

Příloha č. 2/1994

k Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica

Standardní metodika "Biologické
indikátory pro kontrolu účinnosti
sterilizačních přístrojů"

Praha, květen 1994

Předseda redakční rady: doc.MUDr.L.Komárek, CSc.
Členové: doc. MUDr.V.Bencko, DrSc., MUDr.D.Bittnerová, CSc.,
RNDr.T.Jarošíková, CSc., Mgr.K.Kánská,
prof.MUDr.V.Klener, CSc., Ing.J.Kodl,
doc.MUDr.J.Kříž, MUDr.J.Mika, RNDr.F.Rettich, CSc.,
prof.MUDr.B.Ticháček, DrSc., MUDr.L.Vodičková,
A.Svobodová

Vydává Státní zdravotní ústav v Praze

100 42 Praha 10, Šrobárova 48

ISSN 0862-5956

Biologické indikátory pro kontrolu účinnosti sterilizačních přístrojů

Standardní metodika

1. ROZSAH PLATNOSTI

Tato standardní metodika platí pro výrobu, označování, stanovení termorezistence a používání biologických indikátorů (dále jen "bioindikátorů") ke kontrole účinnosti sterilizačních přístrojů.

2. DEFINICE

Bioindikátor je přípravek obsahující vybraný mikroorganismus s vysokou rezistencí na jedno nebo více sterilizačních médií a jehož zničením po sterilizačním procesu je prokázáno, že sterilizace je účinná. Musí být jasně rozlišitelný od sterilizovaného materiálu, aby se zabránilo jakékoliv záměně či kontaminaci.

3. OZNAČOVÁNÍ

3.1. Každý obal s bioindikátory musí být označen buď jeho plným názvem nebo jako v bodě 3.2. uvedenou zkratkou. Dále zde musí být název testovacího kmene, jeho číslo a zkratka sbírky, z níž pochází, jméno výrobce a datum expirace.

3.2. Bioindikátory se označují podle toho, k jaké kontrole jsou určeny. Ke kontrole účinnosti parních sterilizátorů se označují BI-PS, formaldehydových sterilizátorů BI-FORM, ethylenoxidových přístrojů BI-EO, horkovzdušných sterilizátorů BI-HS a pro kontrolu přetlakových vařičů BI-VA.

4. BALENÍ

Bioindikátory se mohou dodávat buď nebalené v zásobníčcích a adjustují se pak do vhodného obalu či zkumavky u odběratele nebo se balí jednotlivě přímo u výrobce, obal však nesmí zabraňovat přístupu sterilizačního média. Jako obal se nepovoluje polyethylen.

5. NÁLEŽITOSTI NEZBYTNÉ PRO SCHVÁLENÍ BIOINDIKÁTORU

5.1. Výrobce bioindikátorů hlavnímu hygienikovi při schvalovacím řízení předkládá stanovisko Národní referenční laboratoře pro sterilizaci, která bioindikátory posuzuje na základě zejména těchto údajů:

ACTA HYGIENICA, EPIDEMIOLOGICA ET MICROBIOLOGICA
Příloha č. 2/1994

Standardní metodika "Biologické indikátory pro kontrolu účinnosti sterilizačních přístrojů"

Vydává Státní zdravotní ústav v Praze
Autor: Referenční laboratoř pro fyzikální a plynovou sterilizaci a kontrolu její účinnosti Hradec Králové

Vytiskl : Ústav jaderných informací, Uranová ul. Praha 5

Stran: 15 , výt. 700 , formát A5, rok vyd. 1994, cena 30,-Kč
(vč. poštov.)

Účelová publikace

ISSN 0862 - 5956

- a) testovací mikroorganismus bioindikátoru
- b) název a adresa sbírky, která testovací mikroorganismus dodala
- c) číslo kmene
- d) počet zárodků testovacího mikroorganismu na bioindikátoru
- e) kultivační teplota
- f) kultivační doba (nesmí být delší než 3 dny)
- g) složení kultivační půdy, požadavky na její vlastnosti, charakteristické známky růstu testovacího mikroorganismu
- h) teplota a doba, kterou bioindikátor v příslušném sterilizačním médiu musí přežít
- i) teplota a doba, kterou bioindikátor v příslušném médiu nesmí přežít
- j) expirační doba bioindikátoru, která nesmí být kratší než 3 měsíce
- k) charakteristické známky růstu na pevné kultivační půdě
- l) obal, ve kterém bude bioindikátor expedován
- n) doba, kterou nelze překročit od konce expozice bioindikátorů ve sterilizačním přístroji do začátku jejich laboratorního zpracování

5.2. Pro výrobu bioindikátorů ke kontrole sterilizační účinnosti parních a formaldehydových sterilizátorů a přetlakových vařičů se používá *Bacillus stearothermophilus*. Pro tento mikroorganismus se teplotou (bod 5.1. h) a 5.1. i)/ rozumí vždy teplota 120 st. Celsia v parním sterilizátoru. Dobou se rozumí vždy doba počítaná od okamžiku, kdy po trojnásobném odvzdušnění komory sterilizátoru dosáhne zde přetlak hodnoty 100 kPa a teplota vystoupí a udržuje se na 120 st. Celsia do odlehčení tlaku páry. Při odvzdušňování musí být dosaženo podtlaku nejméně šedesát kilopaskalů.

5.3. Pro výrobu bioindikátorů ke kontrole sterilizační účinnosti horkovzdušných ethylenoxidových sterilizátorů se používá *Bacillus subtilis*. Pro tento mikroorganismus se teplotou (bod 5.1. h) a 5.1. i)/ rozumí vždy teplota proudícího vzduchu 160 st. Celsia v horkovzdušném sterilizátoru. Dobou se rozumí vždy doba počítaná od okamžiku, kdy ukazatel elektrického odporového teploměru na přístroji dosáhne 160 st. Celsia do okamžiku vyjmutí bioindikátoru z přístroje. Po celou tuto dobu nesmí teplota klesnout pod 160 stupňů. Čas náběhu z pokojové teploty na teplotu 160 stupňů se nezapočítává, je však nedílnou součástí pojmu "doba".

5.4. Přípravovány mohou být i takové bioindikátory, které obsahují oba dva shora uvedené testovací mikroorganismy *B. stearothermophilus* i *B. subtilis*, tedy bioindikátor univerzální, lišící se pak jen potřebným kultivačním médiem a kultivační teplotou při jejich laboratorním zpracování po expozici ve sterilizátoru.

5.5. Jako nosiče testovacích kmenů možno použít jednak nasáklavý papír nejlépe o gramáži 450 g/m², příp. steatitové válečky nebo jiné podobné porézní látky.

6. ZKOUŠKY THERMOREZISTENCE

6.1. Bioindikátory pro parní, formaldehydovou a vodní sterilizaci

6.1.1. Nebalené bioindikátory

Bioindikátor se vloží do vysterilizované zkumavky vysoké 9-10 cm a uzavře zátkou z papírové vaty. Dvacetčtyři namátkově vybraných takovýchto testů se ve stojánku vloží do prázdného parního sterilizátoru o objemu do 150 litrů do středu pracovního prostoru a po trojnásobném odvzdušnění se podrobí účinku nasycené vodní páry pod tlakem 200 kPa (přetlak 100 kPa) při teplotě 120 st. C po dobu pěti minut. Čas 5 minut měřený stopkami se počítá od okamžiku, kdy po třetím odvzdušnění teplota měřená elektrickým odporovým teploměrem, kterým musí být přístroj použitý k testování vybaven, dosáhne 120 stupňů Celsia a manometr komory ukazuje přetlak 100 kPa. Po skončení fáze sušení, která nesmí trvat déle než 10 minut, se zkumavky z přístroje vyjmou, ponechají se alespoň 10 minut zchladnout, pak se převrství 5 ccm předepsané kultivační půdy a inkubují při předepsané teplotě po předepsanou dobu, která nesmí být delší než 3 dny. Od expozice v autoklávu do zpracování testů nesmí uplynout doba delší než 2 hodiny. Po skončení inkubační době musí dojít k růstu mikroorganismů identických s testovacím mikroorganismem ve všech 24 zkumavkách.

Tyto bioindikátory nesmí přežít patnáctiminutovou expozici při teplotě 120 st. Celsia při stejných podmínkách jak shora uvedeno.

6.1.2. Balené bioindikátory

Použije se rovněž 24 vzorků, které se naskládají do stojánku a postup je pak stejný jako v bodě 6.1.1. do okamžiku laboratorního zpracování. Vlastní bioindikátor musí být z obalu vyjímán asepticky, asepticky vložen do vysterilizované zkumavky s kultivační půdou a uzavřen vysterilizovanou zátkou. Další postup, podmínky a vyhodnocení jsou stejné jako u bioindikátorů nebalených.

6.1.3. Bioindikátory, které jsou expedovány z výroby současně s kultivační půdou jako celek (t.zv. self contained) se zpracovávají dle návodu výrobce.

6.1.4. Bioindikátory dle bodu 6.1.1. a 6.1.2. musí být v laboratoři zpracovávány ve skříních s laminárním prouděním nebo v podobném aseptickém prostoru.

6.2. Bioindikátory pro horkovzdušnou a ethylenoxidovou sterilizaci.

6.2.1. Nebalené bioindikátory

Test se připraví tak, že jeden bioindikátor se vloží do vysterilizované zkumavky min. 9 a max. 10 cm vysoké. Dvacetčtyři takovýchto otevřených zkumavek se umístí do stojánku, na podnos se dá

odpovídající počet kovových uzávěrů a obojí se vloží do prázdného horkovzdušného sterilizátoru s nucenou cirkulací vzduchu o objemu 60-120 litrů k místu, kde je čidlo elektrického odporového teploměru, kterým musí být přístroj použitý k testování vybaven. Přístroj se nastaví na teplotu 160 st. C a expozici 9 minut. Doba náběhu teploty na 160 st. C se do doby 9 minut nezapočítává, je ale její nedílnou součástí. Kovové uzávěry možno vysterilizovat též předem. Testy se vkládají vždy do sterilizátoru nevytopeného, t.j. majícího uvnitř pracovního prostoru pokojovou teplotu. Vzhledem k nepřesnosti některých časových ovladačů se expozice 9 min. měří stopkami od dosažení 160 st. C.

Po uplynutí devíti minut se přístroj vypne, otevře a zkumavky se ihned uzavřou zátkami a vyjmou se ze sterilizátoru. Po zchladnutí, které trvá 10 min. se zkumavky zalijí 5 ccm tekuté kultivační půdy a inkubují se při předepsané teplotě po předepsanou dobu. Po jejím uplynutí musí ve všech 24 zkumavkách dojít k růstu mikroorganismů identických s testovacím kmenem.

Tyto bioindikátory nesmí přežít třicetiminutovou expozici při 160 st. C při stejných podmínkách, jak shora uvedeno.

6.2.2. Balené bioindikátory

K testování se rovněž použije 24 vzorků bioindikátoru, které se naskládají do stojánku a postup je pak stejný jako v bodě 6.2.1. až do okamžiku laboratorního zpracování. Vlastní bioindikátor musí být z obalu vyjímán asepticky a asepticky vložen do vysterilizované zkumavky s kultivační půdou, uzavřen vysterilizovaným kovovým uzávěrem. Další postup, podmínky a vyhodnocení jsou stejné jako u bioindikátorů nebalených.

6.2.3. Bioindikátory uvedené v bodě 6.2.1. a 6.2.2. musí být v laboratoři zpracovávány ve skříni s laminárním prouděním nebo v podobném zařízení.

6.2.4. Bioindikátory "self contained" - postup je stejný jako v odstavci 6.1.3.. Tento typ bioindikátoru se však nehodí pro testování horkovzdušných sterilizátorů.

7. POUŽITÍ BIOINDIKÁTORŮ KE KONTROLE ÚČINNOSTI STERILIZÁTORŮ

7.1. VŠEOBECNÁ USTANOVENÍ

7.1.1. Podle vyhlášky MZ č. 207/92 Sb. musí být každý sterilizátor na odděleních centrální sterilizace a na sterilizačních centrech ihned po instalaci a pak 1x měsíčně kontrolován bioindikátory. Sterilizační přístroje umístěné jinde podléhají kontrole bioindikátory po 200 pracovních cyklech, nejméně však 1x za rok, jinak vždy, vyžaduje-li to situace, zejména pokud vzniknou jakékoli pochybnosti o účinnosti sterilizace.

7.1.2. Kontrola bioindikátory se provede také po opravě přístroje, zejména, byl-li přístroj opravován na základě předchozího nevyhovujícího výsledku testování.

7.1.3. Sterilizační účinnost bioindikátory se musí kontrolovat též u přístrojů používaných ke sterilizaci v nezdravotnických zařízeních.

7.1.4. Kontroly bioindikátory provádějí zdravotnická zařízení. Z titulu státního zdravotního dozoru na tuto kontrolu dozírají a odborně usměrňují odborní pracovníci oddělení pro dezinfekci, příp. protiepidemických oddělení hygienických stanic.

7.1.5. Pracovník odpovídající za provedení kontroly účinnosti sterilizačního přístroje rozhodne, zda kontrola se provede při všech parametrech sterilizace, či jen při některých. Řídí se při tom především používanými parametry sterilizátoru.

7.1.6. Při kontrole sterilizační účinnosti musí kontrolující pracovník provést tyto úkony:

a) ověřit typ, výrobce a výrobní číslo přístroje,

b) zkontrolovat nastavení parametrů sterilizace na přístroji (tlak, teplota, čas),

c) u parních sterilizátorů zkontrolovat provedení a výsledek Bowie Dick testu (po datu, kdy tento test bude nařízen), nebyl-li proveden, musí být proveden dodatečně,

d) vložit příslušný počet bioindikátorů do přístroje a po skončení sterilizačního cyklu je vždy vyjmout za příp. spolupráce obsluhující osoby,

e) u parních sterilizátorů zkontrolovat dosažený podtlak při odvzdušňování.

7.1.7. Při zkoušce účinnosti sterilizačního přístroje musí být kontrolující osoba přítomna po celou dobu sterilizačního cyklu a sledovat, zda je dosaženo nastavených parametrů. V případech hodných zřetele nemusí tato přítomnost být nepřerušovaná, je však nutné, aby v průběhu vlastní sterilizace byly dosažené parametry sterilizace v přibližně rovnoměrných intervalech alespoň 3x zkontrolovány a zdokumentovány. Přítomnost je důležitá zejména při vkládání a vyjímání bioindikátorů z přístroje. Nebyl-li z mimořádných důvodů kontrolující pracovník při sterilizaci přítomen, musí tuto skutečnost vyznačit v průvodce. Nepřetržitá přítomnost kontrolujícího pracovníka je nutná při opakované zkoušce, byla-li předchozí zkouška nevyhovující.

7.1.8. Je třeba, aby bioindikátory byly především rozmístěny do těch míst, která jsou pro sterilizační médium nejhůře přístupná, přičemž ovšem nutno dbát, aby bioindikátory byly umístěny na všechna síta přístroje.

7.1.9. Ke každé kontrole účinnosti sterilizačního přístroje musí být vyplněna průvodka, ve které musí být údaje o zkoušeném přístroji - obec, zařízení, oddělení, umístění, typ přístroje, objem komory, výrobní číslo, zkoušené parametry sterilizace, rozmístění bioindikátorů, resp. rozmístění balíků či kontejnerů s bioindikátory, dosažená hodnota podtlaku, výrobce použitých bioindikátorů, datum a čas vyjmutí bioindikátorů z přístroje, na místě zjištěné závady a jméno zkoušejícího.

7.1.10. Na základě provedené kontroly a laboratorních výsledků musí být provozovateli přístroje vydána zpráva, ze které musí být zřejmé, zda přístroj vyhovuje a může být tedy používán, nebo zda je provoz přístroje dočasně zastaven do provedení nové zkoušky nebo zda je přístroj vyřazen z provozu a musí být podroben technické prohlídce.

7.2. KONTROLA ÚČINNOSTI PARNÍCH STERILIZÁTORŮ

7.2.1. Pro kontrolu účinnosti parních sterilizačních přístrojů se používají bioindikátory s *Bacillus stearothermophilus* jako testovacím mikroorganismem. Mohou být zataveny nebo zalepeny v sáčcích Lukasterik nebo zataveny v obalu typu papír-folie nebo ve zkumavkách max. 10 cm dlouhých uzavřených zátkou z buničité vaty.

7.2.2. Bioindikátory se vkládají do t.zv. testovacích balíků roušek, které před testováním musí být vždy suché. Balík má rozměry 25 cm x 50 cm a výšku takovou, aby jeho hmotnost dosahovala 6kg plusminus 10%. Do každého takového balíku se vkládají buď 2 nebo 4 bioindikátory. Jeden se umístí vždy do středu balíku a druhý tři centimetry pod první, třetí se dá o další 3 cm pod druhý a čtvrtý o tři centimetry nad první. Po zasunutí bioindikátorů se balík balí do dvojitého papíru typu Lukasterik nebo jiného schváleného papíru či textilu.

7.2.3. Je-li k balení materiálu určeného ke sterilizaci zaveden kontejnerový systém, ukládají se roušky do kontejneru nastojato. Při testování přístroje se používá kontejnerů cca o rozměrech šířka 27 cm, výška 27 cm a délka 58 cm a bioindikátory se vkládají do výšky 3 cm ode dna a 5 cm od kratších stran kontejneru, pokud mají být v jednom kontejneru 4 bioindikátory, ukládají se zbylé dva 6 cm ode dna a 15 cm od kratších stran kontejneru.

7.2.4. Podle velikosti sterilizátoru se pak do pracovního prostoru sterilizátoru vkládají ještě balíky (kontejnery) textilu bez bioindikátorů, které tak vymezují vsázku materiálu a jejich počet je uveden v tabulce.

7.2.5. Balíky ani kontejnery s rouškami se nepoužijí k testování těch přístrojů, které nejsou ke sterilizaci porézních materiálů, tedy i prádla, určeny. Jde zde vesměs o přístroje malokapacitní, které nejsou vybaveny odsávacím zařízením (vývěvou). V těchto přístrojích se biologické indikátory použijí v obalech dle odstavce 7.2.1. a doporučuje se je do sterilizátorů nevybavených vývěvou a mnohdy ani nemajících program "sušení" umísťovat ve svislé poloze, aby se zabránilo jejich příp. nadměrnému zavlhnutí.

7.2.6. Pro stanovení počtu bioindikátorů pro jednotlivé sterilizáty se vychází z t.zv. sterilizační jednotky, což je rozměr pracovního prostoru (komory) sterilizátoru 30x30x60 cm, t.j. 54 litrů. V současné době se parní sterilizátory vyrábějí jako násobky této sterilizační jednotky. Celkový počet testovacích balíků s bioindikátory potřebných ke zkoušce sterilizační účinnosti a ostatních balíků se stanovuje takto :

Počet ster. jednotek	Testovací balík se		Počet balíků prádla bez BI	Celkový počet bioindikátorů
	4 BI	2 BI		
1	1	-	-	4
4	2	-	2	8
6-9	2	1	3-6	10
12	3	2	7	16
18	4	3	11	22

7.2.7. Balíky s bioindikátory se pokládají především do dolní třetiny pracovního prostoru ke dveřím a do blízkosti odpadní roury, kde se předpokládá nejobtížnější dosažení nastavených parametrů sterilizace.

7.2.8. Při kontrole účinnosti sterilizačních přístrojů s nuceným odsáváním vzduchu je třeba shlédnout poslední Bowie-Dick test. Není-li k dispozici nebo byl-li by shledán neaktuálním, je třeba tento test provést jako součást kontroly. Rovněž je nutné zkontrolovat hodnotu podtlaku dosahovanou ve fázi odvědušňování, která nesmí být menší než 60 kPa.

7.2.9. Testovací balíky s prádlem se užívají pro kontrolu kteréhokoliv programu parních sterilizátorů, při kterém je použito nuceného odsávání vzduchu (tedy i pro program guma a pod.).

7.2.10. Byla-li zkouška sterilizační účinnosti parního sterilizátoru nevyhovující (biologické indikátory jsou po kultivaci pozitivní), měl by kontrolu provádějící pracovník vyloučit tyto příčiny positivity :

- a) Biologický indikátor nebyl do přístroje vůbec vložen.
- b) Biologický indikátor sice do přístroje vložen byl, ale sterilizační cyklus neproběhl.
- c) Biologický indikátor do přístroje vložen byl, ale sterilizační cyklus pro poruchu dodávky páry nebo elektřiny neproběhl úplně.
- d) Biologický indikátor do přístroje vložen byl, ale bylo zabráněno přístupu páry k němu (uzavřený sterilizační buben).
- e) Biologický indikátor do přístroje vložen byl, ale doba sterilizační expozice byla kratší, než odpovídá příslušnému přetlaku páry a teplotě.
- f) Biologický indikátor do přístroje vložen byl, ale přetlak páry, a tím i teplota, byla nižší než odpovídá příslušné době sterilizační expozice.
- g) Biologický indikátor do přístroje vložen byl, sterilizační cyklus proběhl, sice podle správně nastaveného tlaku a při správné době sterilizační expozice, ale teplota páry byla vyšší, než odpovídá nastavenému a dosaženému tlaku (přehřátá pára).
- h) Totéž jako v bodě f), ale teplota páry byla nižší, než odpovídá nastavenému a dosaženému tlaku (vlhká pára).
- i) Ve fázi trojnásobného odvzdušňování nebylo dosaženo podtlaku alespoň 60 kilopaskalů.
- j) Biologický indikátor vložen, zkouška proběhla správně, ale v nevyhřátém přístroji.

Při první zkoušce kontrolující pracovník všechny příčiny uvedené v bodech a) - j) většinou vyloučit nemůže, a proto

7.2.11. Je nutno provést zkoušku, a to při alespoň druhém, při velké vzdálenosti od zdroje páry, až při třetím sterilizačním cyklu. Při druhé zkoušce sterilizační účinnosti je kontrolující pracovník či pracovnice přítomen celému sterilizačnímu cyklu od vložení bioindikátorů do přístroje až do jejich vyjmutí. Pouhou svojí přítomností vyloučí možnost pozitivitu testů z důvodů uvedených pod písmeny a) až d) odstavce 7.2.10. Pozorováním a zapisováním dosahovaných parametrů může odhalit pozitivitu testů z důvodů uvedených pod body e) až j).

Při této druhé zkoušce je vhodné do přístroje vložit kromě stanoveného počtu testů maximální teploměry, nejlépe alespoň tři, a to do jednoho místa, nejlépe do dolní třetiny sterilizační komory ke dveřím. Teploměry budou ve svislé nebo alespoň v šikmé poloze. Měly by být ocejchovány. Nejsou-li tyto teploměry k dispozici, musí se kontrolující pracovník spokojit s údaji vestavěného teploměru, odpadá tak ovšem možnost srovnání.

Zjistí-li se ve fázi odvzdušňování (viz bod 7.2.10. i), že hodnota podtlaku nedosahuje alespoň 60 kPa, není nutné ve zkoušce pokračovat a zahájit ji znovu až po nastavení či seřízení vývěvy přístroje.

Po proběhlém sterilizačním cyklu, při kterém se doba sterilizační expozice měří stopkami, čímž se zkontroluje nastavení času na sterilizátoru, se vyjmou bioindikátory a odečtou hodnoty na teploměrech. Je-li na nich teplota vyšší o 5 a více procent, než odpovídá dosahovanému tlaku, je to známkou toho, že šlo o páru přehřátou, která nemá takové sterilizační účinky jako pára nasycená.

Pokud byla zjištěna teplota o 5 a více procent nižší, šlo zřejmě o páru vlhkou, jejíž účinky rovněž nedosahují účinku páry nasycené. V takovém případě už by ani nebylo nutné bioindikátory zpracovávat, pokud můžeme ovšem s jistotou prohlásit, že teplotní údaje jsou spolehlivé.

Nebyly-li maximální teploměry použity, nutno se spokojit se sledováním údajů vestavěného teploměru a v předchozích odstavcích uvedené hodnocení provést jen podle tohoto teploměru.

Zjistěné teplotní difference je nutno zaznamenat s tím, aby byla provedena revize parního potrubí.

Pokud sterilizační cyklus proběhl v souladu s nastavenými hodnotami a testy jsou po laboratorním zpracování znovu pozitivní, naskýtají se na př. tyto důvody:

k) Ke kultivaci použítá půda byla kontaminovaná nebo neměla správnou hodnotu pH.

Opatření: Při každém zpracování biologických indikátorů používat kontrolní vzorek půdy souběžně kultivovaný bez bioindikátoru.

l) Došlo k sekundární kontaminaci při laboratorním zpracování testů.

Opatření: Biologické testy zpracovávat ve skříní s laminárním prouděním nebo v nějakém jiném vhodném prostoru.

m) Ke kultivaci bylo použito nestandardní půdy nebo půdy, která není předepsána výrobcem.

Opatření: Používat vždy standardní půdy nebo půdy předepsané výrobcem bioindikátorů.

Byly-li vyloučeny příčiny pozitivního výsledku testování uvedené pod písmeny k) - m), pak je třeba:

A) vyočkovat pozitivní bujóny na pevnou půdu. Zůstane-li po kultivaci pevná půda negativní, musí se hledat příčina znovu v bodech k) - m).

Jde-li na pevné půdě o růst kmene identického s testovacím mikroorganismem bioindikátoru, což je možno či nutno prokázat

mikroskopickým preparátem, provede se:

B) kontrolní zkouška termorezistence použitých bioindikátorů podle standardní metodiky, t.j. při 120 st.C po dobu 15 minut, kterou bioindikátor nesmí přežít. Pokud by bioindikátor tuto teplotu a dobu přežil, jde o bioindikátor závadný a na tuto skutečnost je třeba ihned upozornit výrobce a též NRL pro sterilizaci.

Pokud nepřežije, nutno hledat příčinu pozitivního výsledku testování znovu nejen v přístroji, ale též ve sterilizačním médiu a jeho přívodu a odvodu. Může jít např. o nedostatečně odvodňované přívodní potrubí páry, na kterém má být každých 25 metrů odvodňovací hrnec, nebo tyto odvodňovací hrnce nepracují správně, nebo je nesprávně redukován tlak nebo nevhodně zúženo potrubí, dále může jít o poruchu v odvodu kondenzátu. Tyto kontroly musí spolehlivě a odpovědně provést příslušný technický pracovník ústavu. Dále může jít též o dodávku nekvalitní páry.

Mnohé závady tohoto druhu může odhalit EURO Bowie Dick test (barevný).

Může jít o tyto příčiny:

I. PŘESYCNÁ (VLHKÁ) PÁRA

- Nevyhrátý přístroj
- Nedost. odvodněn přívod páry
- Teplota v plášti nižší než v komoře

II. PŘEHŘÁTÁ PÁRA

- Redukční ventil blízko sterilizátoru
- Vysoká teplota v plášti
- Změna průměru potrubí blízko přístroje
- Mnoho ostrých ohybů parního potrubí

III. NEDOSTATEČNÉ ODVZDUŠNĚNÍ

- Chybně nastavené
- Vysoká teplota vody pro vývěvu
- Porucha vývěvy

IV. NÍZKÁ TEPLOTA

- Chybně nastavená
- Závada ve snímači tlaku

V. KRÁTKÁ STERILIZAČNÍ EXPOZICE

- Chybně nastavená
- Porucha časového ovladače

VI. NETĚSNOSTI

- Dveří
- Snímačů tlaku a teploty
- Ventilů
- Potrubí
- Vývěvy
- Trhlina v potrubí

VII. INSTALACE

- Redukční ventily - musí redukovat vždy jen maximálně na polovinu předchozího tlaku, poslední redukční ventil má být umístěn ve vzdálenosti 4 - 6 m od přístroje a za ním už musí potrubí vést bez jakéhokoli větvení k přístroji.
- Potrubí - spád 2%, izolace proti chladu, odvodnění

Ze účelem zjištění těchto příčin, doporučuje se u každého parního sterilizačního přístroje provést jednorázové zkoušku s barevným EURO Bowie Dick testem při teplotě 134 st. Celsia po dobu 3,5 minuty.

7.2.12. Je-li třeba provést kontrolu programu "roztoky", doporučuje se do lahve obdobné lahvim, ve kterých se roztoky sterilizují, dát kultivační půdu určenou pro použití bioindikátor, do této půdy nebalený bioindikátor ponořit a uzavřít zátkou obdobnou jako u ostatních lahví. Přitom je třeba dbát, aby množství vzduchu nad lahví s bioindikátorem odpovídalo množství vzduchu v ostatních lahvích. Sterilizace léčiv a její kontrola je záležitostí SÚKLU a jemu podřízených jednotek.

7.3. KONTROLA ÚČINNOSTI PLYNOVÝCH STERILIZÁTORŮ

7.3.1. V plynových sterilizátorech se využívá jako sterilizačního média buď formaldehydu nebo ethylenoxidu. Podle velikosti pracovního prostoru přístroje, třídíme na skupiny do 60, 150 a nad 150 litrů.

7.3.2. Pro formaldehydové sterilizační přístroje se vždy použijí bioindikátory s *Bacillus stearothermophilus*, pro ethylenoxidové sterilizátory bioindikátory s *Bacillus subtilis*.

7.3.3. Pro přístroje s výměrou pracovního prostoru do 60 litrů se použijí 4 bioindikátory, do 150 litrů 8 a nad 150 litrů 8 bioindikátorů plus na každých 50 litrů objemu pracovního prostoru vždy jeden bioindikátor navíc.

7.3.4. Bioindikátory se používají balené, a to pro formaldehydovou sterilizaci buď v zataveném či zalepeném sáčku Lukasterik nebo v zataveném obalu typu papír-folie, pro ethylenoxidovou sterilizaci v zataveném obalu typu papír-folie.

7.3.5. Příslušný počet bioindikátorů se v přístroji rozmisťuje podle návodu výrobce, není-li to v návodu uvedeno, pak se bioindikátory rozmisťují tak, aby byly v nejnejpříznivějších místech, t.j. u zadní stěny přístroje a u dveří a dále pak mezi materiálem.

7.3.6. Každý nově instalovaný formaldehydový přístroj je třeba testovat pomocí 1,5 m dlouhé trubičky o průměru 2 mm, na jejímž konci je komůrka pro bioindikátor. Tato pomůcka se před zkouškou zataví do obalu papír-folie. Z předepsaného počtu bioindikátorů je třeba použít alespoň tři takovéto trubičky.

7.4. KONTROLA ÚČINNOSTI HORKOVZDUŠNÝCH STERILIZÁTORŮ

7.4.1. Pro horkovzdušné sterilizační přístroje se používají bioindikátory s *Bacillus subtilis* jako testovacím kmenem.

7.4.2. Pro přístroje s výměrou pracovního prostoru do 5 litrů se použijí 3 ks, do 30 litrů 6 ks, do 60 litrů 8 kusů, do 120 litrů 10 kusů a nad 120 litrů 12 kusů.

7.4.3. Bioindikátory se mohou používat zatavené nebo zalepené v papíru nebo folii snázejícím sterilizační teplotu a do 1.1.1996 i ve zkumavkách dlouhých max. 10 cm, uzavřených zátkou. Umisťují se dle návodu výrobce sterilizátoru, není-li v návodu nic uvedeno, ukládají se do předpokládaných nejnejpříznivějších míst z hlediska rozložení teploty, t.j. ke dveřím a k zadní stěně přístroje, při čemž je třeba, aby každé sito přístroje bylo stejnoměrně bioindikátorem obsazeno.

7.5. KONTROLA ÚČINNOSTI PŘETLAKOVÝCH VARIČŮ

7.5.1. Pro kontrolu přetlakových varičů se používají bioindikátory s *Bacillus stearothermophilus* v počtu stanoveném tabulkou v odstavci 7.2.6.

7.5.2. Pro testování těchto přístrojů pracujících s parou jako sterilizačním médiem, se používá bioindikátorů jako ke kontrole parních sterilizátorů dle odstavce 7.2.1.

7.5.3. Je-li použito jako sterilizačního média vody, je nevhodnější vložit nebalený bioindikátor s *B. stearothermophilus* do zkumavky s tekutou kultivační půdou a zazátkovat buničitou vatou. Každý takto připravený test se pak vloží do kádinky s takovým množstvím vody, aby sloupec vody v kádince, postavené na sito v přístroji, byl vyšší než hladina vody v přístroji. Pro tuto zkoušku je možno použít i jiného vhodného obalu pro kultivační půdu a bioindikátor.

8. KULTIVACE BIOINDIKÁTORŮ

8.1. Laboratoř zpracovávající bioindikátory vyznačí do průvodky datum, kdy materiál do laboratoře došel a datum a hodinu, kdy

byla kultivace bioindikátorů zahájena.

8.2. Kultivace exponovaných bioindikátorů musí být provedena v souladu s podmínkami výrobce v návodu, který výrobce odběrateli na jeho vyžádání s bioindikátory dodá.

8.3. Zpracování bioindikátorů, resp. manipulace s nimi po expozici v testovaném přístroji, smí být prováděna pouze ve skříni s laminárním prouděním neb podobném zařízení zabráňujícím sekundární kontaminaci. Není-li takovéto zařízení k dispozici, mohou být bioindikátory po expozici výjimečně do 1.1.1996 zpracovávány v prostoru k tomu určeném, kde jsou vytvořena a dodržována režimová opatření k zabránění sekundární kontaminace zpracováváných testů.

8.4. Kultivované testy se odečítají vždy po 24 hodinách až do konce kultivační doby stanovené výrobcem bioindikátorů. Po zjištění růstu se pozitivní tekuté půdy vyčokávají na pevné půdy, je-li to nutné k vyloučení sekundární kontaminace nebo z jiného důvodu, příp. se zhotovuje mikroskopicky preparát.

8.5. Výsledek kultivace se vyznačí v průvodce tak, aby bylo zřejmé, které testy byly negativní a které pozitivní, dále se na průvodce uvede datum ukončení kultivace, podpis odpovědného pracovníka a razítko laboratoře.

9. ÚKONY STÁTNÍHO ZDRAVOTNÍHO DOZORU

9.1. Úkony státního zdravotního dozoru prováděné v souvislosti s kontrolou účinnosti sterilizačních přístrojů jsou bezplatné.

9.2. Oddělení pro dezinfekci, případně oddělení protiepidemická hygienických stanic provedou státní zdravotní dozor nad kontrolou sterilizační účinnosti vždy u přístrojů nových před jejich uvedením do trvalého provozu. Dále pak, vyvstanou-li pochybnosti o sterilizační účinnosti přístroje, obvykle na základě epidemiologické souvislosti.

9.3. Mimo kontrol uvedených v bodě 9.2. provádějí útvary státního zdravotního dozoru kontrolu sterilizačních přístrojů dle vlastního uvážení, při čemž se doporučuje přihlídnout k frekvenci používání přístroje, jakož i k dalším ev. i specifickým okolnostem.

9.4. Optimální frekvenci kontrol z hlediska státního zdravotního dozoru je možno spatřovat v :

a) kontrole dokumentace na odděleních centrální sterilizace a sterilizačních centrech, zda je zde v jednoměsíčních intervalech prováděna kontrola účinnosti sterilizace bioindikátory a od nabytí účinnosti předpisu o provádění Bowie Dick testu a dalších chemických testů, zda jsou tyto testy používány a zda jsou v provozu registrační zařízení, pokud je jimi sterilizátor vybaven.

PRŮVODKA
KE ZKOUŠCE ÚČINNOSTI STERILIZÁTORU BAKTER. TESTY

b) kontrole individuální sterilizace na lůžkových odděleních, kde se sterilizuje denně, spojené s provedením kontroly účinnosti sterilizace bioindikátory - 2x ročně.

c) kontrole individuální sterilizace na lůžkových odděleních, kde se nesterilizuje denně, spojené s provedením kontroly účinnosti sterilizace bioindikátory - 1x ročně

d) kontrole individuální sterilizace v ambulancích zařízeních chirurgického charakteru, spojené s provedením kontroly účinnosti sterilizace bioindikátory - 2x ročně

e) kontrola individuální sterilizace v ambulancích zařízeních nechirurgického charakteru, spojené s provedením kontroly účinnosti sterilizace bioindikátory - 1x ročně.

Příloha: Vzor průvodky ke zkoušce účinnosti sterilizátoru bakter. testy. Předpokládá se, že tisk bude po obou stranách, takže průvodka bude mít formát A 5.

Druh a umístění přístroje	PSČ _____ Obec _____ Ulice _____ Zařízení _____ Místnost _____	Druh zkoušky po instalaci	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PS <input type="checkbox"/>		periodická	
HS <input type="checkbox"/>		mimořádná	
PV <input type="checkbox"/>		po opravě	

Výrobce	Typ	Výr. č.
---------	-----	---------

Parametry nastavené: tlak _____ kPa, teplota _____ °C, čas _____ min.

Parametry dosažené: tlak _____ kPa, teplota _____ °C, čas _____ min.

Vsázka	1/4	1/2	3/4	1/1	objem komory _____ litrů
--------	-----	-----	-----	-----	--------------------------

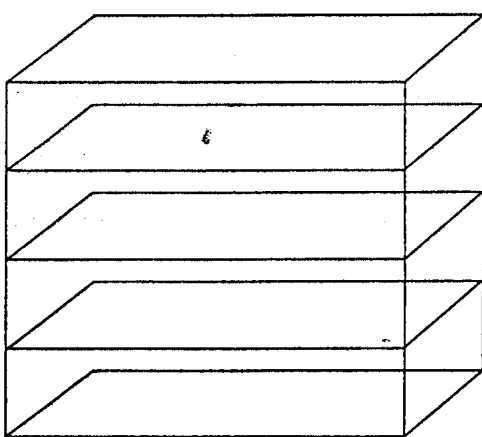
U parní steril. dosažený podtlak před vlastní sterilizací _____ kPa

U přetlak. vařičů sterilizace parou sterilizace vodou

Použité BI: výrobce _____ obal _____ počet _____ ks

Testoval: datum | hodina | podpis | Poznámky

Rozmístění bioindikátorů



Došlo do laboratoře:
dne
hodin

Kultivace zahájena:
dne
hodin

Kultivace ukončena:
dne

Za kultivaci odpovídá:

Razítko laboratoře

ZÁVĚR:
Přístroj zkoušce účinnosti bioindikátory v y h o v u j e.
Výsledek zkoušky účinnosti bioindikátory není jednoznačný, zkouška bude opakována. Přístroj m ů ž e - n e s m í - být provozován.
Přístroj zkoušce účinnosti bioindikátory n e v y h o v u j e, n e s m í být až do výsledku další zkoušky provozován.

HK, dne.....

Razítko, podpis

HEM-370-30.3.94

Všem krajským hygienikům v ČR
hygienikovi hl.m. Prahy

Věc: Vyhlášení standardní metodiky "Biologické indikátory pro kontrolu účinnosti sterilizačních přístrojů"

Na návrh referenční laboratoře pro fyzikální a plynovou sterilizaci a kontrolu její účinnosti v Hradci Králové

vyhlašuji

podle ustanovení 71, odst. 3 zákona č. 20/1966 Sb. o péči o zdraví lidu ve znění pozdějších předpisů jako závaznou pro hygienickou službu na úseku kontroly účinnosti sterilizačních přístrojů

standardní metodiku "Biologické indikátory pro kontrolu účinnosti sterilizačních přístrojů"

Plné znění metodiky i její vyhlášení bude uveřejněno v příloze k
• *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica.*

MUDr. Jiří Vytlačil, v.r.
hlavní hygienik ČR