

Mikrobiologické aspekty provozu prádelny dětských plen

Bc. Tadeáš Spitzer

Diplomová práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Tadeáš Spitzer
Osobní číslo: T21812
Studijní program: N0712A030001 Environmentální inženýrství
Forma studia: Kombinovaná
Téma práce: Mikrobiologické aspekty provozu prádelny dětských plen

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte rešerši zaměřenou na problematiku desinfekčního praní textilu a možnosti inaktivace nejvýznamnějších skupin mikroorganismů.
2. Experimentálně ověřte výskyt vybraných mikroorganismů v provozu prádelny dětských plen.
3. Experimentálně ověřte účinnost desinfekčního praní na vybrané zástupce mikroorganismů.
4. Získané poznatky přehledně zpracujte a práci odevzdejte v tištěné i elektronické formě v řádném termínu.

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

Seznam doporučené literatury:

Mara D., Horan N. 2003. The Handbook of Water and Wastewater Microbiology. Microbial response to disinfectants: pp 657 ? 663. Academic Press.

Fijan S., Sostar-Turk S. 2010. Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles. Fibres & Textiles in Eastern Europe, 18, 1, pp: 89-92.

Gao Y., Cranston R. 2008. Recent advances in antimicrobial treatments of textiles. Textile Research Journal 78, 1, pp: 60-72.

Vedoucí diplomové práce: **doc. RNDr. Jan Růžička, Ph.D.**
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Cílem našeho výzkumu bylo ověření účinnosti vybraných desinfekčních prostředků použitých při praní látkových dětských plen. Srovnávali jsme účinnost použití zředěné kyseliny peroxyoctové a peruhličitanu sodného. Desinfekce je nutná, neboť v případě přítomnosti infekce v dětské plence může při společném praní dojít ke kontaminaci ostatních plenek a následně i děti patogenními mikroorganismy. Z tohoto důvodu je nutné najít vhodnou metodu desinfekce i s ohledem na životnost materiálu.

Na základě výrazných rozdílů v počtu sledovaných mikrobiálních skupin (celkových počtů bakterií, sporulujících bakterií, střevních bakterií a kvasinek) u dvou srovnávaných prostředků lze shledat, že desinfekční (oxidační) účinky kyseliny peroxyoctové jsou oproti peruhličitanu sodnému výrazně vyšší. Co se týče ostatních skupin patogenních a deterioračních organismů, jako jsou patogenní prvoci a plísňe, předpokládáme jejich choulostivost vůči vyšším teplotám, což bylo v případě plísňí ověřeno i experimentálně v rámci prvního laboratorního pokusu u *Aspergillus niger* a *A. oryzae*, *Penicillium funiculosum*, *Gliocladium virens* a *Rhizopus stolonifer*, kdy došlo během desinfekčního praní k jejich redukci o čtyři řády až na pouhé desítky jednotek tvořících kolonie.

Klíčová slova:

Kyselina peroxyoctová, peruhličitan sodný, desinfekce prádla, desinfekce dětských plen

ABSTRACT

The aim of our research is to verify the effectiveness of selected disinfectants used in washing cloth baby diapers. We compared the effectiveness of using dilute peroxyacetic acid and sodium percarbonate. Disinfection is necessary because if an infection is present in the baby diaper, it may contaminate other diapers with pathogenic microorganisms during the joint washing. For this reason, it is necessary to find a suitable method of disinfection also with regard to the liveliness of the material.

Based on the significant differences in the number of colony-forming units between the two agents compared, the disinfecting (oxidising) effects of peroxyacetic acid are many times higher than those of sodium percarbonate. With regard to other pathogenic organisms, such as certain strains of fungi and moulds, we assume that they are susceptible to higher temperatures, which was verified experimentally in the case of moulds in the first laboratory experiment with *Aspergillus niger* and *oryzae*, *Penicillium funiculosum*, *Gliocladium virens* and *Rhizopus stolonifer*, where they were reduced by four orders of magnitude to only tens of individuals.

Keywords:

Peroxyacetic acid, sodium percarbonate, laundry disinfection, baby diaper disinfection

Chtěl bych poděkovat docentu Janu Růžičkovi za pomoc ve formě konzultace metodiky, výsledků i celkové podoby práce, Ing. Lucii Petrželové, Ph.D. z malé prádelny na Jižních svazích, jež aktivně usiluje o šetrný přístup k našemu prostředí, nadějně studentce ekologie a tvorby krajiny z Valašska, jež mi ukázala dosud nepoznané krásy života a poskytla zázemí pro vyhotovení této práce a na závěr všem svým přátelům a rodině za trpělivost a podporu.

„Nebojme se věřit v dobro, ale buďme připraveni čelit zlu.“

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

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 DESINFEKČNÍ PRANÍ TEXTILŮ.....	13
2 ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA VYBRANÝCH DEZINFEKČNÍCH PROSTŘEDKŮ POUŽÍVANÝCH PŘI NÍZKÝCH TEPLOTÁCH PRANÍ TEXTILÍ.....	14
2.1 MOTIVACE VYUŽITÍ CHEMOTERMÁLNÍCH METOD PRANÍ	14
2.2 BIOINDIKÁTORY	15
2.3 DESINFEKČNÍ PROSTŘEDKY	16
2.4 VÝBĚR PRACÍHO STROJE A POPIS DESINFEKČNÍ PROCEDURY	17
2.5 ANALÝZA DESINFEKČNÍHO EFEKTU PRANÍ.....	18
2.6 VÝSLEDKY A DISKUSE	19
2.7 ZÁVĚR.....	21
3 VIRUCIDNÍ ÚČINNOST DESINFEKCE POMOCÍ PAR PEROXIDU VODÍKU.....	22
4 VIRUCIDNÍ ÚČINNOST KYSELINY PEROXYOCTOVÉ PŘI DEZINFEKCI NÁSTROJŮ	23
4.1 METODY.....	23
4.2 VÝSLEDKY	23
4.3 ZÁVĚR.....	24
5 ÚČINKY TEPLoty NA PŘEŽITÍ ROTAVIRŮ V MODELOVÉ KOJENECKÉ VÝŽIVĚ	25
5.1 VÝSLEDKY	25
6 HYDROTERMÁLNÍ KARBONIZACE JEDNORÁZOVÝCH PLENEK.....	26
6.1 SLOŽENÍ A OSUD JEDNORÁZOVÝCH PLEN V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ.....	26
6.2 HYDROTERMÁLNÍ KARBONIZACE	27
6.3 CHARAKTERIZACE A VYUŽITÍ KARBONIZÁTU	27
6.4 VÝSLEDKY	28
7 CHEMICKÁ A TEPLOTNÍ DESINFEKCE VÝZNAMNÝCH DRUHŮ A SKUPIN MIKROORGANISMŮ	29
7.1 <i>ASPERGILLUS NIGER</i>	29
7.2 <i>PENICILLIUM CHRYSOGENUM</i>	29
7.3 <i>GLIOCLADIUM VIRENS</i>	29
7.4 <i>RHIZOPUS STOLONIFER</i>	30
7.5 <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	30

7.6	<i>ESCHERICHIA COLI</i>	30
7.7	<i>CANDIDA ALBICANS</i>	30
7.8	<i>ENTEROKOKY</i>	31
8	PŘEŽÍVÁNÍ ENTEROKOKŮ PŘI ZPRACOVÁNÍ NEMOCNIČNÍHO PRÁDLA	32
8.1	METODY	32
8.2	VÝSLEDKY	33
9	CHEMISMUS POUŽITÝCH DESINFICIENTŮ	37
10	ZKOUMÁNÍ PŮSOBENÍ KYSELINY PEROXYOCTOVÉ NA LIPIDOVOU SLOŽKU BAKTERIÁLNÍCH SPOR	38
10.1	ÚVOD	38
10.2	METODY A INSTRUMENTACE	39
10.3	VÝSLEDKY	39
II	PRAKTICKÁ ČÁST	42
11	MATERIÁL A METODIKA	43
11.1	POUŽITÉ MIKROORGANISMY	43
11.2	KULTIVACE ČISTÝCH KULTUR A INDIKÁTOROVÝCH SKUPIN MIKROORGANISMŮ	43
11.3	POSTUPY PŘI LABORATORNÍCH POKUSECH DESINFEKCE	44
11.3.1	Pokusy s bakteriálními kulturami a kvasinkami	44
11.3.2	Pokus s kulturami vláknitých mikroskopických hub	45
11.4	POSTUPY PŘI POKUSECH V POKUSNÉ PRÁDELNĚ PLEN	45
11.5	POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY	46
12	VÝSLEDKY	47
12.1	POKUS 1 A 2: ÚČINEK DESINFEKCE PERUHLIČITANEM A PERSTERILEM (LABORATOŘ)	47
12.2	POKUS 3: ÚČINEK DESINFEKCE PERUHLIČITANEM, PERSTERILEM A TEPLITOU (LABORATOŘ)	48
12.3	POKUS 4 - ÚČINEK PERUHLIČITANU A PERSTERILU PROTI SAPROFYTICKÝM VLÁKNITÝM HOUBÁM (LABORATOŘ)	50
12.4	POKUS 5: ÚČINEK PERUHLIČITANU NA PLENY (V PRÁDELNĚ)	51
12.5	POKUS 6: ÚČINEK PERUHLIČITANU NA PLENY (V PRÁDELNĚ, OPAKOVANÝ)	52
12.6	POKUS 7: ÚČINEK PERSTERILU NA PLENY (V PRÁDELNĚ)	53
12.7	POKUS 8: ÚČINEK PERSTERILU NA PLENY (V PRÁDELNĚ, OPAKOVANÝ)	54
12.8	POKUS 9: ÚČINNOST TERMÁLNÍ DESINFEKCE VNĚJŠÍCH OBALŮ PŘED A PO PRANÍ PŘI 40°C (V PRÁDELNĚ)	55
12.9	POKUS 10: ÚČINNOST DESINFEKCE PERUHLIČITANEM A TAED ZA PŘÍTOMNOSTI KYSELINY CITRONOVÉ, PŘI 40°C (LABORATOŘ)	56

12.10	POKUS 11: ÚČINNOST TERMÁLNÍ DESINFEKCE VNĚJŠÍCH OBALŮ PO PRANÍ PŘI 60°C (V PRÁDELNĚ).....	57
12.11	POKUS 12: ÚČINNOST DESINFEKCE VNĚJŠÍCH OBALŮ PO PRANÍ PŘI 60°C ZA POUŽITÍ TEGO BETAINU A KYSELINY OCTOVÉ (V PRÁDELNĚ)	58
12.12	POKUS 13: ÚČINNOST DESINFEKCE VNĚJŠÍCH OBALŮ PO PRANÍ PŘI 60°C ZA POUŽITÍ TEGO BETAINU A KYS. OCTOVÉ (OPAKOVÁNO, V PRÁDELNĚ)	58
12.13	POKUS 14: ÚČINEK PERSTERILU (15%-TNÍHO) NA PLENY (V PRÁDELNĚ, MAXIMÁLNÍ NAPLNĚNÍ PRAČKY)	60
12.14	POKUS 15: ÚČINEK PERSTERILU (15%-TNÍHO) NA PLENY (V PRÁDELNĚ, MAXIMÁLNÍ NAPLNĚNÍ PRAČKY)	62
12.15	POKUS 16: ÚČINEK PERSTERILU (15%) NA PLENY (V PRÁDELNĚ, MAXIMÁLNÍ NAPLNĚNÍ PRAČKY)	63
ZÁVĚR		65
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		66
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		70
SEZNAM OBRÁZKŮ		71
SEZNAM TABULEK.....		72
SEZNAM PŘÍLOH.....		73

ÚVOD

Výhod používání tzv. látkových plen je ve srovnání s jednorázovými několik. Nedochozí k enormní produkci dále velice těžko využitelného komunálního odpadu a celková spotřeba energie a vody vztažená na délku jejich životnosti jest výrazně nižší. Pro mnohé rodiče je pak důležitá i nižší vstupní cena oproti plenám jednorázovým. Využívání speciálních dětských plen shledávám jako významný krok vstříc ochraně životního prostředí.

Vzhledem k patogenitě organismů žijících ve střevech dětí je však – obzvláště při provozu komunitní prádelny dětských plen – potřeba dodržovat striktní technologické postupy vedoucí ke zdravotně nezávadnému produktu. Jedním z těchto postupů je chemotermální desinfekce. Ta jest nutná, neboť v případě přítomnosti infekce v dětské plence může při společném praní dojít ke kontaminaci ostatních plenek patogenními mikroorganismy. Úkolem naší práce je nalezení vhodného desinfekčního prostředku použitelného při praní těchto látkových dětských plen. Srovnávali jsme účinnost použití známých desinficientů, zředěné kyseliny peroxyoctové a peruhličitanu sodného.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 DESINFEKČNÍ PRANÍ TEXTILŮ

Nejběžnější metodou desinfekce textilů je usmrcení mikroorganismů jako jsou viry, bakterie kvasinky a plísně při teplotě nad 70 °C po dobu 10 minut, obecně pak platí úměra, že čím nižší je teplota lázně, tím delší musí být i doba zdržení prádla. Při teplotě 60° C a méně by však muselo dojít ke značně dlouhé době zdržení, navíc bychom se při těchto teplotách nedokázali zbavit sporulujících bakterií. Do jisté míry se mikroorganismů zbavujeme i samotným procesem máchání a ždímání s přítomností detergentu, neboť se tak odstraní větší konglomeráty nečistot, na nichž jsou mikroorganismy uchyceny. Podle předpisů Institutu Roberta Kocha platných v Německu (Anonym, 1995) má postup praní termický dezinfekční účinek, pokud jsou splněna tato kritéria: poměr prádla ku médiu v lázni 1:5, doba trvání nejméně 10 min při 90 °C nebo doba trvání nejméně 15 min při 85 °C. Dezinfekčního účinku je dle těchto předpisů dosaženo, pokud se počet bakterií sníží o 5 řádů.

Jiná metoda spočívá v desinfekci pomocí speciálních desinfekčních prostředků. U nich můžeme dosazovat vysokých hodnot desinfekce i při nízkých teplotách nebo dokonce při ručním praní.

2 ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA VYBRANÝCH DEZINFEKČNÍCH PROSTŘEDKŮ POUŽÍVANÝCH PŘI NÍZKÝCH TEPLITÁCH PRANÍ TEXTILIÍ

Jak uvádí ve své práci Fijan a Šostar-Turk, primárním cílem praní prádla je tedy odstranit nečistoty a mikroorganismy z infikovaných a znečištěných textilií a získat čisté a dezinfikované textilie připravené k dalšímu používání (Fijan & Šostar-Turk, 2010). Znečištěné textilie mohou obsahovat značné množství druhů mikroorganismů, jež mohou být patogenní, obzvláště v našem případě, kdy pracujeme s dětskými plenami. Původ mikroorganismů očekáváme především z trávícího traktu dětí, ale mohou se vyskytovat i druhy ze vzduchu, či z pokožky. Kromě mikroorganismů obsahují tyto textilie i úporné nečistoty (moč a samotné fekálie). Prádlo se pere v průmyslové pračce. Je zásadní, aby byl postup praní dostatečně účinný tak, aby zničil veškeré patogenní i potenciálně patogenní mikroorganismy a zároveň nezpůsobil nadměrné poškození textilií v důsledku velkého množství účinných bělicích a dezinfekčních prostředků.

2.1 Motivace využití chemotermálních metod praní

Existuje pět hlavních důvodů užití chemotermálních metod praní textilu namísto těch konvenčních (Lange, 2001; Horvatic, 2002; Schmidt a spol., 2005):

- 1) Stále častěji se objevuje tendence používat oblečení ze směsí bavlny, které nevydrží tak vysoké teploty praní
- 2) Minimalizace spotřeby vody používáním ve vodě rozpustných detergentů, jež nepotřebují zředěné mycí lázně pro dobrou účinnost a snížením teploty lázně, čímž se vylučuje potřeba oplachovacích lázní, potřebných k dosažení účinku ochlazení
- 3) Minimálně 5% snížení spotřeby energie díky nižší potřebě ohřevu
- 4) Použití netoxických, biologicky odbouratelných mycích a dezinfekčních prostředků
- 5) Konečně, snižování nákladů ve konkurenčním prostředí průmyslových prádel.

Je dobře známo, že oblečení zdravotnických pracovníků, záclony, potahy na nábytek, ložní prádlo a podobně se mohou snadno kontaminovat mikroorganismy a stát se tak potenciálními přenašeči (Kniehl a spol., 2005; Malik a spol., 2006). Proto je čištění a dezinfekce textilií a povrchů v domácnostech také důležitá, zejména však pro pracovníky ve zdravotnických zařízeních (Malik a spol., 2006). Mikroorganismy mohou způsobit

degradaci přírodních vláken, jako je bavlna nebo vlna, vylučováním enzymů, konkrétně celulózy nebo různých proteáz. Hromadění těchto mikroorganismů se zhoršuje, pokud teploty praní a/nebo použité složení základních pracích prostředků umožňují hromadění zbytků nečistot ve vláknech, což podporuje růst mikroorganismů (Zoller, 1999).

2.2 Bioindikátory

Ve slovinském výzkumu byl zkoumán dezinfekční účinek různých nízkoteplotních pracích postupů za použití dvou indikátorových bakterií: *Enterococcus faecium* ATCC 6057, a *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048. Jako nosiče vybraných mikroorganismů byly při pracích postupech použity kousky 100% bavlny. Kousky bavlny byly inokulovány umělým potem jako substrátem pro simulaci lidských exkrementů podle dříve publikovaného výzkumu (Fijan a spol., 2007).

Byly vybrány tyto indikátorové mikroorganismy: *E. faecium* ATCC 6057 a *E. aerogenes* ATCC 13048. *E. faecium* byl vybrán jako termorezistentní zástupce grampozitivních koků a *E. aerogenes* byl vybrán proto, že je katalázopozitivním, relativně termorezistentním zástupcem gramnegativní čeledi *Enterobacteriaceae* (Fijan a spol., 2007). Způsob přípravy indikátorových mikroorganismů pro stanovení dezinfekčního účinku praní byl popsán již dříve (Fijan a spol., 2007). Byla připravena suspenze každého vybraného mikroorganismu a naočkována na bavlněné nosiče. Po vysušení přes noc byly koncentrace *E. faecium* a *E. aerogenes* na bavlněných nosičích $1,9 \times 10^7$ CFU/ks, resp. $4,6 \times 10^7$ CFU/ks, vyhodnoceno sériovým ředěním a nátěrem na příslušných agarech pro každý mikroorganismus.

2.3 Desinfekční prostředky

Slovinské kolegyně ve svých experimentech používaly tři desinfekční prostředky označené jako DIS1, DIS2 a DIS3. Popis jednotlivých prostředků je uveden v následující tabulce.

Tabulka 1: Popis použitých desinfekčních prostředků

Mark	Composition	Active agent	Dosage ^a , mL	Description
DIS1	10% NaClO	ClO ⁻	10.0	A disinfection agent containing sodium chlorate (I). In addition, a bleaching agent.
DIS2	2,5% CH ₃ COOOH 10% H ₂ O ₂ 2,5% CH ₃ COOH	COOO ⁻ and HOO ⁻	12.5	A disinfection agent containing a solution of hydrogen peroxide, peroxyacetic acid and acetic acid. In addition, a bleaching agent.
DIS3	35% H ₂ O ₂	HOO ⁻	7.5	Basically a bleaching agent containing a solution of hydrogen peroxide with disinfection properties.

Zdroj:

Fijan S., Šostar-Turk S.; Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles. FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe 2010, Vol. 18, No. 1 (78) pp. 89-92. 89 Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles [online]. University of Maribor, 2010

Prvním z nich jest desinfekční a bělicí prostředek na bázi chlornanu sodného, pojmenován jako DIS1. NaClO je nejčastěji používaným desinfekčním prostředkem. Účinnou sloučeninou je chlornanový aniont ClO⁻, vyskytující se v dynamické acidobazické rovnováze s převahou kyseliny chlorné při pH 6-8. NaClO je v relativně nízkých koncentracích účinný proti všem bakteriím, plísním, virům a dokonce i sporám (Zoller, 1999). Druhým je desinfekční a bělicí prostředek sestávající z kyseliny peroxyoctové (CH₃COOOH) v peroxidu vodíku (H₂O₂) označen jako DIS2. Kyselina peroxyoctová je vždy v dynamické chemické rovnováze s peroxidem vodíku, kyselinou octovou a vodou. Baktericidní aktivita je způsobena velmi silnou oxidační silou kyseliny peroxyoctové, která způsobuje destruktivní změny buněčných enzymů a dalších buněčných složek. Je velmi účinný proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím, sporám a plísním (Zoller, 1999).

Jako třetí desinfekční prostředek byl vybrán peroxid vodíku, jež je v podstatě spíše bělicím prostředkem, však hojně používá i k dezinfekci, tento označily jako DIS3. H₂O₂ je méně aktivní než chlornan a nemá žádný nebo jen malý účinek na viry a spory. Některé bakterie vylučující katalázu mohou deaktivovat peroxid vodíku pomocí tohoto enzymu, který katalyzuje přeměnu peroxidu vodíku na vodu a molekulární kyslík. Větší účinek má proto v kombinaci s dalšími účinnými látkami (Zoller, 1999).

2.4 Výběr pracího stroje a popis dezinfekční procedury

Slovinky použily pro své experimenty malou laboratorní průmyslovou bubnovou pračku (Gorenje Prological WA 132). Použitý prací program je uveden v tabulce 2:

Tabulka 2: Popis zkoumaných částí pracího programu pro citlivé směsi při nízkých teplotách; a MW - hlavní praní, R^b - oplachovací fáze, NDIS - nepoužito dezinfekční činidlo, pouze prací prostředek:

Program at 30 °C	Dosage, mL of DISx	Duration of test, min.	Mark
Completed MW ^a (8 L) & R ^b (3 x 9 L)	10 DIS1	81	DIS1 81
	12.5 DIS2		DIS2 81
	7.5 DIS3		DIS3 81
Completed 43 min of MW (8 L)	10 DIS1	43	DIS1 43
	12.5 DIS2		DIS2 43
	7.5 DIS3		DIS3 43
	–		NDIS 43 ^c
First 20 min of MW (8 L)	10 DIS1	20	DIS1 20
	12.5 DIS2		DIS2 20
	7.5 DIS3		DIS3 20
First 10 min of MW (8 L)	10 DIS1	10	DIS1 10
	12.5 DIS2		DIS2 10
	7.5 DIS3		DIS3 10

Zdroj:

Fijan S., Šostar-Turk S.; Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles. FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe 2010, Vol. 18, No. 1 (78) pp. 89-92. 89 Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles [online]. University of Maribor, 2010

Byl zvolen prací program pro syntetické směsi při různých teplotách. Náplň tohoto programu byla 1,0 kg, celková spotřeba vody 35 l (hlavní praní 8 l, 3× oplachování 9 l), spotřeba energie 0,43 kWh a poměr lázně při hlavním praní byl 1:8. Celkový prací program při 30 °C trval 81 minut (hlavní praní 43 minut, oplachování 38 minut). Voda pro hlavní praní (8 l) byla ohřívána na 30 °C pomocí bojleru připojeného k pračce. Voda byla předem změkčena ve změkčovacích stanicích (WAK 10-KMN-1, Hidrotehniční biro, sp., Maribor, Slovinsko).

Kousky bavlny s vysušenými mikroorganismy byly vyprány podle příslušného programu a vyjmuty v různých intervalech uvedených v tabulce 2. Bioindikátory byly z pračky vyjmuty před oplachem, aby bylo možné vyhodnotit dezinfekční účinek, protože oplach by způsobil, že by se bakterie z nosičů spláchly a nenašly by se tak na nosičích; to by však neprokázalo dezinfekční účinek (Fijan a spol., 2007).

Pro všechny prací programy byl zvolen jeden komerční prací prostředek s následujícím složením: 2,5 % lauryléter sulfátu sodného, 2,5 % isopropanolu, 3 % etoxylátu mastného alkoholu, 1,5 % hydroxidu sodného. Bylo použito 10 g pracího prostředku na 2,5 kg suchého prádla. Do pračky bylo vloženo 2,5 kg předem dezinfikovaného (10 min při 90 °C) zátěžového prádla (směs bavlna/PES v poměru 1:1) (Fijan a spol., 2007).

2.5 Analýza desinfekčního efektu praní

Po každé proceduře byly kousky bavlny vyjmuty a vloženy do 20 ml sterilního fyziologického roztoku (0,9 %) s Tweenem 80 a promíchány, aby se z kousků bavlny uvolnily mikroorganismy (Fijan a spol., 2007).

Počty mikroorganismů byly stanoveny sériovým ředěním a nanesením na selektivní agary takto: (1) agar kanamycin-eskulinazid byl použit pro stanovení počtu kolonií *E. faecium* po inkubaci při 37 °C po dobu 48 h; (2) agar VRBD byl použit pro stanovení počtu kolonií *E. aerogenes* po inkubaci při 37 °C po dobu 24 h (Fijan a spol., 2007).

Průměrný počet kolonií (CFU) po inkubačních dobách byl použit pro stanovení procenta inaktivovaných mikroorganismů (PIM) po pracích postupech a byla vypočítána účinnost řádové redukce počtů po praní (RED). Tyto hodnoty se vypočítají podle následujících rovnic (Fijan a spol., 2007):

$$RED = \log \frac{CFU_b}{CFU_a}$$

$$PIM = -\frac{CFU_b - CFU_a}{CFU_b} * 100$$

Kde: RED = redukční účinnost po praní
CFU_b = Počet jednotek tvořících kolonie na bavlněných kouscích před praním
CFU_a = Počet jednotek tvořících kolonie na bavlněných kouscích po praní
PIM = Procento inaktivovaných mikroorganismů [%].

Každý experiment byl proveden třikrát. (Fijan a spol., 2007)

2.6 Výsledky a diskuse

Výsledky pro vybrané bakterie (*Enterococcus faecium* a *Enterobacter aerogenes*) jsou uvedeny v tabulce 3. Pro připomenutí uvádím, že byly použity tři dezinfekční prostředky: DIS1 - chlorečnan sodný, DIS2 - směs kyseliny peroxyoctové a peroxidu vodíku, kyseliny octové a vody a DIS3 - pouze peroxid vodíku. Použité dávky se běžně používají v průmyslových prádelnách (nižší dávky by způsobily nedostatečné odstranění skvrn, zatímco vyšší dávky by způsobily nadměrné poškození textilií). Z výsledků uvedených v tabulce 3 je zřejmé, že po dokončení zvoleného programu při 30 °C u citlivých směsí při nízkých teplotách (81 min) nepřežila žádná bakterie, avšak po dokončení hlavního praní a před fází máchání (po 43 min) se podařilo kultuře *E. faecium* přežít v případě, že nebyl použit žádný dezinfekční prostředek (NDIS) a když byly použity dva ze tří vybraných dezinfekčních prostředků: peroxid vodíku (DIS3) a chlornan sodný (DIS1). Hlavní mycí fáze tedy nedokázala inaktivovat všechny bakterie, a proto u těchto dvou dezinfekčních prostředků nebylo dosaženo požadovaného dezinfekčního účinku (Fijan a spol., 2007).

Tabulka 3: Výsledky přežívání vybraných bakterií po praní s použitím různých dezinfekčních prostředků a PIM procento inaktivovaných mikroorganismů, RED řádová redukce počtů po praní:

Mark		<i>E. faecium</i>		<i>E. aerogenes</i>	
		PIM ^a ,%	RED ^b	PIM,%	RED
30 °C MW & R 81 min	DIS1 81	100.000	> 7.28	100.000	> 7.66
	DIS2 81	100.000	> 7.28	100.000	> 7.66
	DIS3 81	100.000	> 7.28	100.000	> 7.66
30 °C MW 43 min	DIS1 43	99.9858	3.85	100.000	> 7.66
	DIS2 43	100.000	> 7.28	100.000	> 7.66
	DIS3 43	99.9995	5.28	100.000	> 7.66
	NDIS 43	99.9842	3.80	100.000	> 7.66
30 °C MW 20 min	DIS1 20	99.2632	2.13	99.9999	6.09
	DIS2 20	99.9996	5.36	100.000	> 7.66
	DIS3 20	99.7632	2.63	99.9999	6.30
30 °C MW 10 min	DIS1 10	97.7844	1.33	99.9953	4.33
	DIS2 10	99.9935	4.18	99.9989	4.98
	DIS3 10	98.8263	1.93	99.9326	3.17

Zdroj:

Fijan S., Šostar-Turk S.; Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles. FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe 2010, Vol. 18, No. 1 (78) pp. 89-92. 89 Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles [online]. University of Maribor, 2010

Ve fázi oplachování po hlavní mycí fázi (81 min) nebyly detekovány žádné přežívající bakterie, čímž bylo dosaženo 100 % PIM po dokončení postupu. Naproti tomu při postupu s použitím kombinace kyseliny peroxyoctové a peroxidu vodíku (DIS2) bylo dosaženo dezinfekčního účinku pro *E. faecium* již po 43 min hlavního mytí. *E. faecium* také vykazovala mírně nižší výsledky PIM pro DIS1 (chlornan sodný) po 10 a 20 min hlavního mytí ve srovnání s DIS3 (peroxid vodíku), což je dle autorek způsobeno tím, že se jedná o kataláza - negativní bakterii, která nemůže produkovat enzym k inaktivaci peroxidu vodíku. Na druhou stranu bylo zjištěno, že *E. faecium* je rezistentní vůči chlornanu sodnému (Kerns a spol., 1995). *E. faecium* se také jeví jako odolnější z vybraných bakterií, protože *E. aerogenes* nepřežila žádný postup po 43 minutách hlavního praní, přestože *E. aerogenes* přežila po všech zkoumaných postupech hlavního praní po 10 minutách s poněkud vyššími výsledky pro PIM s použitím chlornanu sodného (DIS1) ve srovnání s výsledky pro peroxid vodíku (DIS3), což je možné proto, že může produkovat enzym katalázu, která inaktivuje omezenou koncentraci peroxidu vodíku. Je třeba také poznamenat, že stupnice PIM všech výsledků vypadají velmi podobně, protože všechny jsou vyšší než 97,7 %; nicméně porovnáním výsledků podle řádová stupnice RED lze pozorovat, že ve skutečnosti existují rozdíly: Například pokud je počáteční počet mikroorganismů 10^7 , pak PIM 99,000 % znamená redukci RED 2 neboli přežití 10^5 CFU; PIM 99,900 % znamená redukci RED 3 nebo přežití 10^4 CFU; PIM 99,990 % znamená redukci RED 4 nebo přežití 10^3 CFU a PIM 99,999 % znamená redukci RED 5 nebo přežití pouze 100 CFU. To se projeví zejména v případě testování MW po dobu 43 minut pro *E. faecium*. Z výsledků je patrné, že redukce RED byla 3,8 pro test bez dezinfekčního prostředku, zatímco všechny ostatní výsledky mají mnohem vyšší RED: V případě DIS2 byla dosažena redukce $>7,28$ a v případě DIS3 5,28, čímž bylo dosaženo dezinfekčního účinku podle předpisů Institutu Roberta Kocha, jež udává, že jest dezinfekčního účinku dosaženo, pokud je úroveň RED vyšší než 5. Jedinou výjimkou je DIS1, který obsahuje chlornan sodný a bylo zjištěno, že *E. faecium* je vůči chlornanu sodnému rezistentní (Kerns a spol., 1995).

Bylo také zaznamenáno, že *E. faecium* může přežít praní při teplotě až 60 °C (Fijan a spol., 2007) a dokonce i záhřevu trvajícím 1 min při teplotě až 85 °C (Kerns, 1995) a že *E. aerogenes* může přežít praní při teplotě až 60 °C (Fijan a spol., 2007). Ve slovinském výzkumu byl však v hlavní fázi praní použit vyšší poměr lázně (1:8) ve srovnání s výzkumem provedeným Fijanem a spol., 2007, kde byl poměr lázně pouze 1:3.

Další vliv na výsledky mělo kromě použití dezinfekčních prostředků také samotné použití bubnové pračky s vyšším mechanickým účinkem, čímž se dosáhlo vyšších výsledků PIM na bavlněných kusech díky kombinaci mechanického odstraňování a přenosu do vodního prostředí při nižších teplotách. Všechny nečistoty (včetně bakterií a jiných mikroorganismů) byly z prádla odstraněny a inaktivovány kombinací následujících postupů: (1) inaktivace dezinfekčními prostředky, (2) mechanické odstranění z prádla do lázně působením pracích prostředků a mechanickým působením pračky a (3) delší doba praní, jež způsobuje vyšší míru odstranění a inaktivaci mikroorganismů dezinfekčními prostředky. Silnější mechanické působení, nižší zatížení média lázně prádlem a delší doba trvání pracích postupů vede k úspěšnému odstranění bakterií z prádla, čímž se dosáhne vyšších hodnot inaktivace při nižších teplotách spolu s účinkem dezinfekce. (Fijan a spol., 2007)

2.7 Závěr

Z výsledků lze vyvodit závěr, že neúčinnějším dezinfekčním prostředkem použitým při nižších teplotách jest kombinace kyseliny peroxyoctové a peroxidu vodíku, jež dosahovaly lepších výsledků mikrobiální inaktivace ve srovnání s dalšími dvěma použitými dezinfekčními prostředky. Při použití nižších teplot praní je však třeba dbát zvýšené opatrnosti, aby doba praní byla dostatečně dlouhá a použit vhodné poměry lázně a mechanické působení, jinak by některé mikroorganismy mohly prací postupy přežít. (Fijan a spol., 2007)

3 VIRUCIDNÍ ÚČINNOST DESINFEKCE POMOCÍ PAR PEROXIDU VODÍKU

Tuladhar a kol. z laboratoře pro infekční nemoci a screening v Nizozemí považují virovou kontaminaci povrchů za důležitý faktor přenosu. Chemická dezinfekce může být účinným prostředkem zásahu, ale o virucidní účinnosti par peroxidu vodíku (HPV) proti enterickým a respiračním virům je známo jen málo. Jejich cílem bylo změřit virucidní účinnost HPV proti respiračním a enterickým virům na materiálech, které se vyskytují v institucích a domácnostech. (Tulandhar a kol., 2011)

Tuladhar a kol. z laboratoře pro infekční nemoci a screening v Nizozemí pro svůj experiment použili následující vzorky: Poliovirus, lidský norovirus genové skupiny II.4 (GII.4), myší norovirus 1, rotavirus, adenovirus a chřipku A (H1N1). Virucidní účinek byl měřen porovnáním obnovitelných virových titrů s referentními vzorky, jež nebyly exponovány parám H_2O_2 . (Tulandhar a kol., 2011)

Dezinfekce HPV vedla k úplné inaktivaci všech testovaných virů, charakterizované snížením infekčních částic o více než čtyři řády u polioviru, rotaviru, adenoviru a dalších virů a myšího noroviru na nerezové oceli. (Tulandhar a kol., 2011)

Z experimentu vyplývá, že by HPV mohl být účinným virucidním prostředkem proti enterickým a respiračním virům. kontaminujícím vnitřní prostředí. (Tulandhar a kol., 2011)

4 VIRUCIDNÍ ÚČINNOST KYSELINY PEROXYOCTOVÉ PŘI DEZINFEKCI NÁSTROJŮ

Na trhu existují různé produkty na bázi kyseliny peroxyoctové (PAA) určené ke zpracování flexibilních endoskopů. Jsou často založeny na dvousložkovém systému, který zahrnuje čisticí krok před přidáním PAA jakožto dezinfekčního prostředku. Koncentrace kyseliny peroxyoctové v těchto přípravcích od různých výrobců se pohybují od 400 do 1500 ppm. Tyto přípravky se používají při teplotách mezi 20 °C a 37 °C. Vzhledem k tomu, že chybějí informace o vlastnostech kyseliny peroxyoctové při různých koncentracích a teplotách, které by virus inaktivovaly, bylo cílem studie B. Beckové a kol. vyhodnotit roztoky kyseliny peroxyoctové proti testovaným virům pomocí kvantitativního suspenzního testu podle normy EN 14476. Kromě toho byly provedeny další studie s nedávno zavedenou evropskou přednormou (prEN 17111:2017) popisující test na nosičích pro simulaci praktických podmínek s použitím matného skla. (Becker a kol., 2017)

4.1 Metody

V prvním kroku zkoumání byly testovány různé roztoky PAA v rozmezí 400 až 1500 ppm při 20 °C, 25 °C a 35 °C se třemi testovacími viry (adenovirus, myší norovirus a poliovirus), které jsou nezbytné pro vytvoření virucidního účinku podle evropské normy EN 14476. Následoval druhý krok pro simulaci praktických podmínek podle normy prEN 17111:2017, kdy byl testovací virus spolu s půdním substrátem nanesen na skleněný nosič, který byl ponořen do roztoku kyseliny peroxyoctové. Při všech experimentech byla použita pevná doba expozice pět minut.

4.2 Výsledky

V kvantitativním testu suspenze bylo pro inaktivaci polioviru zapotřebí 1500 ppm roztoku PAA při 35 °C po dobu pěti minut, zatímco pro adenovirus a myší norovirus bylo zapotřebí pouze 400 ppm při 20 °C. V testu se skleněnými nosiči stačilo pro inaktivaci adenoviru 400 ppm kyseliny peroxyoctové při 20 °C, zatímco pro myší norovirus bylo zapotřebí 600 ppm PAA při 25 °C a 35 °C a 1000 ppm při 20 °C. Pro úplnou inaktivaci polioviru bylo zapotřebí roztoku PAA o koncentraci 1000 ppm při 35 °C. Po vysušení a ponoření však bylo možné pozorovat dramatický pokles titru. V důsledku toho nebylo možné v testu na nosičích dosáhnout snížení titru polioviru o čtyři řády.

4.3 Závěr

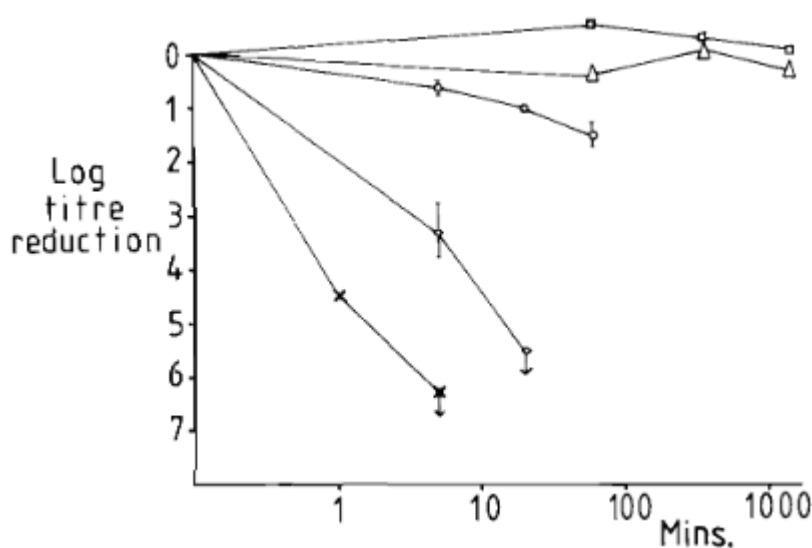
Souhrnně lze říci, že pro virucidní účinek v kvantitativním testu suspenze bylo zapotřebí 1500 ppm PAA při 35 °C. Autoři tvrdí, že po splnění požadavků suspenzní zkoušky následné testy s adenovirem a myším norovirem na skleněných nosičích na základě normy prEN 17111:2017 dodatečně nepřispějí ke konečnému tvrzení o virucidní účinnosti dezinfekčního prostředku na nástroje. Důvodem je velká stabilita polioviru v předcházející kvantitativní suspenzní zkoušce a skutečnost, že poliovirus nemůže sloužit jako zkušební virus další zkoušce na nosiči.

5 ÚČINKY TEPLoty NA PŘEŽITÍ ROTAVIRŮ V MODELOVÉ KOJENECKÉ VÝŽIVĚ

Wood a Adams z Mezinárodní asociace hygieniků mléka, potravin a životního prostředí zkoumali vliv teploty na přežívání rotaviru SA-11 v modelové kojenecké výživě. Vybraný rotavirus byl stabilní při teplotách odpovídajících tropickému prostředí a při hodnotách pH typických pro mléčně kvašené potraviny. Opičí rotavirus SA-11 dodala Škola biologických věd na Univerzitě v Surrey. Byly použity buňky linie MA-104 opičího embrya. (Burroughs Wellcome, Research Triangle Park, NC) a byly pěstovány na upraveném médiu 199 (Flow Laboratories, McLean, VA).

5.1 Výsledky

Na obrázku níže jest vyjádřena redukce titru rotaviru SA-11 zahřátého ve virovém růstovém médiu při pH 7,2. Kde $\square = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\triangle = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\circ = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\diamond = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $\times = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Obrázek 1: Vliv řádové redukce titru rotaviru SA-II na čase

Zdroj:

WOOD, G. a ADAMS M. Effects of acidification, bacterial fermentation, and temperature on the survival of rotavirus in a model weaning food. *Journal of Food Protection*, 55 [online]. 1992. Dostupné z: doi:10.4315/0362-028X-55.1.52

Při teplotách 30 a 40 °C byl virus stabilní po dobu nejméně 24 hodin. Při 50 °C nebyl pokles titru konstantní – klesl o jeden řád po dvaceti minutách a o jeden a půl řádu po hodině. Při vyšších teplotách byla inaktivace viru rychlá – při 60 °C došlo k redukci o 3,25 řádu za 5 minut a při 70 °C k redukci o 4,5 řádu za 1 minutu.

6 HYDROTERMÁLNÍ KARBONIZACE JEDNORÁZOVÝCH PLENEK

Odpadní pleny tvoří 1,7 % pevného komunálního odpadu. V současné době však neexistuje žádná účinná metoda zpracování, proto značná část použitých plenek končí na skládce. Budyk a Fullana z katedry chemického inženýrství na španělské univerzitě v Alicante přišli s revoluční metodou tzv. hydrotermální karbonizace (Benavente a kol., 2015). Hlavním cílem jejich studie bylo využití hydrotermální karbonizace (dále jen HTC) k odstranění vody – jež představuje více než 80 % celkové hmotnosti tohoto odpadu - z použitých plenek a výrobě karbonizátu s vysokou výhřevností. (Budyk a kol., 2019)

6.1 Složení a osud jednorázových plen v životním prostředí

Jednorázová plena je prostředek osobní hygieny určený k absorpci a zadržení moči a výkalů u osob s problémy s izolací, převážně tedy pro děti a seniory. Plenky se používají také v profesích, při jejichž výkonu mají pracovníci omezený přístup na toaletu, jako například potápěči nebo kosmonauti. Typické složení jednorázové vyjádřené v hmotnostních procentech jest následující: Celulózová buničina (37 %), super absorpční polymer (SAP, 31 %), polypropylen (PP, 16 %), nízko hustotní polyethylen (LDPE, 6 %) a ostatní (10 %) (Edana, 2008). Znečištěná plena obsahuje také moč a výkaly. Analýza odpadních nádob ukázala, že obsah výkalů je přibližně 192 g na jednu plenu, přičemž 18 % tvoří výkaly a 82 % moč (Environment Agency, 2022).

Typické dítě spotřebuje před zahájením pravidelných koupelí namísto užívání plenek přibližně 3800 plen, což předpokládá průměrně 4,16 plen na dítě a den (Edana, 2008). V Evropě vzniklo v roce 2007 více než 4 000 000 tun odpadu z jednorázových plen (Colón a kol., 2008). Téměř 69 % tohoto odpadu končí na skládkách, zatímco pouze 39 % má jiné určení, například kompostování a jiné (Eurostat, 2009). Vzhledem k vysokému obsahu organických látek a vody v použitých plenkách není skládkování a spalování žádoucí volbou. V literatuře (Colón a kol., 2008) byly popsány i další způsoby zpracování, včetně mechanicko-biologické úpravy, mechanické separace a recyklace, anaerobní digesce a kompostování. Tyto způsoby zpracování jsou však obvykle spojeny s vysokými náklady a složitými procesy.

6.2 Hydrotermální karbonizace

Hydrotermální karbonizace (HTC) neboli mokrá pyrolýza je nová technika zpracování vhodná pro odpadní biomasu s vysokým obsahem vlhkosti (Bonn a kol., 1983; Antal a kol., 1993). Hlavní výhodou tohoto procesu ve srovnání s tepelnou úpravou je, že voda zůstává v kapalném stavu, což vede k významným úsporám energie (Benavente a kol., 2015). Při HTC se surovina zahřívá na mírné teploty (180-300 °C) v uzavřeném reaktoru, kde dochází ke zvýšení tlaku v důsledku odpařování nízkého objemového podílu vody. Na rozdíl od konvenční pyrolýzy se voda vyskytuje v kapalném stavu, čímž se šetří energie na odpařování vody. Za těchto podmínek probíhají simultánní reakce: hydrolyza, dehydratace, dekarboxylace, aromatizace a rekondenzace, všechny v kapalně fázi. Výsledkem těchto reakcí je pevný uhlíkatý materiál, známý jako karbonizát. Díky tvorbě aromatických struktur získává výsledný materiál hydrofobní charakter a stabilitu vůči chemické oxidaci a mikrobiální degradaci (Russel a kol., 1983; Sevilla a kol., 2009; Hu a kol., 2010). Na konci HTC vzniká směs karbonizátu, kapaliny a plynu. Kapalná fáze se skládá převážně z vody a rozpustných organických produktů, zatímco plynná fáze se skládá z produktů, jako je oxid uhličitý, oxid uhelnatý, methan, ethan a propan, (Funke a kol., 2010; Berge a kol., 2011; Libra a kol., 2011). "Přibližně 75-80 % vstupního uhlíku se nachází v pevné fázi, asi 15-20 % je rozpuštěno v kapalně fázi a zbývajících 5 % se přemění na plyn (hlavně oxid uhličitý)." (Ramke a kol., 2009).

6.3 Charakterizace a využití karbonizátu

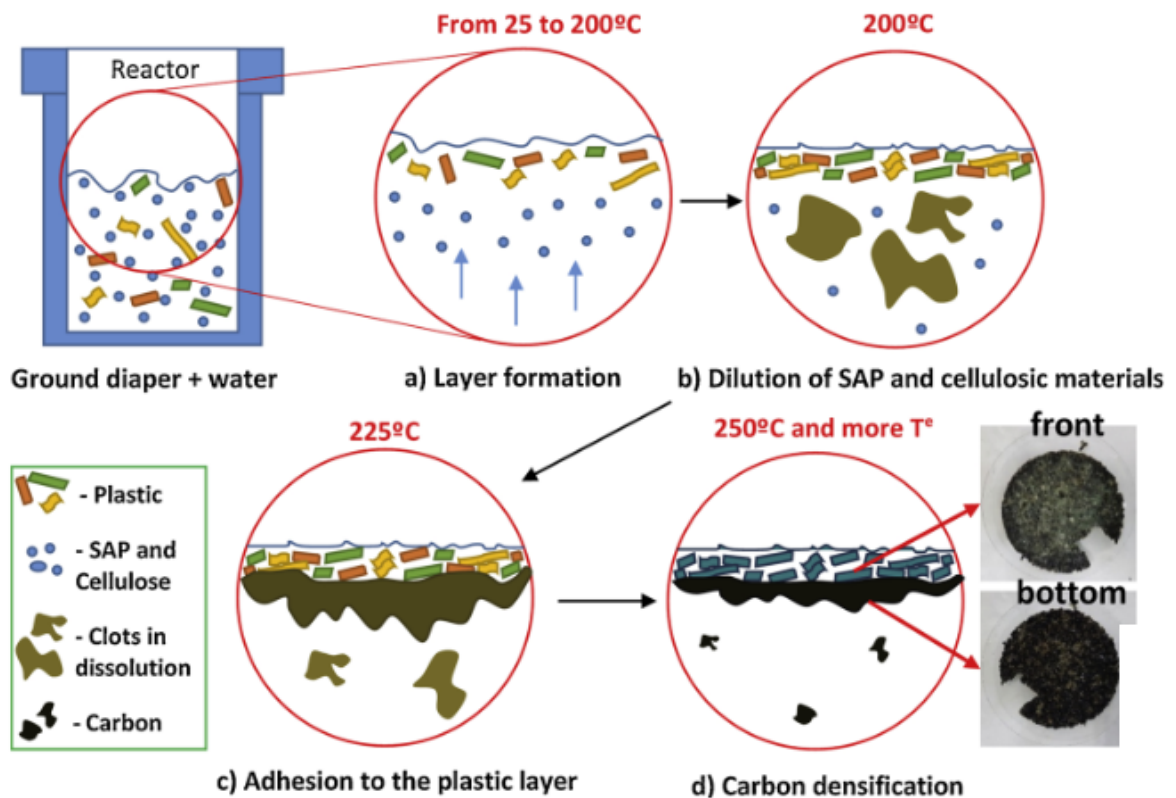
Zdá se, že nejrozšířenějším využitím karbonizátu je produkce energie.

Existují však i další aplikace, jako je například zachytávání uhlíku, využití v zemědělství či využití karbonizátu jako aktivní uhlí, čili jako adsorbent (Kambo a kol., 2015). Charakterizace karbonizátu je zde zaměřena na energetické aplikace.

Objem karbonizátu je nejméně 30krát menší než objem nasáklé pleny, a to díky vylepšeným odvodňovacím vlastnostem jež se upravují během HTC (Mursito a kol., 2015). Došlo k významnému snížení vlhkosti karbonizátu z 10 g na 0,7 g vody/g suché pleny po provedení HTC při 200 °C.

Vlhkost karbonizátu se snižuje s vyšší reakční teplotou, což lze vysvětlit tvorbou aromatických struktur s hydrofobními vlastnostmi (Sevilla a kol., 2009).

Z níže uvedeného schématu vyplývá, že HTC karbonizace je složitý proces, vyžadující vysoké náklady na energii.



Obrázek 2: Mechanismus tvorby karbonizátu

Zdroj:

BUDYK, Y. a A. FULLANA. Hydrothermal carbonization of disposable diapers. Journal of Environmental Chemical Engineering [online]. 2019, (7).
Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103341>

6.4 Výsledky

Experimenty byly prováděny po dobu 3 hodin při teplotách 200 až 300 °C. Výsledný plyn tvořil méně než 1 %, zatímco karbonizát a kapalná fáze tvořily přibližně 10%, potažmo 90 % celkové hmotnosti produktu. Analýzy ukázaly, že karbonizát má ve srovnání se suchou plenkou lepší vlastnosti, jako například lepší spalovací charakteristiky a vysoký obsah uhlíku. Charakteristika kapalné fáze ukázala významné zvýšení vodivosti (13-15 mS/cm), vysokou CHSK (46-52 g O₂/l) a neutrální pH. Poslední část experimentu byla zaměřena na realizaci HTC použitých plen simulovaných pomocí obsahu syntetické moči a výkalů. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly ve srovnání s karbonizátem z předchozích experimentů. Konduktivita a CHSK kapalné fáze se vyšplhaly na 41 mS/cm, resp. 100 g O₂/l. Jejich výzkum poskytuje užitečné informace pro návrh systémů HTC pro zpracování plenek (Budyk a kol., 2019).

7 CHEMICKÁ A TEPLTNÍ DESINFEKCE VÝZNAMNÝCH DRUHŮ A SKUPIN MIKROORGANISMŮ

Cílem našeho výzkumu bylo prozkoumání účinnosti desinfekčního praní dětských plen vůči vybraným skupinám bakterií, plísní a kvasinek, buď osídlujících střevní trakt člověka nebo mající biodeteriorační potenciál. Některé konkrétní pokusy proto byly provedeny se sbírkovými kmeny *Aspergillus niger* a *A. oryzae*, *Penicillium funiculosum*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Gliocladium virens* a *Rhizopus stolonifer*. Níže jsou uvedeny základní vlastnosti těchto druhů (Miniatlas mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně, Tvrzová a spol., 2006).

7.1 *Aspergillus niger*

Vytváří rychle rostoucí kolonie, nejlépe na Czapkově agaru s kvasničným extraktem (CYA) po 7 dnech při 25 °C dosahují průměrně 40-60 mm, mající drsný povrch, zbarvený hnědočerně až černě. Některé kmeny vytváří v agaru žlutavý pigment. Spodní strana kolonií bývá světlá nebo žlutá. Ideální teplota pro růst se pohybuje okolo 35-37 °C, minimum 6-8 °C a maximum 45-47 °C. Množí se nepohlavně pomocí konidií, které jsou kulovité nebo oválné, bradavčité, průměrně okolo 3,5-5 µm; teleomorfa není známa.

7.2 *Penicillium chrysogenum*

Kolonie poměrně rychle rostoucí, na CYA po 7 dnech při 25 °C mající průměrně 30-45, typicky sametové, s radiálními rýhami, bílým až béžovým myceliálním okrajem, s modrozeleně či žlutozeleně zbarvenou sporulující částí a žlutými kapičkami exudátu. Podobně jako *Aspergillus niger* produkuje do média často žlutý pigment, spodní strana kolonií má světle béžovou až žlutohnědou barvu. Optimum má kolem 23 °C, minimum 4 °C a maximum 37 °C.

7.3 *Gliocladium virens*

Většina druhů *Gliocladium* narůstají v kultuře rychle a vytváří šířící se kolonie s vatovitou strukturou, jež pokryjí celou Petriho misku za týden. Kolonie jsou zpočátku bílé a krémové, ale jak stárnou a sporulují, mohou nabývat načervenalých či zelenavých barev.

Konidie mají jednobuněčné a válcovité, hromadí se v kapkách slizu na koncích fialid, jež často splývají přes vrchol celého konidioforu. Tato vlastnost je v kontrastu se suchými konidii nesenými ve vytrvalých řetězcích, jež charakterizují příslušníky rodu *Penicillium*.

7.4 *Rhizopus stolonifer*

Jedná se o rychleji rostoucí kolonie, na sladidlovém agaru po 3-4 dnech při 25 °C porůstají celou Petriho misku, mají světlé vyšší mycelium s malými černými sporangii na okrajích misky. Spodní strana nezbarvena. Životní optimum při 25-26°C, minimum okolo 5 °C a maximum pak při 32-33 °C.

7.5 *Bacillus subtilis*

Jedná se o pohyblivou, aerobní grampozitivní bakterii, tvarově se vyskytuje ve formě tyček v řetězcích, spóry nezduřují buňku. Velikost buňky má rozměry přibližně 2-3 x 0,7-0,8 μm. Živí se chemoorganotrofně, hydrolyzuje želatinu, škrob a eskulin, redukuje nitráty. Optimální kultivační teplota je 30 °C, maximum pak 55 °C. Vyskytuje se v půdě, vodě i potravinách.

7.6 *Escherichia coli*

Jedná se o fakultativně anaerobní gramnegativní bakterie, tvarově se vyskytující ve formě rovných tyček, jednotlivých nebo ve dvou, nesporulující. Velikost buňky má rozměry přibližně 2,0-6,0 x 1,1-1,5 μm. Živí se chemoorganotrofně, především laktózou. Na MacConkeyově agaru a Endově agaru roste při optimální kultivační teplotě 37 °C v koloniích s růžovým zbarvením, jež právě indikuje rozklad laktózy. Na krevním agaru pak vyrůstá do šedavých kolonií. Dokáže hydrolyzovat želatinu, škrob a eskulin, redukovat nitráty.

7.7 *Candida albicans*

C. albicans je aerobní a kultivačně nenáročná kvasinka s oválnými buňkami, někdy protáhlého tvaru, rostoucí v řetězcích. V Gramově barvení se barví pozitivně. Ke kultivaci se používá Sabouraudův agar a vyrůstá na něm do 48 hodin v krémovitých béžových, hebkých a vypouklých koloniích charakteristické vůně. Při růstu v nepříznivých podmínkách tvoří *C. albicans* rezistentní buňky - kulaté a tlustostěnné chlamyospory.

7.8 Enterokoky

Enterokoky (rod *Enterococcus*) představují rozsáhlý rod bakterií mléčného kvašení z kmene *Firmicutes*. Jedná se o grampozitivní koky, jež se často vyskytují v párech či krátkých řetězcích. Jsou fakultativně anaerobní. Rostou na selektivním Stanetz-Bartleyho agaru, na němž mají červenou barvu. Produkují želatinázu, adheziny a tvoří biofilm. Přítomnost enterokoků ve vodě je jedním z indikátorů znečištění vody fekáliemi a tato voda není vhodná k pití.

Enterokoky, například zástupce *Enterococcus faecalis*, tvoří přirozenou mikroflóru ve střevě. Jsou velmi odolné ke zvýšenému pH (8,5) a zvýšeným teplotám. Rovněž mají vysokou rezistenci k antibiotikům. Patří mezi tzv. podmíněné patogeny. Jsou původci infekcí močových a žlučových cest, gynekologických zánětů, pooperačních komplikací u operací dutiny břišní a podílí se na vzniku infekční endokarditidy.

8 PŘEŽÍVÁNÍ ENTEROKOKŮ PŘI ZPRACOVÁNÍ NEMOCNIČNÍHO PRÁDLA

Enterokoky jsou v současné době považovány za významné nemocniční patogeny a výskyt multirezistentních kmenů je znepokojující. Mají potenciál šířit se v rámci nemocnic i mezi nimi a v životním prostředí. Nedostatečně dekontaminované prádlo se podílelo již na několika epidemiích (Orr a kol.,1994). Je známo, že enterokoky jsou relativně termotolerantní, a několik laboratorních studií (Kearns a kol.,1995; Bradley a spol.,1996; Panagea a kol.,1996) prokázalo, že mnoho kmenů je schopno přežít minimální kombinace času a teploty doporučené v HSG(95)18. Nicméně jedna malá studie naznačila, že enterokoky nemusí být schopny přežít zpracování v provozní nemocniční prádelně (Wilcox a kol., 1995). Autoři této práce si kladli za cíl získání palety enterokokových izolátů pro stanovení termotolerance, použitelné k testování řady nemocničních prádelen. Rovněž chtěli zjistit, zda jsou specifikace ministerstva zdravotnictví vhodné pro dekontaminaci nemocničních prádla inokulovaného enterokoky a zda existuje korelace mezi termotolerancí kmenů enterokoků a jejich přežíváním během praní (Orr a kol.,2002).

8.1 Metody

Byla vytvořena sbírka 40 kmenů *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. Jednalo se o 19 klinických izolátů *E. faecalis* (EFA2-20) a 19 izolátů *E. faecium* (EFM2-20) a dvě typové kultury, *E. faecalis* NCTC 775 (EFA1) a *E. faecium* NCTC 7171 (EFM1). Všechny byly identifikovány podle metody Facklama a Collinse (Facklam, Collins, 1989) a byla u nich stanovena citlivost na vankomycin pomocí diskové difuzní metody (Ericsson a spol., 1971).

Pro každý izolát byla přes noc připravena bujónová kultura obsahující 10^8 až 10^9 CFU/ml ve sterilním infuzním bujónu z mozku a srdce (BHI) (Orr a kol.,2002).

Studie se dobrovolně zúčastnilo deset fungujících nemocničních prádelen v severním regionu (prádelny A až J). Všechny splňovaly požadavky HSG95(18) a běžné dezinfekční teploty a doby udržování pro každou prádelnu jsou uvedeny v tabulce 4 (Orr a kol.,2002).

Tabulka 4: Běžná doba/teplota dezinfekce pro deset nemocničních prádelen.

Laundry	Temperature (°C)	Time (min)
A	71	10
B	71	10
C	80	8
D	80	8.5
E	80	8.5
F	80	3.5
G	75	10
H	71	10
I	80	5
J	75	10

Zdroj: ORR, K.E., M.G. HOLLIDAY, A.L. JONES, I. ROBSON a J.D. PERRY. Survival of enterococci during hospital laundry processing. *Journal of Hospital Infection* [online]. Department of Microbiology, Freeman Hospital, Newcastle upon Tyne, UK, 2002.
Dostupné z: doi:10.1053/jhin.2001.1137

Každý testovaný izolát enterokoka byl kultivován na Columbia agaru doplněném 5 % koňské krve a inkubován na vzduchu při 37 °C. Následující den bylo náhodně vybráno pět jednotlivých kolonií a naočkováno do 40 ml sterilního bujónu BHI. Po aerobní inkubaci přes noc při 37 °C byl bujón odstředován a zbytek byl resuspendován ve zbývajících 2,5 ml. Alikvotní část tohoto inokula o objemu 600 µl byla umístěna na každý ze čtyř proužků sterilní bavlny (o velikosti 3x10 cm) a poté vloženy do sterilních univerzálních lahví s deseti mililitry BHI bujónu. Každá láhev byla poté 1 minutu třepána při vysokých otáčkách a 100 µl bujónu bylo naočkováno na misku krevního agaru. Všechny misky byly inkubovány 48 hodin při 37 °C na vzduchu a byly zaznamenány počty kolonií. (Orr a kol.,2002).

8.2 Výsledky

8.2.1 Termotolerance enterokoků

Studie britských kolegů ukázala, že některé kmeny enterokoků jsou relativně odolné vůči teplu; tři kmeny (EFA6, EFA20 a EFM15) byly schopny přežít při teplotě 65 °C po dobu 30 minut. Průměrné redukce počtu enterokoků přežívajících různé kombinace času a teploty jsou uvedeny v tabulce 5, zatímco tabulka 6 shrnuje řádovou redukci počtu enterokoků (redukční faktory \log_{10}) dosažené pro každý izolát po 10 min při 65 °C a 3 min při 71 °C. Ze 40 testovaných kmenů bylo dosaženo snížení celkových počtů o tři řády u 15 kmenů (osm

kmenů *E. faecalis* a sedm kmenů *E. faecium* po 3 min při 71 °C) a u dalších čtyř (jeden kmen *E. faecalis* a tři *E. faecium*) po 10 min při 65 °C. Snížení o pět řádů bylo dosaženo u dvou z 20 kmenů po 3 min při 71 °C (EFM8 a EFM20) a po 10 min při 65 °C (EFA10 a EFM20).

Tabulka 5: Průměrné hodnoty redukčních faktorů \log_{10} v jednotkách tvořících kolonie pro *E. faecalis* a *E. faecium* po vystavení různým časům / kombinacím teplot

Temperature (°C)	Time (min)						
	0	1	3	5	10	20	30
	<i>E. faecalis</i>		(N = 20)				
65	0	2.36	2.97	3.34	3.75	4.1386	4.594
71	0	2.95	3.3	3.93	4.42	4.6836	5.01
75	0	3.77	4.07	4.74	5.77	6.0863	6.363
80	0	4.19	5.73	6.35	6.78	7.1557	7.405
85	0	7.01	7.36	7.66	8.13	8.4045	8.558
	<i>E. faecium</i>		(N = 20)				
65	0	2.384	2.74	3.214	3.725	4.05	4.383
71	0	2.698	3.53	4.407	4.962	5.192	5.548
75	0	3.378	4.688	5.528	6.375	6.614	7.032
80	0	3.924	6.089	6.778	7.301	7.515	7.735
85	0	6.188	7.527	7.931	8.133	8.148	8.228

Zdroj: ORR, K.E., M.G. HOLLIDAY, A.L. JONES, I. ROBSON a J.D. PERRY. Survival of enterococci during hospital laundry processing. *Journal of Hospital Infection* [online]. Department of Microbiology, Freeman Hospital, Newcastle upon Tyne, UK, 2002. Dostupné z: doi:10.1053/jhin.2001.1137

Tabulka 6: Snížení řádového počtu enterokoků u izolátů po vystavení kombinacím času a teploty doporučených britskou směrnicí HSG(95)18

Isolate	Time/Temperature		Isolate	Time/Temperature	
	3 min/71°C	10 min/65°C		3 min/71°C	10 min/65°C
EFA 1	3.301	3.745	EFM 1	2.222	4.000
EFA 2	2.301	3.544	EFM 2	4.486	3.554
EFA 3	2.477	3.693	EFM 3	3.204	2.824
EFA 4	2.161	3.488	EFM 4	4.114	2.938
EFA 5	2.263	3.023	EFM 5	4.761	4.671
EFA 6	3.176	3.256	EFM 6	3.079	3.190
EFA 7	3.954	3.574	EFM 7	3.447	4.653
EFA 8	4.000	3.422	EFM 8	5.580	3.845
EFA 9	4.316	3.965	EFM 9	3.000	3.493
EFA 10	3.398	6.028	EFM 10	3.684	3.222
EFA 11	4.806	4.699	EFM 11	2.699	3.200
EFA 12	3.439	3.707	EFM 12	2.508	2.954
EFA 13	4.049	4.331	EFM 13	2.249	3.363
EFA 14	2.580	3.331	EFM 14	2.903	4.000
EFA 15	3.684	3.875	EFM 15	2.564	3.439
EFA 16	2.954	3.563	EFM 16	3.255	4.804
EFA 17	2.784	3.481	EFM 17	2.312	3.312
EFA 18	3.061	2.629	EFM 18	3.079	3.035
EFA 19	4.374	3.603	EFM 19	4.740	4.954
EFA 20	2.954	3.961	EFM 20	7.204	5.041

Zdroj: ORR, K.E., M.G. HOLLIDAY, A.L. JONES, I. ROBSON a J.D. PERRY. Survival of enterococci during hospital laundry processing. *Journal of Hospital Infection* [online]. Department of Microbiology, Freeman Hospital, Newcastle upon Tyne, UK, 2002. Dostupné z: doi:10.1053/jhin.2001.1137

8.2.2 Přežívání enterokoků v nemocničních prádelnách

Předběžné studie s použitím metody inokulovaných bavlněných proužků ukázaly, že po 20 hodinách při pokojové teplotě lze očekávat, že enterokoky z původního inokula budou po získání kultivační metodou sníženy v průměru o dva řády (Orr a kol.,2002).

Tabulka 7: Přežití 40 izolátů enterokoků po pracím cyklu v prádelně A

Isolate	Time-zero inoculum (cfu)	Log ₁₀ factor decrease after washing	Isolate	Time-zero inoculum (cfu)	Log ₁₀ factor decrease after washing
EFA 1	1.0×10 ⁷	> 5.00	EFM 1	2.6×10 ⁷	> 5.41
EFA 2	7.2×10 ⁷	7.86	EFM 2	3.34×10 ⁸	8.52
EFA 3	1.18×10 ⁸	> 6.07	EFM 3	1.48×10 ⁸	> 6.17
EFA 4	4.2×10 ⁷	> 5.62	EFM 4	2.04×10 ⁸	8.31
EFA 5	1.2×10 ⁷	> 5.08	EFM 5	1.24×10 ⁸	8.09
EFA 6	1.04×10 ⁸	8.02	EFM 6	1.96×10 ⁸	8.29
EFA 7	4.4×10 ⁷	7.64	EFM 7	5.0×10 ⁷	7.70
EFA 8	4.0×10 ⁷	7.60	EFM 8	1.14×10 ⁸	8.06
EFA 9	4.4×10 ⁷	> 5.64	EFM 9	2.0×10 ⁷	7.30
EFA 10	5.6×10 ⁷	> 5.75	EFM 10	1.4×10 ⁷	7.15
EFA 11	2.62×10 ⁸	> 6.41	EFM 11	9.8×10 ⁷	7.99
EFA 12	1.34×10 ⁸	8.13	EFM 12	1.8×10 ⁸	8.26
EFA 13	2.56×10 ⁸	> 6.41	EFM 13	1.68×10 ⁸	8.23
EFA 14	2.64×10 ⁸	> 6.42	EFM 14	1.34×10 ⁸	8.13
EFA 15	9.0×10 ⁷	> 5.95	EFM 15	7.4×10 ⁷	7.87
EFA 16	4.8×10 ⁷	> 5.68	EFM 16	2.16×10 ⁸	8.33
EFA 17	2.0×10 ⁸	> 6.30	EFM 17	1.08×10 ⁸	8.03
EFA 18	1.08×10 ⁸	> 6.03	EFM 18	1.52×10 ⁸	8.18
EFA 19	3.4×10 ⁷	> 5.53	EFM 19	2.96×10 ⁸	8.47
EFA 20	2.8×10 ⁷	7.45	EFM 20	2.14×10 ⁸	8.33

Zdroj: ORR, K.E., M.G. HOLLIDAY, A.L. JONES, I. ROBSON a J.D. PERRY. Survival of enterococci during hospital laundry processing. *Journal of Hospital Infection* [online]. Department of Microbiology, Freeman Hospital, Newcastle upon Tyne, UK, 2002.

Dostupné z: doi:10.1053/jhin.2001.1137

Jak je patrné z tabulky 7, u izolátů *E. faecalis* (EFA) došlo ke snížení počtů minimálně o pět řádů a v případě *E. faecium* (EFM) minimálně o šest řádů (Orr a kol.,2002).

Níže jsou pro každý z 12 dále studovaných izolátů v tabulce 8 uvedeny průměrné hodnoty redukčních faktorů \log_{10} dosažené po vyprání v různých testovacích prádelnách. U každého izolátu bylo prokázáno průměrné snížení CFU o 6 řádů. (Orr a kol.,2002).

Tabulka 8: Průměrný redukční faktor \log_{10} v jednotkách tvořících kolonie enterokoků po pracím cyklu ve studovaných prádelnách

Isolate	Laundry									
	A	B	C	D	F	G	H	I	J	Average
EFA 18	> 6.03	–	–	7.34	7.56	8.20	7.34	7.73	7.73	7.4
EFA 2	7.86	7.40	7.38	7.26	7.68	7.76	6.30	7.76	7.76	7.5
EFA 3	> 6.07	7.68	8.18	7.48	7.70	8.19	7.45	7.30	7.30	7.5
EFA 4	> 5.62	> 5.48	7.72	6.78	6.30	7.08	6.90	6.60	6.60	6.6
EFA 5	> 5.08	> 5.64	6.60	6.78	7.15	7.26	6.30	7.34	7.34	6.6
EFA 6	8.02	> 6.00	7.83	7.15	7.34	8.08	7.53	7.62	7.62	7.5
EFM 1	> 5.41	> 5.78	8.66	7.56	7.96	8.20	7.64	7.99	7.99	7.5
EFM 2	8.52	8.18	8.15	8.30	8.38	8.65	8.33	8.09	8.09	8.3
EFM 3	> 6.17	> 5.78	7.30	7.26	> 5.45	8.23	7.92	8.06	8.06	7.1
EFM 4	8.31	> 6.08	7.68	7.51	7.94	8.42	7.56	8.54	8.54	7.8
EFM 6	8.09	7.90	6.30	7.20	7.87	8.27	7.76	8.16	8.16	7.7
EFM 12	8.29	8.08	7.58	7.34	> 5.26	8.40	7.68	7.87	7.87	7.6
Average	7.0	6.6	7.6	7.3	7.2	8.1	7.4	7.8	7.8	7.4

Zdroj: ORR, K.E., M.G. HOLLIDAY, A.L. JONES, I. ROBSON a J.D. PERRY. Survival of enterococci during hospital laundry processing. *Journal of Hospital Infection* [online]. Department of Microbiology, Freeman Hospital, Newcastle upon Tyne, UK, 2002.

Dostupné z: doi:10.1053/jhin.2001.1137

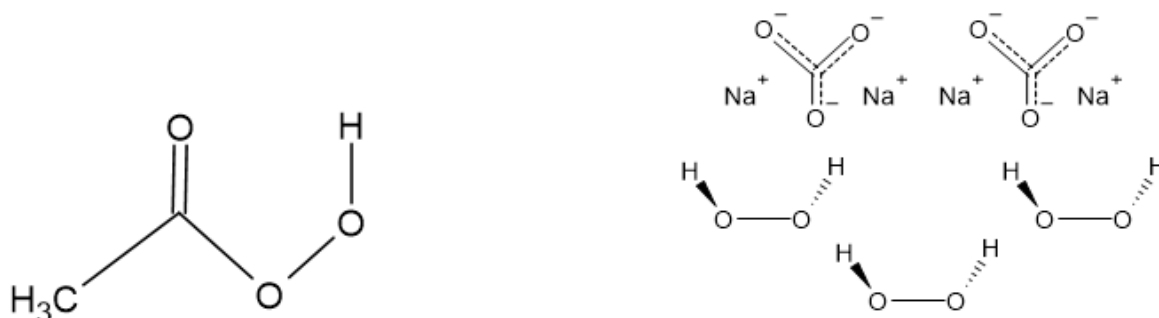
8.2.3 Závěr

Orr a kol. shledali – jak také ukázalo několik předešlých studií - že enterokoky jsou relativně termotolerantní a jsou schopny přežít určité kombinace času a teploty. Autoři porovnali skutečnou rezistenci enterokoků s údaji ve směrnici britského ministerstva zdravotnictví pro dekontaminaci použitého prádla HSG(95)18 (Orr a kol.,2002).

Nejprve stanovili termotoleranci 40 kmenů *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*. Během experimentální zkoušky 10 fungujících nemocničních prádelen však autoři prokázali úspěšnou dekontaminaci prádla uměle kontaminovaného enterokoky. Ukázalo se, že v reálných podmínkách k ní dochází již ve fázi praní. Jejich studie naznačuje, že navzdory relativní termotoleranci enterokoků by kombinace času a teploty uvedené ve směrnici HSG(95)18 měly být pro jejich dekontaminaci v nemocničních prádelnách dostatečné (Orr a kol.,2002).

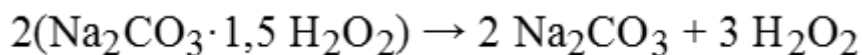
9 CHEMISMUS POUŽITÝCH DESINFICIENTŮ

Kyselina peroxyoctová je silným oxidačním činidlem, hubí mikroorganismy oxidací makromolekul buněčných membrán, což vede k jejich rozpadu a následné lýze buňky. Není deaktivována jejich katalázou ani peroxidázou. Rozpadá se na látky bezpečné pro potraviny i životní prostředí (kyselinu octovou a peroxid vodíku) a lze ji používat v širokém rozmezí teplot (0-40 °C) a pH (3,0-7,5) (Melicherčíková, 1989).



Obrázek 3: Vlevo chemická struktura kyseliny peroxyoctové, vpravo peruhličitan sodný

Peruhličitan sodný je rovněž oxidačním činidlem, byť slabším. Je-li rozpuštěn ve vodě (nad 60 °C) uvolňuje H_2O_2 a uhličitan sodný (vizte prosím rovnici č. 1). Oxidační látkou, zodpovědnou za destrukci mikroorganismů je tedy peroxid vodíku (Melicherčíková, 1989).



Obrázek 4: Rovnice hydrolýzy peruhličitanu sodného

10 ZKOUMÁNÍ PŮSOBENÍ KYSELINY PEROXYOCTOVÉ NA LIPIDOVOU SLOŽKU BAKTERIÁLNÍCH SPOR

Cílem výzkumu Nastajeviče a jeho kolegů z Bělehradského výzkumného ústavu bylo přispět k podrobnějšímu vhledu do mechanismu účinku peroxidových dezinfekčních prostředků na bázi peroxyoctové kyseliny (PAA) na lipidové části sporogenních forem mikroorganismů. Sporogenní formy jsou ve srovnání s vegetativními formami výrazně odolnější. Jako referenční bakteriální sporogenní kmeny použité ke zkoumání mechanismu působení PAA byly vybrány *Bacillus cereus* ATCC 11778 a *Bacillus subtilis* NCTC 10480. Po ošetření výše uvedených bakteriálních kmenů PAA byly z desinfikovaných a referenčních spor izolovány mastné kyseliny a analyzovány následné změny v lipidových částech buněk. Získané metylestery mastných kyselin (MEFA) byly analyzovány pomocí plynové chromatografie/hmotnostní spektrometrie (GC/MS) s použitím standardu bakteriálních MEFA. Výsledky potvrdily, že po ošetření došlo u *Bacillus cereus* k určitým kvantitativním změnám, které zahrnovaly snížení množství mastných kyselin s 16 a 17 atomy uhlíku, například 16:0, 16:1, iso 17:0 a anteiso 17:0. Současně u *B. subtilis* došlo k výraznému poklesu v množství mastných kyselin s 15 a 17 uhlíkovými atomy, například anteiso 15:0 a anteiso 17:0 (Nastajevič a kol., 2002).

10.1 Úvod

Kyselina peroxyctová (PAA), jejíž sporicidní účinek byl zkoumán, můžeme považovat za účinnější biocid než peroxid vodíku nebo chlor s ohledem na to, že vykazuje vynikající sporicidní, baktericidní, virucidní a fungicidní vlastnosti i při nízkých koncentracích <0,3 % (McDonnell a Russell, 1999).

V životním prostředí podléhá PAA rozkladu na bezpečné vedlejší produkty jako je kyselina octová a kyslík; další výhodou ve srovnání s peroxidem vodíku je to, že PAA nepodléhá procesu rozkladu působením katalázy ani peroxidázy. Princip působení PAA by mohl být založen na denuraci proteinů, například enzymů, přerušením sulfidových (-SH) a disulfidových (S-S) vazeb, čímž se dosáhne zvýšené permeability buněčné stěny a následným narušením buněk (McDonnell a Russell, 1999).

10.2 Metody a instrumentace

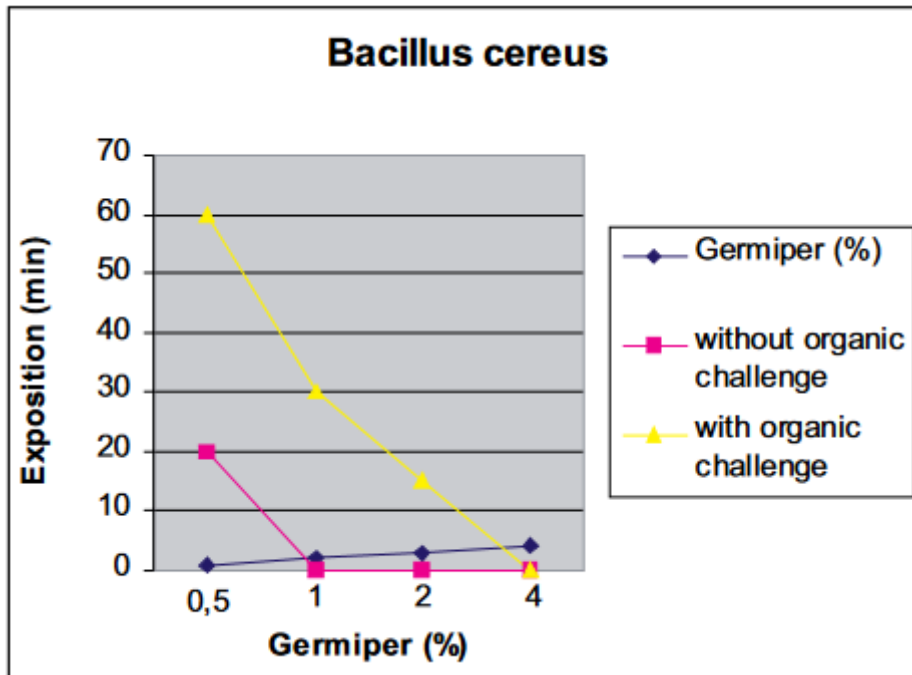
V pokusech pro hodnocení účinnosti peroxidových dezinfekčních prostředků (PAA) a extrakci mastných kyselin před a po ošetření PAA použili srbští kolegové bakteriální kmeny *B. subtilis* ATCC 11778 a *B. cereus* NCTC 10480. Jako dezinfekční prostředek byl použit produkt "Germiper" (výrobce: "NRK Inzenjering", Bělehrad). Tento biocid je roztok vody, kyseliny octové, peroxidu vodíku a kyseliny peroxyoctové. Jako živné médium použili defibrinovanou koňskou krev o koncentraci 3 g/l (Nastajevič a kol., 2002).

Složení mastných kyselin (FA) a (MEFA) bylo stanoveno kombinovanou metodou plynové chromatografie/hmotnostní spektrometrie (GC/MS). Plynové chromatogramy byly získány pomocí přístroje Varian 3400, na nepolární koloně DB-5 s detektorem FID při 300 °C. Hmotnostní spektra byla zaznamenána na přístroji Finnigan-Math, model 8230, využívající jak náraz elektronů (70 eV), tak chemickou ionizaci s *i*-butanem.

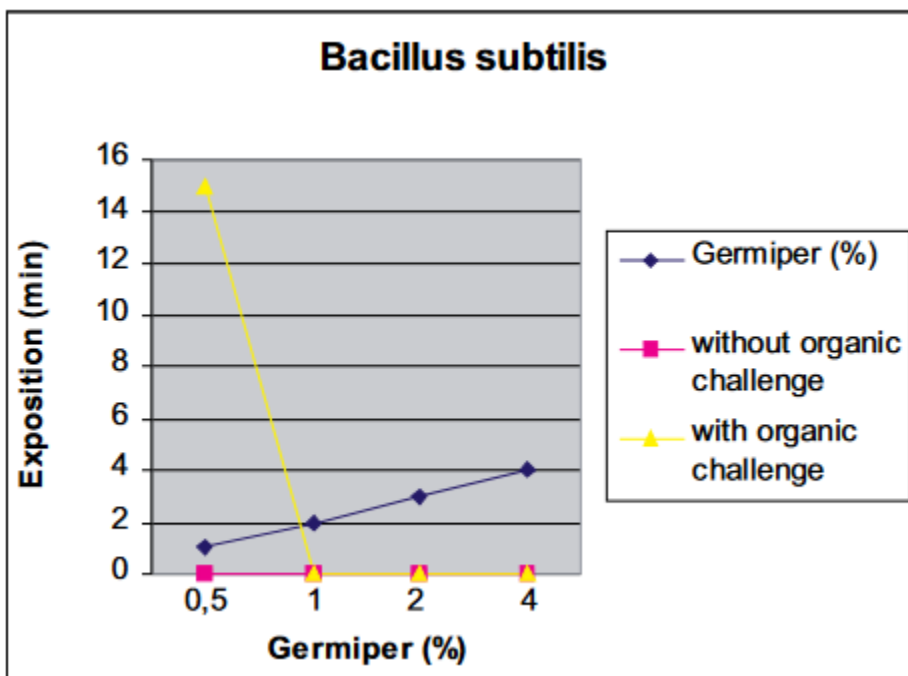
Data GC-MS byla analyzována pomocí programu AMDIS verze 2 za využití místní kompilační knihovny s 3833 spekter čítajících přibližně 1666 sloučenin (většinou terpenů) se zahrnutými retenčními (Kovatchovými) indexy. Retenční indexy byly kalibrovány pomocí série n-alkanů C₈H₁₈-C₂₄H₅₀ za stejných chromatografických podmínek, které byly použity pro analýzu (Stein, 1999).

10.3 Výsledky

Výsledky suspenzního testu (metoda ředění-neutralizace) ukázaly významně vyšší odolnost spor *Bacillus cereus* ve srovnání s *Bacillus subtilis*, kdy koncentrace 0,05 % a 0,1 % PAA (0,5 % a 1 % "Germiperu") po 60 min a 30 min byly účinné proti sporám *Bacillus cereus* a zároveň obě koncentrace byly účinné po 15 min (0,05 % PAA - 0,5 % "Germiper") a téměř okamžitě - (0,1 % PAA- 1 % "Germiper") proti sporám *Bacillus subtilis* (obrázky 5 a 6 níže).

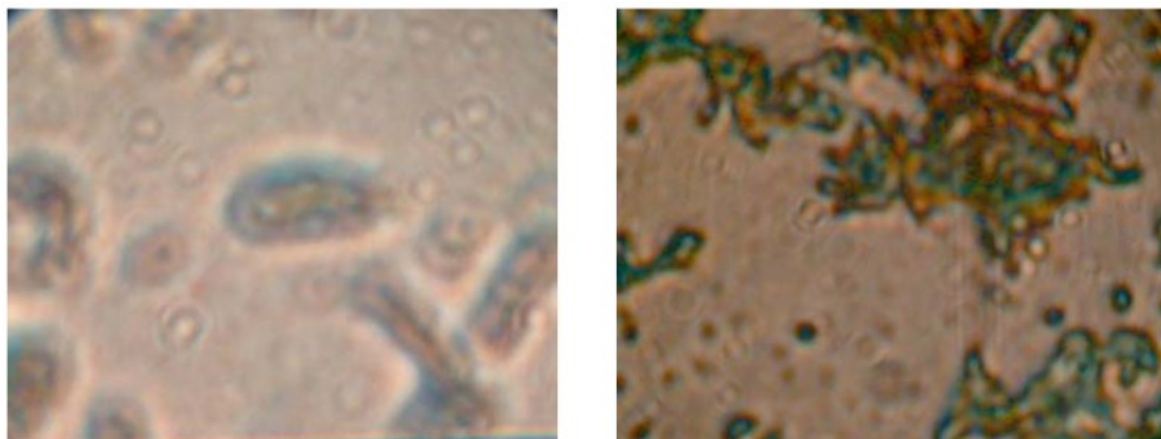


Obrázek 5: Vyhodnocení sporicidního účinku PAA na *Bacillus cereus* (počáteční počet buněk ve vzorku v inokule byl 4×10^5 v obou vzorcích)



Obrázek 6: Vyhodnocení sporicidního účinku PAA na *Bacillus subtilis* (počáteční počet buněk ve vzorku v inokule byl u obou vzorků 10^6)

Kromě toho také pořídili mikrofotografie spor *Bacillus cereus* a *Bacillus subtilis* před a po ošetření PAA. Bylo použito Schöefer-Fultonovo obarvení a zvětšení přibližně 1200x.



Obrázek 7: Vlevo spory *Bacillus subtilis* bez ošetření, vpravo spory *Bacillus subtilis* po ošetření, 1200x zvětšeno

Je zřejmé, že u obou bakteriálních kmenů převažují izo a anteizo rozvětvené mastné kyseliny a že tyto mastné kyseliny podléhají výše zmíněným kvantitativním změnám po ošetření PAA.

Výzkumy v oblasti průmyslové chemie (výroba polymerů) ukázaly, že v průměru 90 % dvojných vazeb je přeměněno na epoxidové skupiny (Petrovič et al., 2002). Potvrdilo se také, že PAA reaguje s roztoky, které obsahují dvojně vazby a může narušit chemiosmotickou funkci transportu přes lipoproteinovou cytoplazmatickou membránu z důvodu roztržení nebo dislokace buněčných stěn, což brání buněčné aktivitě (Baldry a Fraser, 1988).

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že potvrzené kvantitativní změny mastných kyselin ve sporách bakterií *B. cereus* a *B. subtilis* by mohly hrát určitou roli při modifikaci chemodynamiky, metabolismu a selektivní permeability buněčných membrán, což nepochybně usnadňuje pronikání testovaného biocidního přípravku (PAA) do nitra buňky a vyvolávají další destrukci životně důležitých buněčných struktur (Nastajevič a kol., 2002).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

11 MATERIÁL A METODIKA

11.1 Použité mikroorganismy

Pro některé pokusy, prováděné v rámci laboratorního ověřování desinfekčních prostředků, jsme použili následující čisté kultury mikroorganismů z České sbírky mikroorganismů:

Bacillus subtilis CCM 4062, *Escherichia coli* CCM 3954, *Staphylococcus aureus* CCM 3953, *Staphylococcus epidermidis* CCM 4418, *Enterococcus faecalis* CCM 1665, *Enterococcus faecalis* CCM 4224, *Candida albicans* CCM 8275, *Aspergillus niger* CCM 8155, *Aspergillus oryzae* CCM 41, *Penicillium funiculosum* CCM 8080, *Gliocladium virens* CCM 8042 a *Rhizopus stolonifer* CCM F-445.

Kromě nich jsme pracovali také s kulturami izolovanými v průběhu výzkumu z pokusné prádely, pracovně označenými jako *Bacillus* sp. 1 a *Bacillus* sp. 2 (izolovány v únoru 2019) a s kvasinkou FT1 (izolovanou z prostředí).

Sporulující kultury (*B. subtilis* CCM 4062, *Bacillus* sp. 1 a *Bacillus* sp. 2) byly před pokusy kultivovány jednak 5 dnů (pro získání spor), jednak 24 hodin.

11.2 Kultivace čistých kultur a indikátorových skupin mikroorganismů

Čisté kultury bakterií byly pěstovány na R2A agar (Himedia) při 30 – 37°C, zatímco kultury kvasinek a vláknitých mikroskopických hub na Sabouraudově agaru s chloramfenikolem (Himedia) při 23 – 25°C.

V pokusech prováděných v prádelně dětských plen byla účinnost desinfekce sledována stanovováním těchto indikátorových skupin mikroorganismů:

- Celkový počet aerobně rostoucích heterotrofních bakterií: kultivace na R2A agaru při 30°C, po dobu 7 dní.
- Celkový počet aerobně rostoucích sporulujících bakterií: po záhřevu vzorků 11 minut při 80°C byla provedena kultivace na R2A agaru při 30°C, po dobu 7 dní.
- Celkový počet anaerobních heterotrofních bakterií: kultivace na VL agaru při 37°C, anaerobní kultivace v anaerostatu za použití Anaerocultu A (Merck), po dobu 7 dní
- Celkový počet enterokoků: kultivace na Slanetz-Bartley agaru (SB, Himedia) při 37°C, po dobu 48 hodin

- Celkový počet koliformních bakterií: kultivace na Violet Red Bile agaru (VRB, Himedia), při 37°C, po dobu 24 hodin (počítány byly veškeré laktózo-pozitivní kolonie, tj. kolonie červených barev, či těch s červeným středem).
- Celkový počet bakterií rostoucích na VRB agaru: kultivace při 37°C, po dobu 72 hodin (počítány veškeré kolonie).
- Celkový počet kvasinek a vláknitých mikromycet: kultivace na Sabouraudově agaru s chloramfenikolem (SAB, Himedia), při 23 - 25°C, po dobu 7 dní.

Před očkovaním vzorků z prádely plen na pevná živná média byly jednotlivé vzorky vhodně ředěny desetinným ředěním ve sterilním fyziologickém roztoku (8,5 g NaCl/l) a teprve poté vyočkovány na povrch živných agarů, standardně v objemu 0,1 ml (výjimečně i 1 ml). Po rozetření inokul sterilními skleněnými hokejkami byly misky krátce odsušeny v laminárním boxu pro zbavení přebytečné vlhkosti a kultivovány při výše uvedených teplotách.

11.3 Postupy při laboratorních pokusech desinfekce

11.3.1 Pokusy s bakteriálními kulturami a kvasinkami

A) Příprava smíšené suspence mikroorganismů:

Z každé mikrobiální kultury byla připravena suspence ve sterilním fyziologickém roztoku, dle 1. stupně McFarlandovy stupnice (předpokládaná koncentrace buněk: $3 \cdot 10^8$ CFU/ml). 50 ml sterilního fyziologického roztoku bylo zředěno 50 ml sterilní destilované vody a zaočkováno 100 μ l každé suspence (vzniklo tak 101 ml vzorku o předpokládané koncentraci buněk $3 \cdot 10^6$ CFU/ml).

B) Ověření výchozího počtu bakterií a kvasinek:

Smíšená suspence mikroorganismů byla zředěna desetinným ředěním a několik ředění bylo vyočkováno na misky s R2A agarem (bakterie) a misky se SAB agarem (kvasinky). Pro ověření výchozího počtu bakteriálních spor byly vybrané ředící zkumavky ze stanovení výchozího počtu mikroorganismů zahřáty na 11 minut ve vodní lázni s 80°C a poté vyočkovány na misky s R2A agarem.

C) Příprava slepého vzorku:

50 ml sterilního fyziologického roztoku bylo zředěno 50 ml sterilní destilované vody.

D) Postup desinfekce a vyhodnocení:

V suspensi mikroorganismů byla rozpuštěna buďto navážka peruhličitanu sodného (2 g/l, tj. 200 mg na 100 ml) nebo objem 60,1 μ l 35%-tního Persterilu (odpovídající výrobcem doporučené dávce 0,7 g/l) a láhev byla umístěna do vodní lázně s teplotou 62 °C. Ve stejnou chvíli byla vložena do lázně i láhev se slepým vzorkem. S lahvemi bylo občasné mírně mícháno a postupně byla naměřena teplota slepého vzorku. Jakmile dosáhla 60 °C, byl měřen čas 10 minut a po jeho uplynutí byl ze suspence mikroorganismů odebrán vzorek 1 ml a ředěn desetinným ředěním. Totéž bylo zopakováno po dalších 10 minutách působení (tedy celkem po 20 minutách působení teploty 60 °C).

V obou vzorcích byl kultivačně stanoven počet bakterií na R2A agarech a kvasinek na SAB agaru a porovnán s výchozími počty.

11.3.2 Pokus s kulturami vláknitých mikroskopických hub

Postup byl analogický postupu s bakteriemi a kvasinkami, jako zkušební vzorek však byla připravena výchozí suspence spor vláknitých mikromycet (předpoklad koncentrace $5 \cdot 10^6$ CFU/ml).

11.4 Postupy při pokusech v pokusné prádelně plen

Při pokusech v prádelně plen byly stanovovány počty indikátorových mikroorganismů ve vzorcích z plen před praním a po něm. Pleny před praním byly vybrány náhodně z aktuální dávky připravené k praní, pleny po praní byly opět náhodně vybrány ihned po ukončení praní a otevření pračky; byly odebírány dokonale desinfikovanými rukavicemi.

Pro získání vzorků byly 2 ks plen umístěny do sterilního silnostěnného sáčku, zváženy a doplněny sterilním fyziologickým roztokem tak, aby celková hmotnost byla 780 g. Poté bylo 5 minut provedeno velmi intenzivní třepání a získaná tekutina byla odebrána sterilními stříkačkami (standardně 2 x 15 ml).

Po transportu vzorků do laboratoře byly vzorky ředěny a očkované na pevná média dle postupů uvedených výše.

V některých pokusech bylo analogicky sledováno i mikrobiální zastoupení plenkových obalů, před praním i po něm. V tomto případě jsme použili pro usnadnění získání vzorků fyziologický roztok s Tweenem 80. Důvodem byla snaha lépe uvolnit buňky bakterií z hydrofobního povrchu obalů plen při provádění výtřepu.

V některých pokusech byla použita odpadní voda z odtokové hadice, získaná po předpírce, jako alternativní způsob získání vzorku před desinfekčním praním.

Podmínky praní, použité prostředky a případné odchylky jsou uvedeny ve výsledkové části práce u jednotlivých pokusů.

Dávkování Persterilu a peruhličitanu sodného bylo vždy dohodnuto s provozovateli prádelny dětských plen, dávkování doplňkových přípravků (tenzidů) a přípravků pro praní plenkových obalů bylo určováno provozovateli prádelny.

11.5 Použité přístroje a pomůcky

Pro účely našeho výzkumu byla využita fakultní mikrobiologická laboratoř sestávající z autoklávů, termostatů, anaerostatů se soupravami Anaerocult A, laminárních boxů, předvážek, analytických vah, a nádob s vodní lázní.

Pro mikrobiologickou práci jsme využívali automatické dávkovače, sterilní špičky, sterilní zkumavky, zahnuté skleněné tyčinky a petriho misky.

12 VÝSLEDKY

Níže uvádím strukturalizovaný popis každého z šestnácti provedených pokusů, jež sestává z motivace a kýženého cíle daného pokusu, tabulky výsledků stanovení mikroorganismů a vysloveného závěru shrnujícího výstupy, klady a nedostatky provedeného pokusu.

První čtyři pokusy byly prováděny s laboratorními sbírkovými organismy a zbývající pak se vzorky získanými přímo v pokusné prádelně.

12.1 Pokus 1 a 2: Účinek desinfekce peruhličitanem a Persterilem (laborať)

Cíl pokusu:

Ověřit a vzájemně srovnat desinfekční účinnost peruhličitanu sodného a persterilu po 10 a 20 minutách působení při 60 °C vůči sbírkovým i získaným kulturám grampozitivních i gramnegativních bakterií a vůči patogenní kvasince *C. albicans*. K testování byly vybrány převážně odolné G+ bakterie (kombinace sporulující kultur a enterokoků). Počty bakterií ve vzorcích před desinfekcí a po ní jsou uvedeny v tabulce 9.

Tabulka 9: Počty bakterií před a po desinfekci peruhličitanem (PK) a persterilem (PS)

Vzorek	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
PK před desinfekcí	10 ⁻⁴	72	7,5*10 ⁵
	10 ⁻⁴	78	
PS před desinfekcí	10 ⁻⁴	54	4,7*10 ⁵
	10 ⁻⁴	40	
PK po desinfekci a 60°C, 10 minut	10 ⁻¹	322	3,6*10 ³
	10 ⁻¹	406	
PK po desinfekci a 60°C, 20 minut	10 ⁻¹	82	8,5*10 ²
	10 ⁻¹	88	
PS po desinfekci a 60°C, 10 minut	10 ⁻¹	0	< 10
	10 ⁻¹	0	
PS po desinfekci a 60°C, 20 minut	10 ⁻¹	0	< 10
	10 ⁻¹	0	

Závěr:

Provedli jsme dva pokusy desinfekcí při 60°C, a to peruhličitanem (koncentrace 2 g/l) a Persterilem (koncentrace 0,7 g/l), doba působení byla 10 a 20 minut po dosažení teploty 60°C. Z výchozího počtu bakterií, který byl u obou pokusů kolem 10⁵ CFU/ml, peruhličitan snížil po 20 minutách počet bakterií na 8,5.10² CFU/ml (tedy o cca tři řády), kdežto Persteril pod 10¹ CFU/ml, takže o čtyři až pět řádů; prakticky po působení Persterilu už nic na miskách nevyrostlo. Peruhličitan potřeboval skutečně 20 minut pro výše uvedený účinek, po pouhých 10 minutách byly počty přeživších bakterií přibližně o půl řádu vyšší. Persteril dosáhl výborného účinku již za deset minut.

Co se týká výsledků s kvasinkou *C. albicans*, počet buněk před desinfekcí byl v obou vzorcích 2.10⁵ CFU/ml a po provedení desinfekčních postupů nebyla ani v jednom případě nalezena jediná kolonie na SAB agarech s ředěním 10⁻¹; zde tedy oba postupy prokázaly shodnou účinnost.

12.2 Pokus 3: Účinek desinfekce peruhličitanem, Persterilem a teplotou (laboratoř)

Cíl pokusu:

Porovnat účinnost peruhličitanu a Persterilu vůči kvasinkám. Dodatečně byla vůči kvasinkám ověřena účinnost samotné teploty 60°C, na základě dobrých výsledků předchozích pokusů; pro ověření byl použit vzorek „PK před desinfekcí“.

Tabulka 10: Počty kvasinek před a po desinfekci peruhličitanem (PK), Persterilem (PS) a samotnou teplotou 60°C.

Vzorek	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
PK před desinfekcí	10 ⁻⁴	40	4,5*10 ⁵
	10 ⁻⁴	50	
PS před desinfekcí	10 ⁻⁴	65	6*10 ⁵
	10 ⁻⁴	55	
PK po desinfekci a 60°C, 10 minut	10 ⁻¹	0	< 10
	10 ⁻¹	0	
PK po desinfekci a 60°C, 20 minut	10 ⁻¹	0	< 10
	10 ⁻¹	0	
PS po desinfekci a 60°C, 10 minut	10 ⁻¹	0	< 10
	10 ⁻¹	0	
PS po desinfekci a 60°C, 20 minut	10 ⁻¹	0	< 10
	10 ⁻¹	0	
Před působením 60°C 20 minut	10 ⁻⁴	40	4,5*10 ⁵
	10 ⁻⁴	50	
Po působení 60°C 20 minut	10 ⁻¹	0	< 10
	10 ⁻¹	0	

Závěr:

Pokus dokázal, že kvasinky hynou již vlivem 20 minut při 60°C aniž by bylo nutné přidávat uvedené desinfekční látky. Z tohoto důvodu bylo v některých následných pokusech od stanovení kvasinek upuštěno.

12.3 Pokus 4 - Účinek peruhličitanu a Persterilu proti saprofytickým vláknitým houbám (laboratoř)

Cíl pokusu:

Porovnat účinnost peruhličitanu a Persterilu proti saprofytickým plísním. Pokus byl motivován možností, kdy by použité pleny „čekaly“ několik dní před praním a byly vystaveny případnému porůstání těmito mikroorganismy. Dodatečně byla vůči saprofytickým plísním ověřena i účinnost samotné teploty 60°C, analogicky s pokusem s kvasinkami výše.

Tabulka 11: Počty plísní před a po desinfekci peruhličitanem (PK), Persterilem (PS) a teplotou.

Vzorek	Ředění	Počet kolonií	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
PK před desinfekcí	10 ⁻⁴	3	10 ⁻⁵	0	3,5*10 ⁴
	10 ⁻⁴	4	10 ⁻⁵	0	
PS před desinfekcí	10 ⁻⁴	3	10 ⁻⁵	0	3,0*10 ⁴
	10 ⁻⁴	3	10 ⁻⁵	0	
PK po desinfekci a 60°C, 10 minut	10 ⁻¹	6	10 ⁻²	0	60
	10 ⁻¹	6	10 ⁻²	0	
PK po desinfekci a 60°C, 20 minut	10 ⁻¹	1	10 ⁻²	0	10
	10 ⁻¹	1	10 ⁻²	0	
PS po desinfekci a 60°C, 10 minut	10 ⁻¹	0	10 ⁻²	0	< 10
	10 ⁻¹	0	10 ⁻²	0	
PS po desinfekci a 60°C, 20 minut	10 ⁻¹	0	10 ⁻²	0	< 10
	10 ⁻¹	0	10 ⁻²	0	
PK jen po působení 60°C	10 ⁻¹	4	-	-	55
	10 ⁻¹	7	-	-	
PS jen po působení 60°C	10 ⁻¹	3	-	-	40
	10 ⁻¹	5	-	-	

Závěr:

Výsledky ukázaly, že Persteril má zcela spolehlivý desinfekční účinek vůči saprofytickým plísním. Desinfekce peruhličitanem i samotnou teplotou 60°C měla účinek o něco nižší, avšak také dosáhla výrazného snížení počtu saprofytických plísní.

12.4 Pokus 5: Účinek peruhličitanu na pleny (v prádelně)

Cíl pokusu:

Ověřit desinfekční účinnost peruhličitanu sodného při praní při 60°C v reálných podmínkách, a to jak vůči vybraným skupinám bakterií, tak vůči plísním (vláknitým mikromycetám) a kvasinkám.

Tabulka 12: Počty organismů před a po desinfekci peruhličitanem

Stanovení	Před praním			Po praní		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	1100 1200	1,2.10⁷	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	650 600	6,3.10³
CP aerob. sporul. bakterií	10 ⁻³ 10 ⁻³	400 500	4,5.10⁵	10 ⁰ 10 ⁰	2000 3000	2,5.10³
CP anaerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	600 500	5,5.10⁶	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	75 112	9,4.10²
Enterokoky	10 ⁻³ 10 ⁻³	350 400	3,8.10⁵	10 ⁰ 10 ⁰	4 6	5
Růst na VRB agaru *	10 ⁻³ 10 ⁻³	500 600	5,5.10⁵	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
Kvasinky	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	6 7	65	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1

* Na VRB agaru byly počítány všechny kolonie, neboť vzhledem k počtu a době odečtu nebylo možno barevně odlišit koliformní kolonie od ostatních.

Závěr:

Reálné praní s peruhličitanem snížilo celkové počty aerobních i anaerobních bakterií o více než 3 řády a počet sporulujících bakterií o 2 řády. Došlo k naprosté likvidaci gramnegativních bakterií rostoucích na VRB agaru a kvasinek, i když u těchto skupin lze předpokládat účinek samotné teploty praní (viz laboratorní výsledky). Velmi dramatický byl i pokles enterokoků. Plísně nebyly v pokusu zaznamenány vůbec.

12.5 Pokus 6: Účinek peruhličitanu na pleny (v prádelně, opakovaný)

Cíl pokusu:

Jednalo se o zopakování pokusu předchozího, nicméně s vyšším počet praných plenek (53 kusů oproti předchozím 43 kusům). Postup byl tedy analogický s postupem uvedeným v předchozí podkapitole s tím rozdílem, že nebyly stanovovány anaerobní bakterie.

Tabulka 13: Počty organismů před a po desinfekci peruhličitanem

Stanovení	Před praním			Po praní		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10^{-6} 10^{-6}	61 64	$6,3 \cdot 10^7$	10^{-2} 10^{-2}	400 500	$4,5 \cdot 10^4$
CP aerob. sporul. bakterií (SP)	10^{-4} 10^{-4}	82 74	$7,8 \cdot 10^5$	10^{-2} 10^{-2}	350 450	$4,0 \cdot 10^4$
Enterokoky	10^{-4} 10^{-4}	28 41	$3,5 \cdot 10^5$	10^0 10^0	0 1	< 1
VRB koliformní	10^{-5} 10^{-5}	83 102	$9,3 \cdot 10^6$	10^0 10^0	0 0	< 1
VRB vše	10^{-5} 10^{-5}	137 178	$1,6 \cdot 10^7$	10^0 10^0	0 0	< 1
Kvasinky	10^{-1} 10^{-1}	100 120	$1,1 \cdot 10^3$	10^0 10^0	0 0	< 1

Závěr:

Pokus potvrdil úplnou likvidaci koliformních bakterií, enterokoků i kvasinek (u kvasinek účinkem samotné teploty praní jak již bylo dokázáno ve třetím laboratorním pokusu). Zaznamenali jsme snížení celkového počtu aerobních bakterií o cca 3 řády, ale u počtu sporulujících bakterií pouze o něco více než o jeden řád. Pokusy v prádelně tak víceméně potvrdily výsledky pokusů s peruhličitanem v laboratoři.

12.6 Pokus 7: Účinek Persterilu na pleny (v prádelně)

Cíl pokusu:

Ověřit desinfekční účinnost Persterilu při praní při 60°C v reálných podmínkách, a to jak vůči vybraným skupinám bakterií a vůči plísním (vláknitým mikromycetám) a kvasinkám. Do praní byl použit 35% Persteril v objemu 30 ml. Porovnání výsledků s pokusem s peruhličitanem.

Tabulka 14: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem

Stanovení	Před praním			Po praní		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁷ 10 ⁻⁷	36 53	4,5.10⁸	10 ⁰ 10 ⁰	4 17	11
CP aerob. sporul. bakterií (SP)	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	106 117	1,1.10⁷	10 ⁰ 10 ⁰	0 2	1
CP anaerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁶ 10 ⁻⁶	611 630	6,2.10⁸	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
Enterokoky	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	350 430	3,9.10⁶	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
VRB koliformní	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	180 200	1,9.10⁷	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
VRB vše	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	400 500	4,5.10⁷	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
Kvasinky	10 ⁻² 10 ⁻²	147 151	1,5.10⁴	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1

Závěr:

Zaznamenali jsme výrazně lepší výsledky než s u pokusu s peruhličitanem – došlo k poklesu počtů všech stanovovaných skupin prakticky na nulu nebo na úroveň 10⁰ - 10¹ CFU/ml.

12.7 Pokus 8: Účinek Persterilu na pleny (v prádelně, opakovaný)

Cíl pokusu:

Jednalo se o zopakování pokusu předchozího, nicméně s výrazně vyšším počet praných plenek (73 kusů oproti předchozím 39 kusům). Postup byl tedy analogický s postupem uvedeným v předešlé podkapitole, stejně jako dávkování Persterilu.

Tabulka 15: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem

Stanovení	Před praním			Po praní		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁶ 10 ⁻⁶	97 105	1,0.10⁸	10 ⁰ 10 ⁰	244* 248*	2,5.10²
CP aerobních sporulujících bakterií (SP)	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	28 24	2,6.10⁶	10 ⁰ 10 ⁰	240 236	2,4.10²
CP anaerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁶ 10 ⁻⁶	124 142	1,3. 10⁸	10 ⁰ 10 ⁰	18 26	2,2.10¹
Enterokoky	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	355 391	3,7.10⁶	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
VRB koliformní	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	235 275	2,6.10⁷	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
VRB vše	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	420 512	4,7.10⁷	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
Kvasinky	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	6 8	7.10¹	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1

Závěr:

Opět jsme zaznamenali výrazně lepší výsledky než s peruhličitanem, leč ne tak markantní jako u předchozího pokusu, což je zřejmě dáno vysokým počtem plenek. Došlo k poklesu celkových počtů aerobních a anaerobních bakterií o 6 – 7 řádů, u sporulátů o 4 řády. Počty bakterií pod 10³ CFU/ml ve výtěpu po praní je možno považovat za plně přijatelný

výsledek. Při tomto pokusu byla navíc s provozovateli prádelny diskutována problematika vnějších obalů plenek, jejichž praní prozatím nebylo prováděno desinfekčně, což je zdůvodňováno tím, že obaly nejsou přímo vystaveny fekáliím. Po diskusi bylo rozhodnuto se tomuto problému rovněž věnovat v dalších pokusech.

12.8 Pokus 9: Účinnost termální desinfekce vnějších obalů před a po praní při 40°C (v prádelně)

Cíl pokusu:

Zjistit aktuální stav mikrobiálního zatížení vnějších obalů po běžném, nedesinfekčním praní, které bylo doposud v prádelně prováděno. Pro zjednodušení pokusu byl zredukován počet stanovovaných skupin mikroorganismů.

Tabulka 16: Počty organismů před a po praní vnějších obalů při 40°C

Stanovení	PŘED PRANÍM			PO PRANÍ		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁶ 10 ⁻⁶	165 183	1,7.10⁸	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	440 520	4,8.10⁶
Enterokoky	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	420 520	4,7.10⁶	10 ⁻² 10 ⁻²	165 210	1,9.10⁴
VRB koliformní*	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	550 590	5,7.10⁶	10 ⁻² 10 ⁻²	210 225	2,2.10⁴
VRB vše	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	860 920	8,9.10⁶	10 ⁻² 10 ⁻²	350 390	3,7.10⁴
Kvasinky	10 ⁻² 10 ⁻²	164 176	1,7.10⁴	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	34 42	3,8.10²
Plísně**	10 ⁻² 10 ⁻²	15 25	2,0.10³	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	64 70	6,7.10²

* Zaznamenána velká převaha *E. coli* (cca 90% z koliformních).

** Zaznamenáno několik typů kolonií (větší, střední a velmi drobné), pod mikroskopem vypadaly podobně - po 2 dnech kultivace viditelné pouze nesporující mycelium.

Závěr:

Pokus poukázal na absolutní nutnost prát desinfekčně i vnější obaly, neboť výsledky mikrobiálního zatížení vnějších obalů po praní byly zcela nepřijatelné.

Bylo rozhodnuto provést laboratorní pokusy intenzifikace desinfekčního účinku praní vnějších obalů, avšak bez použití Persterilu, jelikož by jeho účinky materiál obalů pravděpodobně nesnesl - obaly jsou z jiného materiálu než plenky samotné.

12.9 Pokus 10: Účinnost desinfekce peruhličitanem a TAED za přítomnosti kyseliny citronové, při 40°C (laboratoř)

Cíl pokusu:

Ověřit desinfekční účinek kombinace peruhličitan sodný a TAEDu při 40°C na sbírkové kultury mikroorganismů. TAED údajně zabezpečuje rozklad peruhličitanu při teplotách nižších než 60°C (Spencer-Williams a kol. 2021), a tak zajišťuje vznik peroxidu. Vycházejíce z předpokladu, že tvorba peroxidu bude při použití TAED pozvolná, modifikovali jsme postup stanovení mikroorganismů po desinfekci tak, aby bylo zabráněno působení případného peroxidu při kultivaci použitím membránové filtrace a R2A agarů se siřičitanem.

Tabulka 17: Počty organismů před a po desinfekci peruhličitanem a TAED

Stanovení	PŘED DESINFEKČÍ			PO DESINFEKCI		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
Celk. počet aerobních heterotr. bakterií	10 ⁻⁵	61 65	6,3.10⁶	10 ⁻²	2200 2400	2,3.10⁵
Celk. počet heterotrofních sporulujících bakterií	10 ⁻⁵	7 7	7.10⁵	10 ⁻²	350 310	3,3.10⁴
VRB <i>E. coli</i>	10 ⁻⁵	38 31	3,5.10⁶	10 ⁻¹	90 86	8,8.10²
VRB <i>Pseudomonas fluorescens</i>	10 ⁻⁵	9 9	9,0.10⁵	10 ⁻¹	0 1	cca 5
VRB Enterokoky	10 ⁻⁵	--	< 10⁵	10 ⁻²	280 320	3,0.10⁴
Kvasinky	10 ⁻⁴	10 4	7.10⁴	10 ⁻²	240 260	2,5.10⁴

Závěr:

Laboratorní test ukázal, že i přes literární informace o účinku kombinace peruhličitan + TAED je desinfekční účinek kombinace zcela nedostatečný a bude nutné zahrnout vyšší teploty praní nejen pro inaktivaci koliformních bakterií, ale i případných dalších mikroorganismů, např. prvoků.

12.10 Pokus 11: Účinnost termální desinfekce vnějších obalů po praní při 60°C (v prádelně)

Cíl pokusu:

Ověřit účinnost termální desinfekce praní vnějších obalů při 60°C, bez použití oxidačních desinfekčních prostředků (na základě konzultace provozovatelů prádelny s výrobcem obalů). Jednalo se o orientační pokus, z toho důvodu byl analyzován pouze vzorek po praní, výsledek počtů CFU před praním jsme předpokládali analogický s pokusem č. 9.

Tabulka 18: Počty organismů po praní vnějších obalů při 60°C

Stanovení	PO PRANÍ		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerob. rost. heterotr. bakterií	10 ⁻⁴	60	6,3.10⁵
	10 ⁻⁴	66	
CP aerobních sporulátů	10 ⁻³	220	2,2.10⁵
	10 ⁻³		
Enterokoky	1 ml	3	3
		2	
VRB koliformní	1 ml	1	1
		1	
VRB vše	1 ml	5	8
		10	
Kvasinky	1 ml	0	< 1
		0	
Plísňe	1 ml	0	< 1
		0	

Závěr:

Praní při teplotě 60°C značně zlepšilo výsledky oproti pokusu 9, nebylo však možné je považovat za úplně dostačující a po dohodě s provozovatelem prádelny bylo tak rozhodnuto zaměřit se v dalších pokusech na použití kationaktivního detergentu s desinfekčním účinkem pro zajištění ještě lepšího účinku.

12.11 Pokus 12: Účinnost desinfekce vnějších obalů po praní při 60°C za použití TEGO BETAINU a kyseliny octové (v prádelně)

Cíl pokusu:

Ověřit praní vnějších obalů při 60°C detergentem TEGO BETAIN v kyselém prostředí. TEGO BETAIN jest amfoterní detergent, v kyselém prostředí se tedy chová jako kationaktivní a měl by tedy mít alespoň mírný desinfekční efekt.

Vzhledem k vícenásobnému potvrzení termální desinfekce kvasinek a vláknitých mikromycet při 60°C již počty těchto organismů nebyly dále vyhodnocovány.

Tabulka 19: Počty organismů po praní vnějších obalů při 60°C za použití TEGO BETAINU a kyseliny octové

Stanovení	PO PRANÍ		
	Ředění	Počet kolonií na 2 miskách	Výpočet CFU/ml
CP aerob. rost. heterotr. bakterií	10 ⁻³ 10 ⁻³	78 + 86	8,2.10⁴
CP aerobních sporulátů	10 ⁻³ 10 ⁻³	40 + 62	5,1.10⁴
VRB koliformní	1 ml	0 + 0	negativní
VRB vše	1 ml	1 + 1	1

Závěr:

Oproti výsledkům pokusu 11 byly celkové počty aerobních bakterií i bakterií sporulujících pod úrovní 10⁵ CFU/ml, tedy o řád nižší, což ale ještě pořád nebyl uspokojivý výsledek.

12.12 Pokus 13: Účinnost desinfekce vnějších obalů po praní při 60°C za použití TEGO BETAINU a kys. octové (opakováno, v prádelně)

Cíl pokusu:

Opakování předchozí pokusu za účelem potvrzení účinnosti TEGO BETAINu s kyselinou octovou. Současně bylo rozhodnuto pokusit se sledovat mikrobiologický stav praných materiálů (plenkových obalů) po praní jiným způsobem než dosud, a to odběrem vzorků z odtokové hadice, což by umožňovalo získat souhrnný vzorek, odpovídající stavu všech kusů v pračce, nejen 2 ks, standardně odebraných k analýze. Pro porovnání však byl po praní odebrán i vzorek z obvyklého výtřepu 4 vypraných kusů.

Tabulka 20: Počty organismů před i po praní vnějších obalů při 60°C za použití TEGO BETAINU a kyseliny octové (PP a OD)

Stanovení	PŘED PRANÍM (vzorek PP)			PO PRANÍ (vzorek OD)		
	Ředění	Počet kolonií (2 misky)	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií (2 misky)	Výpočet CFU/ml
CP aerob. rost. heterotr. bakterií	10 ⁻⁶ 10 ⁻⁶	15, 19	1,7.10⁷	10 ⁻³ 10 ⁻³	13, 17	1,5. 10⁴
CP aerobních sporulátů	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	2, 1	1,5.10⁴	10 ⁻² 10 ⁻²	65, 69	6,7. 10³
VRB koliformní	10 ⁻⁵	1	1.10⁵	0,5 ml	0	negativní
VRB vše	10 ⁻⁵	5	5.10⁵	0,5 ml	320	6,4.10²

Kde: Vzorek **PP**: odběr z odtokové hadice po předpírce (40°C, bez tenzidu);
 Vzorek **OD**: po praní, máchání a odstředování, odběr proveden z odtokové hadice při závěrečném odstředování;

Tabulka 21: Počty organismů po praní vnějších obalů při 60°C za použití TEGO BETAINU a kyseliny octové (VY)

Stanovení	PO PRANÍ (vzorek VY)		
	Ředění	Počet kolonií (2 misky)	Výpočet CFU/ml
CP aerob. rost. heterotr. bakterií	10 ⁻² 10 ⁻²	98, 92	9,5.10³
CP aerobních sporulátů	10 ⁻³ 10 ⁻³	87, 93	9,0.10³
VRB koliformní	0,5 ml	0	negativní
VRB vše	0,5 ml	3	6

Kde: Vzorek **VY**: výtřep ze 4 kusů obalů (jako obvykle) po praní, máchání a odstředování: 4 obaly vytřepány se sterilním fyziologickým roztokem (s obsahem Tweenu 80)

Závěr:

Co se týká výsledků praní, „klasický“ vzorek VY (odpovídající vzorkům po praní z předcházejících pokusů) ukázal další snížení počtu bakterií při desinfekčním praní vnějších obalů oproti vstupním počtům – celkové počty aerobních bakterií i bakterií sporulujících klesly těsně pod úroveň 10⁴ CFU/ml, oproti vzorku před praním (PP) jsme zaznamenali snížení o tři řády. Počet koliformních bakterií klesl o pět řádů a tyto organismy nebyly po praní vůbec zaznamenány; zcela zanedbatelný byl počet ne-koliformních gramnegativních bakterií. Praní vnějších obalů s kombinací TEGO BETAIN a kyselina octová při 60°C se tedy jeví jako vhodná varianta praní těchto obalů. Počty aerobních bakterií pod 10⁴ CFU/ml lze již považovat za přijatelné, i když tato hodnota není t.č. v ČR definována žádnou normou či předpisem. Co se týče možnosti sledovat počty mikroorganismů odběrem vzorků z

odtokové hadice, ukázalo se, že jde o poměrně vhodný způsob odběru vzorků před praním – vzorek PP byl dobře promíchaný vzorek ze všech aktuálně praných obalů. Odběry po praní však mohly být výrazně ovlivněny kontaminací hadice, zejména skupina ne-koliformních G- bakterií (stanovení „VRB vše“) byla zjevně ve vzorku OD zastoupena díky kontaminaci hadice, protože ve vzorku VY byla tato skupina nalezena v zanedbatelném počtu.

12.13 Pokus 14: Účinek Persterilu (15%-tního) na pleny (v prádelně, maximální naplnění pračky)

Cíl pokusu:

Předpokládali jsme, že tento pokus bude závěrečný a potvrdí vhodnost použití Persterilu pro praní plenek při maximálním naplnění pračky. I při tomto pokusu jsme se uchýlili k odběru vzorků z odtokové hadice pro stanovení mikroorganismů před praním (po předpírce). Bylo použito 70 ml 15%-tního Persterilu.

Tabulka 22: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem

Stanovení	Po předpírce - odtoková hadice			Po praní výtřep		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	0 0	< 10 ⁵ < 10 ⁵	10 ¹ 10 ¹	cca 2 000* cca 2 000*	2,0.10⁴
CP aerobních sporulujících bakterií (SP)	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	0 0	< 10 ⁵ < 10 ⁵	10 ¹ 10 ¹	cca 1 500 cca 1 500	1,5.10⁴
VRB koliformní	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	0 0	< 10 ⁵ < 10 ⁵	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	0
VRB vše	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	0 0	< 10 ⁵ < 10 ⁵	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	0
SB enterokoky	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	0 0	< 10 ⁵ < 10 ⁵	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	0
Kvasinky	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	0 0	< 10 < 10	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	0

* vzhled kolonií byl identický koloniím na miskách se sporulujícími bakteriemi, nejspíš se tedy jednalo především o sporulující bakterie.

Závěr:

Zaznamenali jsme překvapivě nízké počty všech skupin mikroorganismů ve vzorku po předpírce. Současně byly zaznamenány relativně vyšší počty sporulujících bakterií po praní (oproti dřívějším pokusům s Persterilem).

Vzorek před praním (po předpírce) navíc při odběru vykazoval známky působení oxidačního desinfekčního prostředku – byl plný bublinek plynu a vybělený. Z toho důvodu byla zahájena diskuse s provozovateli prádelny, zda Persteril nebyl omylem dávkován již do předpírky místo do praní.

Návazná diskuse provozovatele s výrobcem pračky vedla k závěru, že skutečně jsou zásobní nádržky pračky chybně nastaveny a je nutné je přenastavit pro správné dávkování desinfekčního prostředku do praní.

Závěrečný pokus praní plenek při maximálním naplnění pračky tak bylo nutno opakovat řadu měsíců poté, až došlo k uvedenému přenastavení dávkování prostředků.

12.14 Pokus 15: Účinek Persterilu (15%-tního) na pleny (v prádelně, maximální naplnění pračky)

Cíl pokusu: Opět jsme předpokládali, že tento pokus bude závěrečný, postup byl analogický s tím u předchozího pokusu, včetně objemu Persterilu. Vzorek před praním byl odebrán po předpírce z odtokové hadice, vzorek po praní klasicky výtřepem do fys. roztoku.

Tabulka 23: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem

Stanovení	Po předpírce - odtoková hadice			Po praní výtřep		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	168 142	1,7.10⁶	10 ⁻² 10 ⁻²	452 474	4,6.10⁴
CP aerobních sporulujících bakterií (SP)	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	69 75	7,2.10⁵	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	10 ³	10⁴
VRB koliformní	10 ⁻² 10 ⁻²	0 0	< 10²	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
VRB vše	10 ⁻² 10 ⁻²	0 0	< 10²	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
SB enterokoky	10 ⁻² 10 ⁻²	0 0	< 10²	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
Kvasinky	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	0 0	< 10	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1

Poznámka: Celkový počet sporulujících bakterií stanoven jen řádově, přesnější odečet nebyl možný vzhledem k nečekaně vysokému počtu kolonií na miskách.

Závěr:

V průběhu celého cyklu pračky byla organolepticky sledována teplota při předpírce a byl zjištěn nárůst teploty v průběhu předpírky až odhadem k 60°C (předpoklad 40°C se v tomto případě tedy prokázal jako mylný). To vysvětluje absenci citlivějších skupin organismů po předpírce. Současně byl ve vzorku po praní nalezen zvýšený celkový počet aerobně

rostoucích heterotrofních bakterií i aerobních sporulujících bakterií, což mohlo souviset, jak jsme po pokusu zjistili s použitím Persterilu, jenž byl už výrazně po době expirace. Bylo proto rozhodnuto o dalším pokusu, kde jednak vzorek před praním bude odebrán klasickou metodou (výtřepem plenek ve sterilním fyziologickém roztoku) a kde bude použita zvýšená dávka 15%-tního Persterilu (100 ml).

12.15 Pokus 16: Účinek Persterilu (15%) na pleny (v prádelně, maximální naplnění pračky)

Cíl pokusu: Provést finální pokus, již se správným nastavením pračky i dávkováním desinficientu při maximálním naplnění pračky. Objem Persterilu byl 100 ml (maximální naplnění dávkovací vaničky v pračce).

Tabulka 24: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem

Stanovení	Před praním - výtřep			Po praní - výtřep		
	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml	Ředění	Počet kolonií	Výpočet CFU/ml
CP aerobně rostoucích heterotr. bakterií	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	92 109	1,0.10⁷	10 ⁻² 10 ⁻²	92 72	8,2.10³
CP aerobních sporulujících bakterií (SP)	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁵	36 44	4,0.10⁶	10 ⁻² 10 ⁻²	67 83	7,5.10³
VRB koliformní	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	13 10	1,2.10⁵	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
VRB vše	10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	14 11	1,3.10⁵	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
SB enterokoky	10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁴	27 3 2	2,6.10⁴	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
Kvasinky	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	5 4	45	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1
Plísně	10 ⁻¹ 10 ⁻¹	1 2	15	10 ⁰ 10 ⁰	0 0	< 1

Závěr:

Pokus ukázal přijatelnou míru odstranění sledovaných mikroorganismů, tedy naprostou eliminaci hygienicky významných skupin (koliformní bakterie, enterokoky, kvasinky) a podstatné snížení celkových počtů aerobně rostoucích heterotrofních bakterií. Současně však výsledky nedosahovaly takového odstranění celkových počtů heterotrofních bakterií i sporulujících bakterií jako v úvodních pokusech v prádelně; velmi pravděpodobně souvisely s použitím Persterilu po značném uplynutí doby expirace. Bylo tak ukázáno, jak velký význam dodržení doby expirace má.

ZÁVĚR

Cílem našeho výzkumu bylo ověření účinnosti vybraných desinfekčních prostředků použitých při praní opakovaně použitelných látkových dětských plen v prádelně na Jižních svazích ve Zlíně.

Desinfekce jest nezbytná, neboť v případě přítomnosti infekce v dětské plence může při společném praní dojít ke kontaminaci ostatních plenek patogenními mikroorganismy a vyústit v onemocnění dětí při opakovaném použití. Z tohoto důvodu bylo nutné najít vhodnou metodu desinfekce i s ohledem na životnost materiálu.

Na základě výrazných rozdílů v počtu sledovaných mikrobiálních skupin (celkových počtů bakterií, sporulujících bakterií, střevních bakterií a kvasinek) u dvou srovnávaných prostředků – peruhličitanu sodného a Persterilu – lze shledat, že desinfekční (oxidační) účinky Persterilu (optimálně 30 ml 35 %-tního přípravku v konkrétní pračce PRIMUS) jsou oproti peruhličitanu sodnému výrazně vyšší. Co se týče ostatních skupin patogenních a deterioračních organismů, jako jsou kvasinky a plísně, experimentálně jsme dokázali jejich choulostivost vůči vyšším teplotám. Pouhým působením teploty 60 °C po dobu 20 minut došlo během desinfekčního praní k jejich redukci přibližně o čtyři řády až na pouhé jednotky CFU v 1 ml nebo na hodnoty menší než 1 CFU/ml.

Poněkud nad rámec předpokládaných prací byly v průběhu zkoumání ověřeny i některé možnosti praní plenkových obalů, které by zabezpečily i u těchto materiálů výrazné snížení počtů mikroorganismů před dalším použitím. Zde bylo zjištěno, že použití detergentu TEGO BETAİN v kombinaci s teplotou 60 °C dosahuje dostatečného snížení celkových počtů heterotrofních bakterií a eliminaci hygienicky významných skupin, jako jsou koliformní bakterie, enterokoky a kvasinky.

Opakované používání pratelných dětských plen můžeme s ohledem na šetrnost k životnímu prostředí doporučit, neboť se prokázalo – obzvláště v případě komunitních prádelen – že se při dodržení vhodných podmínek desinfekce jedná o finančně příznivou alternativu s důrazem na šetření energetických, materiálních i vodních zdrojů, a hlavně znamená významné snížení objemu komunálních, obtížně zpracovatelných odpadů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

EDANA. Sustainability report. 1. 2008. ISBN 2-930159-65-0.

BUDYK, Y. a A. FULLANA. Hydrothermal carbonization of disposable diapers. Journal of Environmental Chemical Engineering [online]. 2019, (7).

Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103341>

FIJAN, Sabina a Sonja ŠOSTAR-TURK. Fijan S., Šostar-Turk S.; Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textiles.

FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe 2010, Vol. 18, No. 1 (78) pp. 89-92. 89

Antimicrobial Activity of Selected Disinfectants Used in a Low Temperature Laundering Procedure for Textile [online]. University of Maribor, 2010.

Dostupné z: doi: [10.1016/j.diagmicrobio.2006.08.020](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.08.020)

Life Cycle Assessment of Disposable and Reusable Nappies in the UK,

Environment Agency [online]. GOV.UK [cit. 2021-07-12]. Dostupné z:

<https://www.gov.uk/government/publications/disposable-and-reusable-nappies-in-the-uk-life-cycle-assessment>

COLÓN, L. RUGGIERI, A. SÁNCHEZ, A. GONZÁLES, I. PUIG, Possibilities of Composting disposable diapers with municipal solid wastes, Waste Manag, 2011. Str. 249-259. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/0734242x10364684>

Eurostat, Environmental Data Centre on Waste, 2009.

Dostupné z: <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/waste/introduction/>

M.J. ANTAL, E. CROISSET, X. DAI, C. DE ALMEIDA, W.S.-L. MOK, N. NORBERG, J.-R. RICHARD, M. AL MAJTHOUB, High-yield biomass charcoal, Energy Fuels 10, 1996. Str. 652- 658.]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ef9501859>

G. BONN, R. CONCIN, O. BOBLETER, Hydrothermolysis – a new process for the Utilization of Biomass, Wood Sci. Technol. 17, 1983. Str. 195–202,

Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/bf00372318>

V. BENAVENTE, E. CALABUIG, A. FULLANA, Upgrading of moist agro-industrial Wastes by hydrothermal carbonization, *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 113, 2015. Str. 89-98, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2014.11.004>

M. SEVILLA, A.B. FUERTES, Chemical and structural properties of carbonaceous Products obtained by hydrothermal carbonization of saccharides, *Chem. A Eur. J.* 15, 2009. Str. 4195–4203, Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/chem.200802097>

J.A. RUSSEL, R.K. MILLER, P.M. MOLTON, Formation of aromatic compounds from condensation reactions of cellulose degradation products, *Biomass* 3, 1983. Str. 43–57. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(83\)90007-0](https://doi.org/10.1016/0144-4565(83)90007-0)

B. HU, K. WANG, L. WU, S.H. YU, M. ANTONIETTI, M.M. TITIRICI, Engineering carbonmaterials from the hydrothermal carbonization process of biomass, *Adv. Mater.* 22, 2010. Str. 813–828, Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/adma.200902812>

N.D. BERGE, K.S. RO, J. MAO, J. R.V. FLORA, M.A. CHAPPELL, S. BAE, Hydrothermalcarbonization of municipal waste streams, *Environ. Sci. Technol.* 45, 2011. Str. 5696–5703, Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/es2004528>

A. FUNKE, F. ZIEGLER, Hydrothermal carbonization of biomass: a summary and discussion of chemical mechanisms for process engineering, *Biofuels Bioprod. Biorefining* 4, 2010. Str. 160–177, Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bbb.198>

J.A. LIBRA, K.S. RO, C. KAMMANN, A. FUNKE, N.D. BERGE, Y. NEUBAUER, M.-M. TITIRICI, C. FÜHNER, O. BENS, J. KERN, K.-H. EMMERICH, Hydrothermal carbonization of biomass residuals: a comparative review of the chemistry, processes and applicationsof wet and dry pyrolysis, *Biofuels* 2, 2011. Str. 71–106, Dostupné z: <https://doi.org/10.4155/bfs.10.81>

H. G. RAMKE, D. BLÖHSE, H. J. LEHMANN, J. FETTIG, Hydrothermal carbonization oforganic waste, *Sardinia*, 2009. Str. 139–148.

H. S. KAMBO, A. DUTTA, A comparative review of biochar and hydrochar in terms of production, physico-chemical properties and applications, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 45, 2015. Str: 359–378, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.01.050>

A.T.MURRITO, T.HIRAJIMA, K.SASAKI, Upgrading and dewatering of raw tropical peat by hydrothermal treatment, *Fuel* 89, 2010. Str. 635–641, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.07.004>

A.B.FUERTES, M.C.ARBESTAIN, M.SEVILLA, J.A.MACIÁ-AGULLÓ, S.FIOL, R.LÓPEZ, R.J.SMERNIK, W.P.AITKENHEAD, F.ARCE, F.MACIÁS, Chemical and structural properties of carbonaceous products obtained by pyrolysis and hydrothermal carbonisation of cornstover, *Arid. Soil Res. Rehabil.* 48, 2010. Str. 618–626, Dostupné z: <https://doi.org/10.1071/SR10010>

JONES, C. W. *Applications of Hydrogen Peroxide and Derivatives*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. ISBN 0-85404-536-8.

TVRZOVÁ, Ludmila, Jana CHUMCHALOVÁ, Miroslav NĚMEC, Zdenka PÁČOVÁ, Dana SAVICKÁ, Alena KUBÁTOVÁ a Petra PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. 1. Brno: Masarykova univerzita, 2006 [cit. 2022-04-20].

Dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/index.html>

ORR, K.E., M.G. HOLLIDAY, A.L. JONES, I. ROBSON a J.D. PERRY. Survival of enterococci during hospital laundry processing. *Journal of Hospital Infection* [online]. Department of Microbiology, Freeman Hospital, Newcastle upon Tyne, UK, 2002.

Dostupné z: doi:10.1053/jhin.2001.1137

TULADHAR, E., P. TERPSTRA, M. KOOPMANS a E. DUIZER. Virucidal efficacy of hydrogen peroxide vapour disinfection. *Journal of Hospital Infection* 80 [online]. 2011.

Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2011.10.012>

WOOD, G. a ADAMS M. Effects of acidification, bacterial fermentation, and temperature on the survival of rotavirus in a model weaning food. *Journal of Food Protection*, 55 [online]. 1992. Dostupné z: doi:10.4315/0362-028X-55.1.52

BECKER, B., F. BRILL, D. TODT, E. STEINMANN, J. LENZ, D. PAULMANN, B. BISCHOFF a J. STEINMANN. Virucidal efficacy of peracetic acid for instrument disinfection. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* [online]. 2017(114).
Dostupné z: doi:10.1186/s13756-017-0271-3

MELICHERČÍKOVÁ, V. Desinfectant effect of Persteril in combination with detergents. *Journal of Hygiene Epidemiology Microbiology and Immunology*. 1989(33).
ISSN 00221732.

NASTASIJEVIĆ, I. a kol. Investigation of action of peroxyacetic acid on lipid component of bacterial spores and contribution to the standardization of efficiency evaluation test. *Acta Veterinaria* [online]. 2004, (55). Dostupné z: doi:10.2298/avb0503147n

SPENCER-WILLIAMS, I. a kol. Examining the antimicrobial efficacy of granulated tetraacetylenediamine derived peracetic acid and commercial peracetic acid in urban wastewaters. *Water Environment Research* [online]. 2021, (97).
Dostupné z: doi:10.1002/wer.10688

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BHI	Bujón z mozku a srdce
CFU	Jednotky tvořící kolonie
CFU _b	Počet jednotek tvořících kolonie na bavlněných kouscích před praním
CFU _a	Počet jednotek tvořících kolonie na bavlněných kouscích po praní
CP	Celkové počty
DIS1	Chlornan sodný
DIS2	Kyselina peroxyoctová s peroxidem vodíku
DIS3	Peroxid vodíku
EFA	<i>Enterococcus faecalis</i>
EFM	<i>Enterococcus faecium</i>
FA	Mastné kyseliny
GC/MS	Plynové chromatografie/hmotnostní spektrometrie
HTC	Hydrotermální karbonizace
CHSK	Chemická spotřeba kyslíku
MEFA	Metylestery mastných kyselin
PAA	Kyselina peroxyoctová
PK	Peruhličitan
PS	Persteril (zředěná kyselina peroxyoctová)
PIM	Procento inaktivovaných mikroorganismů
RED	Redukční účinnost po praní
R2A	Reasoner's 2A agar
SB	Slanetz-Bartley agar
SP	Sporuláty (sporulující bakterie)
VRB	Violet red bile agar
VL	Veillonovův agar

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Vliv řádové redukce titru rotaviru SA-II na čase	25
Obrázek 2: Mechanismus tvorby karbonizátu	28
Obrázek 3: Vlevo chemická struktura kyseliny peroxyoctové, vpravo peruhličitan sodný	37
Obrázek 4: Rovnice hydrolyzy peruhličitanu sodného	37
Obrázek 5: Vyhodnocení sporicidního účinku PAA na <i>Bacillus cereus</i> (počáteční počet buněk ve vzorku v inokule byl 4×10^5 v obou vzorcích.....	40
Obrázek 6: Vyhodnocení sporicidního účinku PAA na <i>Bacillus subtilis</i> (počáteční počet buněk ve vzorku v inokule byl u obou vzorků 10^6).....	40
Obrázek 7: Vlevo spory <i>Bacillus subtilis</i> bez ošetření, vpravo spory <i>Bacillus subtilis</i> po ošetření, 1200x zvětšeno	41

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Popis použitých dezinfekčních prostředků	16
Tabulka 2: Popis zkoumaných částí pracího programu pro citlivé směsi při nízkých teplotách; a MW - hlavní praní, R ^b - oplachovací fáze, NDIS - nepoužito dezinfekční činidlo, pouze prací prostředek:	17
Tabulka 3: Výsledky přežívání vybraných bakterií po praní s použitím různých dezinfekčních prostředků a PIM procento inaktivovaných mikroorganismů, RED řádová redukce počtů po praní:.....	19
Tabulka 4: Běžná doba/teplota dezinfekce pro deset nemocničních prádelen.	33
Tabulka 5: Průměrné hodnoty redukčních faktorů log ₁₀ v jednotkách tvořících kolonie pro <i>E. faecalis</i> a <i>E. faecium</i> po vystavení různým časům / kombinacím teplot.....	34
Tabulka 6: Snížení řádového počtu enterokoků u izolátů po vystavení kombinacím času a teploty doporučených britskou směrnicí HSG(95)18	34
Tabulka 7: Přežití 40 izolátů enterokoků po pracím cyklu v prádelně A	35
Tabulka 8: Průměrný redukční faktor log ₁₀ v jednotkách tvořících kolonie enterokoků po pracím cyklu ve studovaných prádelnách	36
Tabulka 9: Počty bakterií před a po desinfekci peruhličitanem (PK) a persterilem (PS) ...	47
Tabulka 10: Počty kvasinek před a po desinfekci peruhličitanem (PK), Persterilem (PS) a samotnou teplotou 60°C.....	49
Tabulka 11: Počty plísní před a po desinfekci peruhličitanem (PK), Persterilem (PS) a teplotou.	50
Tabulka 12: Počty organismů před a po desinfekci peruhličitanem.....	51
Tabulka 13: Počty organismů před a po desinfekci peruhličitanem.....	52
Tabulka 14: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem.....	53
Tabulka 15: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem.....	54
Tabulka 16: Počty organismů před a po praní vnějších obalů při 40°C	55
Tabulka 17: Počty organismů před a po desinfekci peruhličitanem a TAED	56
Tabulka 18: Počty organismů po praní vnějších obalů při 60°C	57
Tabulka 19: Počty organismů po praní vnějších obalů při 60°C za použití TEGO BETAINU a kyseliny octové	58
Tabulka 20: Počty organismů před i po praní vnějších obalů při 60°C za použití TEGO BETAINU a kyseliny octové (PP a OD).....	59
Tabulka 21: Počty organismů po praní vnějších obalů při 60°C za použití TEGO BETAINU a kyseliny octové (VY)	59
Tabulka 22: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem.....	60
Tabulka 23: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem.....	62
Tabulka 24: Počty organismů před a po desinfekci Persterilem.....	63

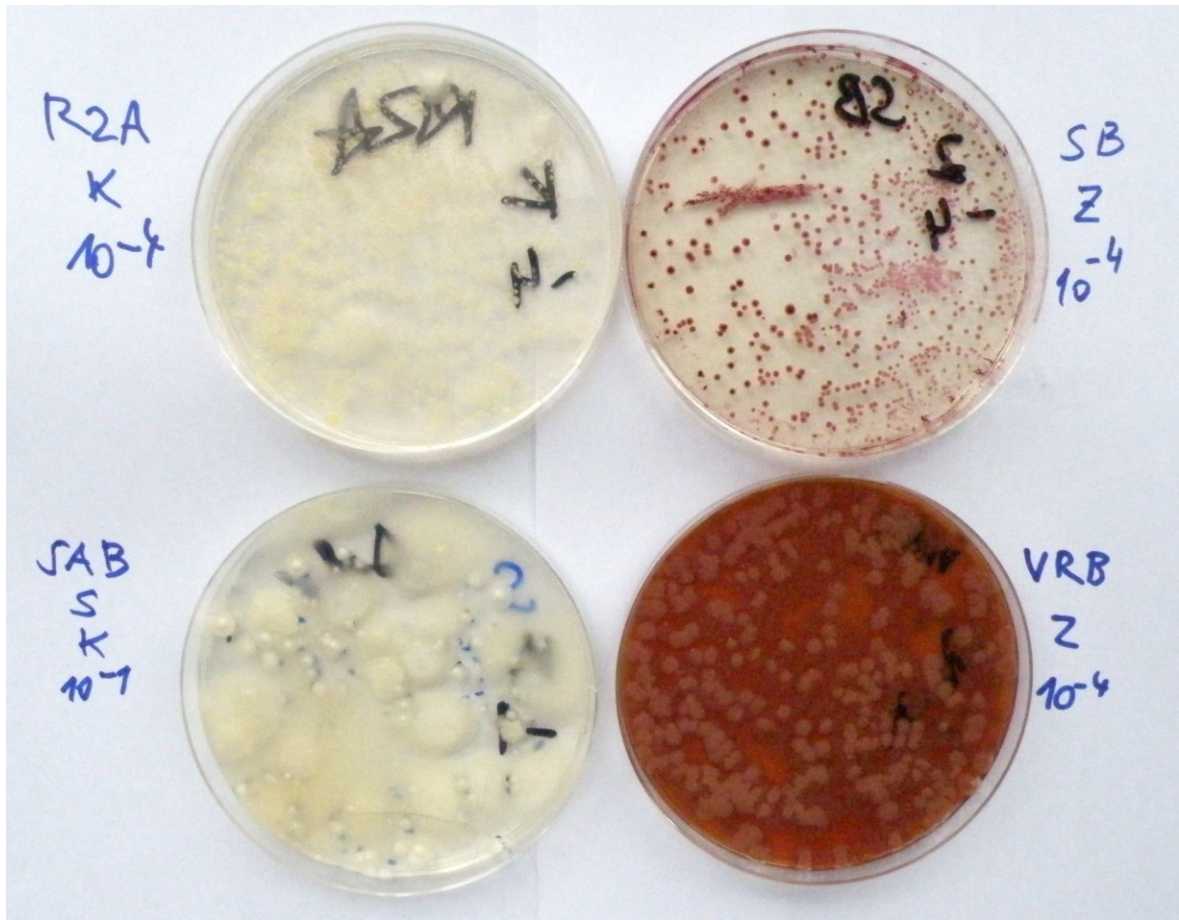
SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Ukázka kultur organismů na agarech

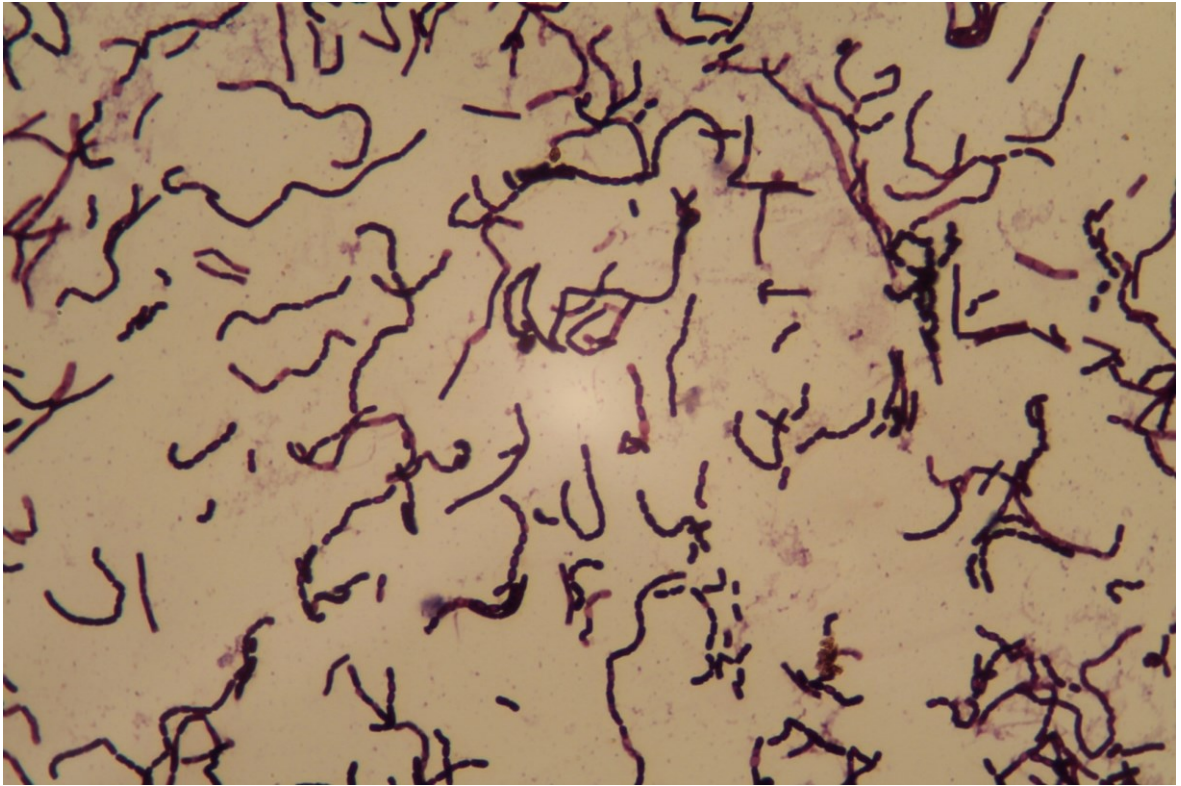
Příloha P II: Ukázka izolovaných bacilů ve fyziologickém roztoku (1000x zvětšeno)

Příloha P III: Ukázka izolovaných gramnegativních tyčinek ve fys. roztoku (100x zvětšeno)

PŘÍLOHA P I: UKÁZKA KULTUR ORGANISMŮ NA AGARECH



**PŘÍLOHA P II: UKÁZKA IZOLOVANÝCH BACILŮ VE
FYSIOLOGICKÉM ROZTOKU (1000X ZVĚTŠENO)**



**PŘÍLOHA P III: UKÁZKA IZOLOVANÝCH GRAMNEGATIVNÍCH
TYČINEK VE FYSIOLOGICKÉM ROZTOKU (100X ZVĚTŠENO):**

