační činidla a anorganické soli.

Obsah aktivních složek ve 100 g přípravku: glyoxal (8.8 g), glutaraldehyd (4.5 g).

- 3.2. Přípravek obsahuje tyto nebezpečné látky:

Název látky	Číslo CAS	Číslo EINECS	Obsah (hmot.%)	Klasifikace
Glyoxal	107-22-2	203-474-9	5-<10	Mutagen - kat. 3; R68 Xn; R20 Xi; R36/38 R43
Dodecylbenzensulfonát sodný	25155-30-0	246-680-4	5-<10	Xn; R22 Xi; R41, R37/38 R43
Glutaraldehyd	111-30-8	203-856-5	2-<5	T; R23/25 C; R34 R42/43 N; R50
Ethoxylovaný mastný alkohol, >5 mol EO	69227-22-1	NLP: Polymer	1-<2	Xn; R22 Xi; R41

Expoziční limity, jsou-li stanoveny, naleznete v oddílu 8.

- 3.3. Další informace:

Plná znění R-vět všech komponent přípravku jsou uvedena v bodu 16.

4 POKYNY PRO PRVNÍ POMOC

- 4.1 Všeobecné pokyny:
 Projeví-li se zdravotní potíže nebo v případě pochybností uvědomte lékaře a poskytněte mu informace z tohoto bezpečnostního listu.
- 4.2 Při nadýchání:
 Dopraďte postiženého mimo kontaminované prostředí na čerstvý vzduch a zajistěte tělesný i duševní klid. Nenechte prochladnout. Při silném nadýchání zajistěte přívod kyslíku a převoz do nemocnice.
- 4.3 Při styku s kůží:
 Odložte kontaminované oblečení. Zasažené části pokožky umyjte studenou vodou (event. s mýdlem). Dle rozsahu poškození poraněné místo překryjte sterilní gázou a vyhledejte lékařskou pomoc.
- 4.4 Při zasažení očí:
 Ošetření očí má přednost před ostatní první pomocí. Při otevřených víčkách a nejméně 15 minut vyplachujte – zejména prostory pod víčky – čistou pokud možno vlažnou tekoucí vodou. Přiložte event. sterilní obvaz a vyhledejte lékařskou pomoc. Při výplachu postiženého oka nesmí dojít k zasažení oka druhého.
- 4.5 Při požití:
 Vypláchněte ústa velkým množstvím vody event. dejte pít vodu po malých doušcích (je-li postižený při vědomí a nemá-li křeče), nikdy nevyvolávejte zvracení. Neprodleně vyhledejte lékařskou pomoc a ukažte obal nebo etiketu.
- 4.6 Další údaje:
 4.6.1 Stručně příznaky a účinky - okamžité, zpožděné a dlouhodobé vyvolané expozicí:

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ

Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 3/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

-
- 4.6.2 Specifické celkové akutní příznaky nejsou známy.
Doporučení pro lékařskou první pomoc:
Léčba je symptomatická.
- 4.6.3 Údaj o umístění i použití speciálních prostředků pro první pomoc (léků a přístrojů)
Speciální prostředky nejsou určeny.
-

5 OPATŘENÍ PRO HAŠENÍ POŽÁRU

- 5.1 Vhodná hasiva: K hasebnímu zásahu mohou být použita všechna běžná média – vodní mlha /vodní tříšť, prášek, CO₂, pěna aj.. Teplem se rozkládá. Produkt je velmi toxický pro vodní organismy. Zamezte vniknutí kontaminované vody k hašení do povrchových vodotečí, spodních vod a kanalizace.
- 5.2 Nevhodná hasiva: Nejsou známa.
- 5.3 Zvláštní nebezpečí: Při požáru může docházet k vzniku oxidu uhelnatého / uhlíčitého, CO_x, NO_x..
- 5.4 Speciální ochranné prostředky pro hasiče: vhodná ochrana dýchadel (izolační přístroj).
-

6 OPATŘENÍ V PŘÍPADĚ NÁHODNÉHO ÚNIKU

- 6.1 Preventivní opatření na ochranu osob:
Zamezit vstupu nepovolaným osobám. Zamezit styku s očima, požití. Používat ochranné prostředky. Nebezpečí uklouznutí na rozlitém přípravku. Zabezpečit dostatečnou ventilaci pracovních prostor.
Postupujte podle pokynů obsažených v kapitolách 7 a 8.
- 6.2 Preventivní opatření na ochranu životního prostředí:
Větší množství koncentrovaného přípravku nevypouštět do kanalizace, povrchových a podzemních vod. Zabraňte kontaminaci půdy. Zamezit vniknutí kontaminované oplachové vody do povrchových vodotečí, spodních vod a kanalizace.
- 6.3 Doporučené metody čištění a zneškodnění:
Jímejte nehořlavým savým materiálem (např. písek, křemelina, rašelina, vápenec), shromážděte v uzavřených nádobách. Sebraný materiál zneškodňujte v souladu s platnými předpisy. Zbytky přípravku na plochách opláchněte velkým množstvím vody (lze použít i saponát).
- 6.4 Další údaje:
Při úniku velkých množství informujte hasiče, policii popř. jiný místně kompetentní orgán.
-

7 ZACHÁZENÍ A SKLADOVÁNÍ

- 7.1 Zacházení:
- 7.1.1 Zamezte styku s očima, potřísnění oděvu. Používejte osobní ochranné pomůcky. Zamezte úniku přípravku do životního prostředí. Zajistěte dostatečnou ventilaci prostoru. Nádobu otevírejte obezřetně a manipulujte s ní opatrně. Po použití umyjte ruce vodou a mýdlem.
- 7.1.2 Opatření na ochranu životního prostředí: Při obvyklém použití odpadá
- 7.1.3 Specifické požadavky vč. zakázaných nebo doporučených postupů při nakládání s přípravkem:
Odpadá.
- 7.1.4 Ochrana před požárem nebo výbuchem: Odpadá.
Dodržujte běžná bezpečnostní opatření pro zacházení s chemickými přípravky a hořlavinami.
- 7.2 Skladování:
Skladujte v originálním balení v temných, chladných (< +25°C), suchých a dobře větraných prostorech. Doba expirace: viz údaj na originálním obalu.
Nenechte zmrznout. Chránit před světlem. Neskladovat společně s potravinami, pitnou vodou, krmivy a veterinárními premixy.
Třída skladování: 10
- 7.3 Specifické/specifická použití:
Odpadá.
-

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ

Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 4/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

8 OMEZOVÁNÍ EXPOZICE / OSOBNÍ OCHRANNÉ PROSTŘEDKY

8.1 Limitní hodnoty expozice:

Přípravek obsahuje látky, pro něž jsou stanoveny podle nařízení vlády č. 361/2007 Sb., v platném znění, koncentrační limity v pracovním ovzduší:

Chemický název:	1,5-pentadiol
Číslo CAS:	11-30-8
Hodnota NPK-P (mg/m ³):	0.8
Hodnota PEL (mg/m ³):	-

Při použití, ke kterému je přípravek určen, nedochází k překročení limitních hodnot výskytu nebezpečných látek předepsaných pro běžná pracoviště.

Doporučené postupy monitoringu (vyhl. č. 432/2003 Sb., v platném znění): Odpadá

8.2 Omezování expozice:

Dbejte obvyklých opatření na ochranu zdraví popř. používejte osobní ochranné pomůcky dle charakteru vykonávané práce. Zajistěte dobrou ventilaci pracovních prostorů.

8.2.1 Omezování expozice pracovníků

- Ochrana dýchacích cest (EN 143,141): Při doporučeném používání přípravku není zapotřebí. Při překročení expozičních limitů a vzniku aerosolu použít ochrannou masku (certifikovaný kombinovaný filtr DIN 3181-B2-P3- identifikační barva zeleno-šedá nebo kombin. filtr DIN 3181-A2-P3 barevné kódování hnědo-bílá).
- Ochrana rukou (EN 374): 1 až 4 hodiny: Používejte vhodné ochranné rukavice z nitrilové nebo butylové gumy (ochranná kategorie III viz. norma EN 374) s ohledem na propustnost, životnost a specifické podmínky na pracovišti.
- Ochrana očí (EN 166): Zamezit styku s očima. Používejte ochranné brýle těsně přiléhající k obličeji, obličejovou masku nebo obličejový štít.
- Ochrana kůže (EN 476): Vhodný pracovní oděv a obuv (dle charakteru vykonávané práce).

Další údaje:

Při práci nejezte, nepijte a nekuřte. Po práci si umýt ruce teplou vodou a mýdlem a ošetřete vhodným reparačním krémem.

8.2.2 Omezování expozice životního prostředí: Použijte v souladu s návodem k použití vč. doporučeného dávkování a pomůcek.

9 FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ VLASTNOSTI

9.1 Obecné informace:

Skupenství (při 20 °C):	kapalně
Barva:	zelená
Zápach / vůně:	parfémováno /po aldehydech/

9.2 Informace důležité z hlediska ochrany zdraví, bezpečnosti a životního prostředí:

Hodnota pH (při °C):	4.5 (100%) (20 °C)
Teplota tání / rozmezí teplot (°C):	nestanoveno
Bod varu / rozmezí teplot (°C):	není k dispozici
Bod vzplanutí(°C):	>100°C (Abel-Pensky-Martens) EN ISO2719
Hořlavost:	není hořlavý
Samozápalnost:	není stanovena
Výbušné vlastnosti	přípravek sám není výbušný
	není stanovena
-horní mez (obj.%):	není stanovena
-dolní mez (obj.%):	není stanovena
Oxidační vlastnosti:	není stanovena
Tenze par (při °C):	nestanovena
Relativní hustota (při °C):	1.09 g/cm ³ (20 °C)

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ

Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 5/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

Rozpustnost (při °C)	-ve vodě: -tucích (specif.oleje):	snadno mísitelný s vodou
Rozdělovací koeficient n-oktanol/voda:		není k dispozici
Viskozita:		dynamická: 15 mPa.s (Höppler, 20°C)
Hustota par:		není k dispozici
Rychlost odpařování:		není k dispozici

9.3 Další informace:

Nejsou k dispozici.

10 STÁLOST A REAKTIVITA

10.1 Podmínky, kterým je třeba zabránit:

Při použití v souladu s jeho určením je přípravek stabilní, nedochází k rozkladu.

Nesměšujte s jinými chemickými přípravky.

10.2 Materiály, kterých je třeba se vyvarovat:

Nesměšujte s organickými materiály, kovy, kyselinami, alkáliemi.

10.3 Nebezpečné produkty rozkladu:

Nejsou známy.

11 TOXIKOLOGICKÉ INFORMACE

Při přiměřeném zacházení a při použití, ke kterému je přípravek určen, nám nejsou známy žádné zdraví škodlivé účinky. Relevantní toxikologické údaje nejsou k dispozici.

Toxické komponenty přípravku: některá ze složek přípravku je klasifikována jako mutagen z hlediska účinku na člověka. Nemají subchronický ani chronický účinek.

LD50, orálně potkan (mg/kg)	nenalezena
LD50, orálně, myš (mg/kg)	nenalezena
LD50, dermálně, králik (mg/kg)	nenalezena
LD50, inhalačně, potkan (mg/m ³)	nenalezena

Potencionální akutní účinky na zdraví:

Při nadýchání: Zdraví škodlivý při nadýchání. Dráždí dýchací orgány. Může vyvolat senzibilizaci při vdechování.

Při styku s očima: Způsobuje podráždění a vážné poškození očí.

Při styku s kůží: Dráždí kůži. Může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží.

Při požití: Zdraví škodlivý při požití.

Karcinogenita: Obsahuje látku, která může vyvolat rakovinu. Riziko vzniku rakoviny závisí na délce a intenzitě expozice.

Mutagenita: Obsahuje mutagen – kategorie 3. R68 Možné nebezpečí nevratných účinků.

Reprodukční toxicita: Nejsou známy žádné nepříznivé účinky.

12 EKOLOGICKÉ INFORMACE

12.1 Ekotoxicita:

Přípravek nepodléhá ekologické klasifikaci dle nařízení 1999/45/ES.

Na základě surovin obsažených v přípravku anebo strukturálně srovnatelných látek se předpokládají následující ekologické údaje:

	(mg.kg ⁻¹)	mg přípravku / l
LC50 (ryby-akutní toxicita)	-	-
IC50, 72 hod., řasy:	-	-

12.2 Mobilita: údaj není k dispozici

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ

Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 6/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

- 12.3 **Perzistence a rozložitelnost:**
Biologická rozložitelnost povrchově aktivních látek obsažených v přípravku vyhovuje požadavkům nařízení č. 648/2004/ES o detergentech a požadavkům metody 301 OECD (snadno rozložitelný).
- 12.4 **Bioakumulační potenciál:** údaj není k dispozici
- 12.5 **Výsledky posouzení PBT:** údaj není k dispozici
- 12.6 **Jiné nepříznivé účinky:** údaj není k dispozici

Další údaje:

Všeobecně - Při odvádění kyselých nebo zásaditých přípravků do čistírny odpadních vod je třeba dbát na to, aby voda nepřekračovala rozmezí pH 6 – 10, což by mohlo způsobit poruchy v odpadních kanálech a biologických čistících zařízeních. Nadřazeně platí místní předpisy.

13 POKYNY PRO ODSTRAŇOVÁNÍ

Přípravek spotřebujte pokud možno v souladu s jeho určením.

Postupujte podle zákona o odpadech a podle provádějících předpisů o zneškodňování odpadů na zajištěné skládce pro tyto odpady nebo ve spalovacím zařízení pro odpady, které bylo pro tento účel schváleno. Obaly je třeba dokonale vyprázdnit. Po odpovídajícím vyčištění mohou být recyklovány.

Informaci o firmách zabezpečujících odstranění nespotřebovaných částí přípravku obdržíte u místně příslušného pověřeného správního úřadu. Zatřídění odpadu do příslušné kategorie/kódu je vždy specificky vázáno na příslušnou oblast používání přípravku, kde odpad vzniká. V případě potřeby se zatříděním nás kontaktujte (tel.: 543 518 250).

Návrh zařazení odpadu:

Podskupina 16 03 Vadné šarže a nepoužité výrobky – odpad 16 03 05* Organické odpady obsahující nebezpečné látky

Znečištěný obalový odpad: 15 01 10* Obaly obsahující zbytky nebezpečných látek nebo obaly těmito látkami znečištěné.

EWC: 20 01 29*

ÖNORM S2100: 53507

14 INFORMACE PRO PŘEPRAVU

Přípravek není zbožím považovaným za nebezpečné z hlediska přepravy.

(V případě letecké přepravy, pokud není zakázána, dbejte speciálních pokynů pro tento druh přepravy zboží.)

Mezinárodní předpisy pro přepravu:

Předpis	Číslice UN	Pojmenování a popis	Třída	Obalová skupina	Bezpečnostní značka
ADR / RID	-	-	-	-	-
ADN	-	-	-	-	-
IMDG	-	-	-	-	-
IAO / IATA	-	-	-	-	-

Další údaje: neuvedeny.

15 INFORMACE O PŘEDPÍSECH

Klasifikace a označování přípravku:

Přípravek je klasifikován jako nebezpečný podle směrnice č. 1999/45/ES a č. 67/548/EHS, ve znění pozdějších předpisů a na obalu/etiketě je třeba jej specificky označovat. Výstražný symbol a písmenné značení odpovídající klasifikaci přípravku (grafické, písmenné a slovní vyjádření):

BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ


Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 7/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

Xn	Obsahuje: glyoxal, glutaraldehyd
	R-věty: R68 Možné nebezpečí nevratných účinků. R20/22 Zdraví škodlivý při vdechování a při požití. R37/38 Dráždí dýchací orgány a kůži. R41 Nebezpečí vážného poškození očí. R42/43 Může vyvolat senzibilizaci při vdechování a při styku s kůží.
zdraví škodlivý	S-věty: S2 Uchovávejte mimo dosah dětí. S23 Nevdechujte aerosoly. S26 Při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc. S36/37/39 Používejte vhodný ochranný oděv, ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít. S45 V případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení).

Vnitrostátní předpisy:

- Právní předpisy týkající se ochrany osob a ochrany životního prostředí: zákon o chemických látkách a přípravcích a související vyhlášky; zákon o prevenci závažných havárií; zákon o ochraně ovzduší; zákon o odpadech; vyhláška, kterou se vydává katalog odpadů; vodní zákon; zákon o obalech; zákon o veřejném zdraví; zákoník práce; nařízení vlády, kterým se stanoví podmínky ochrany zaměstnanců při práci; vyhláška, kterou se stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů biologických expozičních testů a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli; vyhláška, kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí obytných místností některých staveb v platném znění.
- Specifické právní předpisy: zákon o podmínkách uvádění biocidních přípravků a účinných látek na trh v platném znění.

16 DALŠÍ INFORMACE

Přípravek je určen pro profesionální použití.

Bezpečnostní list obsahuje údaje potřebné pro zajištění bezpečnosti a ochrany zdraví při práci a ochrany životního prostředí. Uvedené údaje odpovídají současnému stavu vědomostí a zkušeností a jsou v souladu s platnými právními předpisy. Nemohou být považovány za záruku vhodnosti a použitelnosti výrobku pro konkrétní aplikaci.

WGK (SRN): 2 (Appendix 4)

Používejte biocidní přípravky bezpečně. Před použitím čtěte přiložené pokyny.

Plné znění R-vět uvedených v bodě 2 a 3:

- R20 Zdraví škodlivý při vdechování.
- R20/22 Zdraví škodlivý při vdechování a při požití.
- R22 Zdraví škodlivý při požití.
- R23/25 Toxický při vdechování a při požití.
- R34 Způsobuje poleptání.
- R36/38 Dráždí oči a kůži.
- R37/38 Dráždí dýchací orgány a kůži.
- R41 Nebezpečí vážného poškození očí.
- R42/43 Může vyvolat senzibilizaci při vdechování a při styku s kůží.
- R43 Může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží.
- R50 Vysoce toxický pro vodní organismy.
- R68 Možné nebezpečí nevratných účinků.

Datum vydání:	30.10.2008
Evidenční číslo bezpečnostního listu:	č. 112125CZ
Datum / číslo revize:	- / č. -
Verze č.:	1
Podklad:	SDS 112125E/ 02.10.2007



BEZPEČNOSTNÍ LIST

podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACH), ve znění pozdějších předpisů

Datum vydání: 30.10.2008 / evidenční č. BL: 112125CZ

Datum revize: -

Název výrobku: INCIDUR

Strana 8/8

Číslo revize: -

Verze č.: 1

Vydal:

Ecolab Regulatory Department Europe

Změny oproti předchozímu vydání bezpečnostního listu:

Změna formy bezpečnostního listu podle požadavků přílohy 2, čl. 31 nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006.

Označení změn: symbol „ | “ na levé straně textu/dokumentu.

P íloha 2

Platné od: 14.6.2010	Zdravotnická laboratoř UNILAB s.r.o.
F 29 – Školící místo	

Zajištění školícího místa - smlouva

mezi

a účastníkem školícího místa

**Zdravotnická laboratoř
UNILAB s.r.o.
Vltavínská - poliklinika
Třebíč
674 01**

**Slatinský Lukáš
Valeč 70
675 53**

Účastník školícího místa se tímto zavazuje, že nebude provádět samostatně, tj bez dohledu stanoveného školitele nebo jiného odpovědného zdravotnického pracovníka se samostatnou způsobilostí k výkonu povolání žádné výkony, poskytovat rady pacientům ani jinak zasahovat do poskytování zdravotnických služeb pacientům.

Zároveň se zavazuje dodržovat veškeré vnitřní předpisy Zdravotnické laboratoře UNILAB s.r.o. Třebíč, se kterými byl obeznámen, zejména na úseku bezpečnosti a ochrany zdraví při práci.

Účastník školícího místa prohlašuje, že si je vědom rizikovosti prostředí z hlediska případného onemocnění nakažlivými nemocemi a souhlasí s účastí na praxi bez nároku na náhradu škody za poškození zdraví od organizace.

Účastník školícího místa se zavazuje zachovávat mlčenlivost o skutečnostech, o nichž se dozvěděl v souvislosti s výkonem praxe.

O absolvování školícího místa bude účastníkovi vydáno potvrzení.



 účastník školícího místa





 UNILAB s.r.o.

V Třebíči dne: 15.10.2012