



# Rozbor nebezpečí mikrobiologické kontaminace výrobků v podniku na výrobu potravinářských obalů

## Bakalářská práce

*Studijní program:* B3944 – Biomedicínská technika  
*Studijní obor:* 3901R032 – Biomedicínská technika  
*Autor práce:* **Aneta Odrášková**  
*Vedoucí práce:* prof. Ing. Aleš Richter, CSc.





# Analysis of the risk of microbiological contamination of products in the enterprise for the production of food packaging

## Bachelor thesis

*Study programme:* B3944 – Biomedical Technology  
*Study branch:* 3901R032 – Biomedical Technology

*Author:* **Aneta Odrášková**  
*Supervisor:* prof. Ing. Aleš Richter, CSc.





## Zadání bakalářské práce

# Rozbor nebezpečí mikrobiologické kontaminace výrobků v podniku na výrobu potravinářských obalů

*Jméno a příjmení:* **Aneta Odrášková**  
*Osobní číslo:* D16000008  
*Studijní program:* B3944 Biomedicínská technika  
*Studijní obor:* Biomedicínská technika  
*Zadávací katedra:* Fakulta zdravotnických studií  
*Akademický rok:* **2018/2019**

### Zásady pro vypracování:

Cíle práce:

1. Analyzovat situaci: popsat základní hygienickou situaci, zavedené standardy a opatření pro udržování hygieny.
2. Teoreticky vyhledat místa s největší úrovní mikrobiologické kontaminace. Provést citlivostní analýzu: zjistit vliv těchto kontaminovaných míst na kontaminaci výrobků.
3. Ověřit výsledky analýzy měření.
4. Navrhnout limitní hodnoty kontaminace v souladu se standardy pro měření.
5. Navrhnout nápravná opatření. Po dohodě s technologem ověřit pomocí realizace vybraných nápravných opatření.
6. Provést kontrolní měření.
7. Navrhnout možnost použití vypracovaného postupu i pro jiné aplikace, například pro obaly používané v mikrobiologii i v genetice.

Teoretická východiska (včetně výstupu z kvalifikační práce):

V podnicích na výrobu potravinářských obalů je třeba dbát na zvýšenou hygienickou situaci a dodržovat zavedené standardy. Přesto se zde mohou vyskytovat kontaminovaná místa, která by následně mohla způsobit kontaminaci výrobků. Výstupem bakalářské práce bude ověření, zda jsou hygienické standardy nastaveny správně, provedení každoroční analýzy hygienické situace v podniku, popř. provedení nápravných opatření a vytvoření odborného článku.

Výzkumné předpoklady:

Pro vypracování této bakalářské práce se předpokládá nastudování hygienických norem a standardů, dle kterých spolu s výsledky analýzy a výsledky měření je třeba navrhnout limity a nápravná opatření. Druhým předpokladem je využití vypracovaného postupu v praxi i pro jiné aplikace ve spolupráci s firmou Faerch Plast a CXI.

Metoda:

Experiment.

Technika práce, vyhodnocení dat:

Analýza výrobní a hygienické situace. Návrh limitních hodnot a následných nápravných opatření.

Místo a čas realizace výzkumu:

Firma Faerch Plast a CXI. Říjen, listopad a prosinec 2018.

Vzorek: Mikrobiologické stěry a vzorky.

Rozsah pracovní zprávy: 50 – 70  
Forma zpracování práce: tištěná/elektronická



### Seznam odborné literatury:

- 1) NECIDOVÁ, Lenka. HACCP – aktuální normativní a legislativní předpisy a jejich vývoj. Výživa a potraviny. 2014, 69(2), 33-34. ISSN 1211-846x.
- 2) SCHINDLER, Jiří. Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů. 2. vyd. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2.
- 3) NĚMEC, Miroslav a Dagmar MATOULKOVÁ. Základy obecné mikrobiologie. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-7923-6.
- 4) HAMPLOVÁ, Lidmila et al. Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol. Praha: Triton, 2015. ISBN 978-80-7387-934-1.
- 5) JULÁK, Jaroslav. Klinicky významné bakterie. Praha: Triton, 2012. ISBN 978-80-7387-588-6.
- 6) DEMNEROVÁ, Kateřina et al. Laboratoř mikrobiologického zkoumání potravin. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-957-0.
- 7) ČESKO. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ. Vyhláška č. 38 ze dne 19. ledna 2001 o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrm. In: Sběrka zákonů České republiky. 2001, částka 13, s. 672771. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: <https://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=38&r=2001>
- 8) MELICHERČÍKOVÁ, Věra. Sterilizace a dezinfekce. 2. vyd. Praha: Galén, 2015. ISBN 978-80-7492-139-1.
- 9) KUSHWAH, Akash a Rajendra KUMAR. Haccp its need and practices. Acta Chemica Malaysia. 2017, 1(2), 1-5. DOI 10.26480/acmy.02.2018.01.05. Dostupné také z: Researchgate.
- 10) RULÍK, Martin et al. Mikrobiální biofilmy. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. ISBN 978-80-244-2747-8.
- 11) PODSTATOVÁ, Hana. Základy epidemiologie a hygieny. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-597-0.

Vedoucí práce: prof. Ing. Aleš Richter, CSc.  
Ústav mechatroniky a technické informatiky  
Datum zadání práce: 1. září 2018  
Předpokládaný termín odevzdání: 30. června 2019

L. S.

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA  
děkan

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc., MBA  
děkan

V Liberci 30. listopadu 2018

## Prohlášení

Byla jsem seznámena s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Současně čestně prohlašuji, že texty tištěné verze práce a elektronické verze práce vložené do IS STAG se shodují.

28. 4. 2019

Aneta Odrášková

#### Poděkování:

Tato práce by nevznikla nebýt vedoucího této práce prof. Ing. Aleše Richtera, CSc., manažera kvality firmy Faerch Plast a konzultanta této práce Ing. Jiřího Herolda, Bc. Alice Břečkové a Jarmily Zemanové z mikrobiologické laboratoře Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, MUDr. Jany Pratingerové a RNDr. Dušany Kafkové z Krajské hygienické stanice v Liberci a Bc. Haliny Doležalové ze sterilizačního centra Krajské nemocnice Liberec.

Anotace v českém jazyce

Jméno a příjmení autora: Aneta Odrášková  
Instituce: Fakulta zdravotnických studií Technické univerzity v Liberci  
Název práce: Rozbor nebezpečí mikrobiologické kontaminace výrobků  
v podniku na výrobu potravinářských obalů  
Vedoucí práce: prof. Ing. Aleš Richter, CSc.  
Počet stran: 62  
Počet příloh: 3  
Rok obhajoby: 2019

Anotace:

Tato bakalářská práce se zabývá rozbohem nebezpečí mikrobiologické kontaminace výrobků v podniku na výrobu potravinářských obalů. Cílem práce je analyzovat hygienickou situaci v podniku, teoreticky vyhledat místa s největší úrovní mikrobiologické kontaminace a provést citlivostní analýzu, ověřit výsledky analýzy měření, navrhnout limitní hodnoty kontaminace, navrhnout a implementovat nápravná opatření, provést kontrolní měření a navrhnout možnost použití tohoto vypracovaného postupu i pro jiné aplikace. V práci jsou použity dvě metody stanovení mikrobiologické kontaminace povrchů, a to Hygicult testy a otisk sterilním filtračním papírem přeneseným na živnou půdu.

Klíčová slova: systém HACCP, zdravotní nezávadnost, mikrobiologická kontaminace, Hygicult testy

## Annotation

Name and surname: Aneta Odrášková  
Institution: Faculty of Health Studies, Technical University of Liberec  
Title: Analysis of the risk of microbiological contamination of products in the enterprise for the production of food packaging  
Supervisor: prof. Ing. Aleš Richter, CSc.  
Pages: 62  
Appendix: 3  
Year: 2019

## Annotation:

This bachelor thesis deals with the analysis of the risk of microbiological contamination of products in a food packaging company. The aim of this work is to analyse the level of the company hygiene. Sites with the highest level of microbiological contamination have been theoretically searched for. Sensitivity analysis has been performed and its results verified. Limit values of contamination have been suggested, and implementation of corrective measures proposed. Further, control measurements have been carried out and the possibility of using this elaborated procedure for other applications suggested. Two methods for the determination of microbiological contamination of surfaces are used, namely Hygicult tests and sterile filter paper print transfer to the nutrient broth.

Key words: HACCP system, health safety, microbiological contamination, Hygicult tests



## Obsah

1 Úvod.....	14
2 Teoretická část .....	15
2.1 Systém HACCP.....	15
2.1.1 Historie systému HACCP .....	15
2.1.2 Aktuálně platná národní legislativa a normativní předpisy .....	16
2.1.3 Požadavky a principy systému HACCP .....	18
2.1.3.1 Analýza nebezpečí .....	18
2.1.3.2 Stanovení kritických kontrolních bodů.....	19
2.1.3.3 Stanovení kritických mezí .....	19
2.1.3.4 Vytvoření systému sledování stavu CCP.....	19
2.1.3.5 Stanovení nápravných opatření.....	20
2.1.3.6 Stanovení ověřovacích postupů .....	20
2.1.3.7 Vytvoření dokumentace.....	21
2.2 Potravinářská mikrobiologie .....	21
2.2.1 Mikrobiologická kontaminace .....	22
2.2.2 Základní podmínky pro život mikroorganismů .....	22
2.2.3 Šíření mikroorganismů.....	23
2.2.4 Přerušení cesty přenosu.....	24
2.2.4.1 Mechanická očista.....	26
2.2.4.2 Dezinfekce .....	26
2.2.4.3 Sterilizace.....	27
2.2.4.4 Dezinfekce a deratizace .....	28
2.2.5 Kontrola mikrobiální kontaminace povrchů .....	28
3 Výzkumná část.....	30
3.1 Cíle a výzkumné předpoklady.....	30
3.2 Metodika výzkumu .....	31
3.2.1 Analýza situace .....	32
3.2.2 Mikrobiologicky kontaminovaná místa stanovená teoreticky a citlivostní analýza .....	33
3.2.3 Průběh měření .....	35
3.2.4 Průběh kontrolního měření .....	36

3.3	Analýza výzkumných dat.....	37
3.3.1	Výsledky měření .....	37
3.3.2	Návrh limitních hodnot .....	41
3.3.3	Návrh nápravných opatření.....	42
3.3.4	Výsledky kontrolního měření .....	45
3.4	Analýza výzkumných cílů a předpokladů .....	52
4	Diskuze.....	54
5	Návrh doporučení pro praxi .....	55
6	Závěr .....	57
	Seznam použité literatury .....	58
	Seznam tabulek.....	61
	Seznam příloh .....	62

## Seznam použitých zkratk

HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points (analýza rizik a kritických kontrolních bodů)
NASA	National Aeronautics and Space Administration (Národní úřad pro letectví a kosmonautiku)
EEC	European Economic Community (Evropské hospodářské společenství)
č.	číslo
Sb.	Sbírka zákonů
mj.	mimo jiné
např.	na příklad
aj.	a jiné
atd.	a tak dále
ČSN	česká technická norma
EK	Evropská komise
ČR	Česká republika
CCP	Critical Control Point (kritický kontrolní bod)
Obr.	obrázek
apod.	a podobně
tzv.	takzvaný
atp.	a tak podobně
tzn.	to znamená
pH	potential of hydrogen (vodíkový exponent)
DDD	ochranná dezinfekce, dezinsekce a deratizace
resp.	respektive
popř.	po případě
cm	centimetr
KTJ	kolonie tvořící jednotku
g	gram
ml	mililitr
cm <sup>2</sup>	centimetr čtvereční
CxI	Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace
Tab.	tabulka
KHS	Krajská hygienická stanice

# 1 Úvod

Tato práce se zabývá rozbořem nebezpečí mikrobiologické kontaminace výrobků v podniku na výrobu potravinářských obalů. Výroba obalů určených pro přímý styk s potravinami je považována za činnost epidemiologicky závažnou, a proto je třeba dbát na požadovanou zvýšenou hygienickou situaci a dodržování zavedených opatření a standardů, které zajišťují zdravotní nezávadnost výsledných produktů.

V teoretické části je popsán systém HACCP, jeho stručná historie, národní legislativa a normativní předpisy k němu se vztahující a požadavky a principy tohoto systému. Dále je zde přehledně shrnuta problematika potravinářské mikrobiologie, definován pojem mikrobiologická kontaminace, jsou tu popsány základní podmínky nutné pro život mikroorganismů, způsoby šíření mikroorganismů a opatření vedoucí k přerušení cesty přenosu mikrobů, kam se řadí mechanická očista, dezinfekce, sterilizace, dezinfekce a deratizace. Na závěr jsou zde stručně shrnuty metody kontroly mikrobiologické kontaminace povrchů.

Praktická část práce se zabývá jednotlivými cíli práce. Těmi se rozumí provést analýzu situace, tedy popsat základní hygienickou situaci, zavedené standardy a opatření pro udržování hygieny v podniku, teoreticky vyhledat místa s největší úrovní mikrobiologické kontaminace a následně provést citlivostní analýzu, to znamená zjistit vliv těchto mikrobiologicky kontaminovaných míst na kontaminaci výrobků, ověřit výsledky analýzy měření, dle tohoto měření navrhnout v souladu se standardy limitní hodnoty kontaminace, navrhnout nápravná opatření a po dohodě s manažerem kvality firmy Faerch Plast Ing. Jiřím Heroldem realizovat vybraná nápravná opatření, jejichž účinnost bude ověřena kontrolním měřením a nakonec navrhnout možnost použití vypracovaného postupu i pro jiné aplikace.

## 2 Teoretická část

### 2.1 Systém HACCP

Zkratka HACCP pochází z anglického výrazu Hazard Analysis and Critical Control Points, v češtině se užívá termín analýza nebezpečí a identifikace kritických kontrolních bodů. Tento systém používaný v potravinářství zaručuje včasné rozpoznání rizika zdravotní závadnosti potravin a vede k zamezení jejího vzniku (1). Systém HACCP stanovuje postupy a prostředky nutné k předcházení těmto nebezpečím a definuje způsoby kontroly a následná nápravná opatření k zajištění účinnosti tohoto preventivního systému (2).

Systém HACCP se zakládá na sledování klíčových faktorů (kritických bodů), které mají vliv na bezpečnost a zdravotní nezávadnost pokrmů, a to během celého výrobního procesu. Z toho je zřejmé, že realizace systému kritických bodů vyžaduje spolupráci specialistů z rozdílných oborů od technologa přes inženýra až po manažera kvality (1). Tento tým HACCP, který celý systém řídí, kontroluje jeho efektivnost a stará se o jeho aktualizaci, má za cíl identifikovat kritické body a definovat možná nebezpečí z hlediska mikrobiologické, chemické či fyzikální kontaminace. V rámci způsobu, jak zjistit efektivitu systému HACCP, se osvědčily audity, a to jak interní, tak i externí (3).

#### 2.1.1 Historie systému HACCP

Systém HACCP byl vyvinut armádní laboratoří Národního úřadu pro letectví a kosmonautiku (NASA) ve Spojených státech amerických ve spolupráci se soukromou společností Pillsbury pracující s potravinami, jejichž cílem bylo založit systém, který zajistí zdravotní nezávadnost a bezpečnost potravin určených pro astronauty. Tento systém byl v jeho návrhu z roku 1960 uznán a následně doporučován odborníky na bezpečnost potravin (4). V 60. letech 20. století se stal standardem v zajišťování zdravotní nezávadnosti potravin (4), když organizace Codex Alimentarius vydala dokument, jehož částí je Kodexová směrnice pro aplikaci systému HACCP v praxi (5).

Podle normy schválené organizací Codex Alimentarius vznikla direktiva 93/43 EEC platná pro členské země Evropského společenství, která zavedla povinnost aplikace systému HACCP do potravinářské výroby do konce roku 1995. V Česku tato povinnost nastala k 1. 1. 2000 dle zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích, ve znění pozdějších předpisů (5). Nicméně k rozsáhlejšímu zavádění systému HACCP v tuzemsku docházelo už od roku 1996, a to zejména v mlékárenském, masném a drůbežářském průmyslu (1). Náležitosti systému HACCP byly upravovány vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 147/1998 Sb., o způsobu stanovení kritických bodů v technologii výroby, která nabyla účinnosti dnem 1. 10. 1998. Definovala mj. analýzu nebezpečí, specifikovala kritické meze a stanovovala, co musí obsahovat systém evidence a jak nakládat se vzniklou dokumentací a přidruženými záznamy (6).

### 2.1.2 Aktuálně platná národní legislativa a normativní předpisy

K 1. 1. 2001 vešel v účinnost zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů. Zákon vymezuje základní pojmy jako např.: veřejné zdraví, hodnocení zdravotních rizik, infekční onemocnění, karanténa aj. Upravuje hygienické požadavky na vodu, na provoz zdravotnických zařízení, na výkon činností epidemiologicky závažných. Vymezuje hygienické požadavky na materiály a předměty určené pro styk s potravinami, upravuje ochranu zdraví při práci a specifikuje kategorizaci prací. Dále stanovuje, co se rozumí ochrannou dezinfekcí, dezinfekcí a deratizací, stanovuje úkoly orgánu státní správy v ochraně veřejného zdraví atd. (7).

Povinnost výroby zdravotně nezávadných potravin nařizuje zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů (5). Zákon mj. vymezuje povinnosti provozovatelů potravinářských podniků, distributora tabákových výrobků, upravuje uvádění potravin na trh, označování potravin, označování tabákových výrobků a definuje státní dozor nad dodržováním povinností plynoucích z tohoto zákona (8).

Dalším zákonem majícím souvislost s problematikou HACCP je zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon). V zákoně jsou stanoveny požadavky veterinární péče na živočišné produkty. Dle zákona veterinární péče obsahuje i péči o zdravotní nezávadnost živočišných produktů a také péči

o ochranu lidí před poškozením jejich zdraví živočišnými produkty. Zákon definuje, co se rozumí živočišnými produkty a zdravotně nezávadnými živočišnými produkty, jaké jsou požadované kvality těchto produktů a jejich mikrobiologická kritéria. Dále upravuje, kdo je povinen a za jakých okolností užívat systém analýzy rizika a kritických kontrolních bodů, co se týče veterinární asanace (9).

Obecné hygienické požadavky na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmu jsou dány vyhláškou č. 38/2001 Sb., o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmu. Vyhláška upravuje požadované složení výrobků určených pro styk s potravinami a hygienické požadavky na jednotlivé materiály. V přílohách vyhlášky jsou vyjmenovány jednotlivé látky použitelné při produkci těchto výrobků, uvedena pravidla pro kontrolu povolených migračních limitů a další (10).

Vyhláška č. 137/2004 Sb., o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných stanovuje podmínky uvádění pokrmů do oběhu, označování rozpracovaných pokrmů, způsob stanovení kritických bodů a následnou evidenci, zásady provozní a osobní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných aj. (11).

Pro provozovatele podniků, které vyžadují implementaci funkčního systému HACCP, existuje v Česku norma vydaná v roce 2007 ČSN 56 9606 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Obecné principy hygieny potravin, která vychází z již zmíněného dokumentu Codex Alimentarius, ze kterého taktéž čerpá i první část doporučení Společenství z roku 2005 – Návod EK pro implementaci postupů založených na principech HACCP a podporu implementace principů HACCP v určitých potravinářských firmách (5).

V neposlední řadě jsou požadavky na systém HACCP určeny ve věstníku Ministerstva zemědělství ČR z roku 2010 v dokumentu Všeobecné požadavky na systém analýzy nebezpečí a stanovení kritických kontrolních bodů (HACCP) a podmínky pro jeho certifikaci. Jsou zde shrnuty veškeré požadavky na systém kritických kontrolních bodů, definovány pojmy jako analýza nebezpečí, bezpečnost potravin, kritický kontrolní bod, nebezpečí, monitoring a mnoho dalších. Dokument specifikuje evidenci systému HACCP a stanovuje požadavky na orgány provádějící certifikaci systému HACCP. Tato certifikace je dobrovolná a vypovídá o splnění požadavků vyšší úrovně, než jaká je vyžadována legislativou (12).

Náležitosti systému HACCP implementovaného ve zdravotnických zařízeních stanovuje Manuál pro zavádění systému kritických bodů (HACCP) ve stravovacích provozech zdravotnických zařízení. Jsou zde podrobně popsány jednotlivé požadavky a principy systému HACCP s důrazem na specifickou citlivost konzumentů, jakou můžou být speciální diety pacientů (13).

### 2.1.3 Požadavky a principy systému HACCP

Mezi základní požadavky na systém HACCP patří vymezení činnosti a odpovědnosti výrobce, sestavení týmu HACCP, popis výrobků (14), identifikace zamýšleného použití (zohlednění cílové skupiny spotřebitelů), sestavení proudového diagramu a potvrzení tohoto diagramu v provozu (12). Tento proudový diagram neboli diagram výrobního procesu je jakousi osnovou pro analýzu nebezpečí (14). Musí pokrývat všechny fáze výroby, zpracování i distribuce a může být nahrazen úplným slovním popisem výroby. Pokud se při jeho potvrzování za běžného provozu objeví odchylky od skutečnosti, musí být přepracován ve shodě s reálnou situací (12).

Systém HACCP se skládá ze sedmi principů. Těmi jsou provedení analýzy nebezpečí, stanovení kritických kontrolních bodů (CCP), stanovení kritických mezí, vytvoření systému sledování stavu CCP, stanovení nápravných opatření, stanovení ověřovacích postupů za účelem zjištění účinnosti systému HACCP, vytvoření dokumentace obsahující všechny odpovídající postupy a záznamy (4).

#### 2.1.3.1 Analýza nebezpečí

Za předpokladu, že v rámci výrobního postupu mohou existovat rizika ohrožující bezpečnost potravin, je nutné všechna tato rizika zahrnout do analýzy nebezpečí (12). Nebezpečí mohou být biologická (kontaminace mikroorganismy či škůdci), chemická (kontaminace chemickými látkami) nebo fyzikální (kontaminace mechanickými nečistotami) (15). Pro každé takové nebezpečí se musí stanovit příslušné preventivní ovládací opatření (13). Zjednodušeně se tedy jedná o seznam výrobních kroků, hrozících nebezpečí a ovládacích opatření (15). Při tvorbě tohoto seznamu (analýzy nebezpečí) se zohledňují vlastnosti potravin, postupy a výrobní technologie, stav prostor a jejich



zařízení (12) stejně tak jako vliv používaných výrobních procesů na ovládání nebezpečí, epidemiologická situace v dané oblasti a možný vliv lidského faktoru (13).

#### 2.1.3.2 Stanovení kritických kontrolních bodů

Kritickými kontrolními body se rozumí takové výrobní kroky, kde by ztráta jejich ovládání mohla vést k nepřijatelnému zdravotnímu riziku (4). K odstranění nebezpečí nebo jeho snížení na přijatelnou úroveň je potřeba v těchto místech aplikovat ovládací opatření (15), tím může být např. upřesnění postupu, zavedení kontroly, změna technologie, stanovení kontrolního bodu nebo zavedení kritického bodu (13). Stanovení CCP hraje v systému HACCP významnou roli, jejímž důsledkem je bezpečný stav (15). Postup, kdy existuje nebezpečí, ale nepodařilo se stanovit kritický bod, musí být vhodně upraven či zcela zrušen. Ukázkové schéma, jak lze postupovat při stanovení CCP, je vyobrazeno v Příloze A (viz Příloha A, Obr. 1).

#### 2.1.3.3 Stanovení kritických mezí

Pro každý kritický kontrolní bod musí být stanovena kritická mez (12). V každém CCP musí být určeny znaky (veličiny nebo stavy hodnotící průběh procesu), které budou sledovány (15) a které vypovídají o tom, zda je CCP ve zvládnutém stavu (13). Zvládnutým stavem se myslí stav, kdy jsou zdravotní rizika vyloučena nebo minimalizována na přijatelnou úroveň (13). Kritická mez je poté hodnota znaku v každém ovládacím opatření (15), která definuje hranici mezi přijatelným a nepřijatelným stavem (13). V každém kritickém kontrolním bodu může být určeno více znaků např. teplota, výsledek mikrobiologického hodnocení nebo průvodní dokumentace zdravotní nezávadnosti (13). Hodnoty kritických mezí se doporučuje stanovovat tak, aby byly přesně definovatelné, měřitelné a kontrolovatelné (15).

#### 2.1.3.4 Vytvoření systému sledování stavu CCP

Dle normy (12) musí být součástí systému sledování stavu CCP jasně definované způsoby a metody tohoto monitoringu, jeho frekvence, konkrétní osoba jím pověřená

a kritické meze stanovené pro jednotlivé znaky kritického kontrolního bodu (12). Cílem je objevení nezávadného stavu a aplikace následného nápravného opatření vedoucího k změně z nezávadného stavu na stav zvládnutý. Zvládnutým stavem se myslí stav, kdy jsou zdravotní rizika vyloučena nebo minimalizována na přijatelnou úroveň (13).

#### 2.1.3.5 Stanovení nápravných opatření

Dalším krokem je zavedení nápravných opatření, která aplikujeme, pokud monitoring odhalí překročení kritických mezí u kritického bodu (4). Nápravné opatření může být definováno jako sled činností, které se použijí, pokud se překročí kritická mez v daném CCP. Toto opatření zabezpečuje nastolení zvládnutého stavu a taktéž stanovuje, jak se naloží s produkty postiženými překročením kritické meze (16). Při překročení kritických mezí u CCP se mimo následná nápravná opatření stanoví i osoba odpovědná za jejich provedení (12). Nápravná opatření slouží k ujištění, že výsledný produkt je zdravotně nezávadný (4). Nápravným opatřením může být vyřazení potravin, změna použití, stažení ze skladu apod. (13). Všechna provedená nápravná opatření musí být příslušně zdokumentována (12).

#### 2.1.3.6 Stanovení ověřovacích postupů

Ověřovací postupy jsou takové postupy, které udržují systém efektivní, aktuální a co nejlépe předcházející možným nebezpečím (16). Mezi tyto postupy patří verifikace, validace a audity. Verifikací se rozumí ověření metod měření a správnosti nastavení kritických mezí, při validaci se získávají důkazy o účinnosti všech prvků systému kritických kontrolních bodů a audit může být definován jako systematické a nezávislé ověřování úrovně HACCP. Přičemž audit může být interní (pak ho provádí pracovníci podniku), nebo externí (ten provádí externí pracovníci) (13). Četnost systému ověřovacích postupů je minimálně jednou za dva roky, přičemž interní audity se musí provádět alespoň jednou ročně (12). Četnost auditů může být ovlivněna mj. změnami výrobních postupů, změnami plánu CCP, frekvencí překračování kritických mezí, příchodem nových pracovníků, epidemiologickou situací (13).

### 2.1.3.7 Vytvoření dokumentace

Dokumentace je klíčovou částí systému HACCP (13). Rozsah této dokumentace musí být odpovídající velikosti podniku. V dokumentaci jsou obsaženy dokumenty o sestavení týmu HACCP, sestavení a potvrzení proudového diagramu, identifikovaných nebezpečích a následných ovládacích opatřeních, o stanovení CCP a jejich kritických mezích, systému sledování stavu CCP a jejich nápravných opatřeních a dále záznamy o ověřovacích postupech, účasti zaměstnanců na školeních aj. (12). Doporučenou dokumentací je sanitační a havarijní řád, dokumentace o zdravotním stavu zaměstnanců, dodavatelské smlouvy apod. (13).

## 2.2 Potravinářská mikrobiologie

Mikrobiologie je věda zabývající se studiem vlastností a způsobu života mikroorganismů a jejich významu pro ostatní organismy (17). Jejím podoborem je potravinářská mikrobiologie, která se zaměřuje na mikroorganismy úzce spjaté s potravinami (1). Mikroby můžeme rozdělit do čtyř hlavních skupin, tou první jsou viry (18). Jedná se o tzv. podbuněčné struktury (19), které parazitují na hostitelské buňce, na které jsou zcela závislé (17). Další skupinu mikroorganismů tvoří bakterie, což jsou malé buňky bez buněčného jádra s velmi jednoduchou strukturou (20). Do další skupiny patří houby, které jsou větší a vyvinutější než bakterie. Řadí se sem jednobuněčné kvasinky a mnohobuněčné plísňe (17). Poslední skupinou jsou prvoci, tedy jednobuněčné organismy, jejichž eukaryotická buňka je oproti bakteriím a houbám složitější (18).

Mikroby většinou nejsou okem rozpoznatelné. Pokud je možné je pozorovat pouhým okem, znamená to, že došlo k pomnožení z jedné buňky na několik milionů buněk a vytvoření tzv. kolonií (19). Pro mikroorganismy je výhodné růst ve formě biofilmu, který je chrání, udržuje homeostázu a vytváří izolaci od okolí. Biofilm může být definován jako společenstvo mikroorganismů a jejich extracelulárních produktů, kde jednotlivé buňky tvořící biofilm jsou přichyceny k podkladu nebo k sobě navzájem (21). Vznik a tvorbu biofilmu ovlivňují vlastnosti povrchu, prostředí, koncentrace živin, přítomné druhy mikroorganismů a jejich vzájemné vztahy (22). V přírodě se biofilm vyskytuje běžně (22) a často je i základní formou přirozeného výskytu mikroorganismů (21).

## 2.2.1 Mikrobiologická kontaminace

Mikrobiologická kontaminace je stav, při kterém dochází ke znečištění produktů nebo potravin nežádoucími, či dokonce škodlivými mikroorganismy (19). Je důležité si uvědomit, že mikroorganismy se přirozeně a ve velkém množství vyskytují v životním prostředí, tedy v půdě, ve vodě i ve vzduchu. Většina z nich je neškodná, některé mohou být nezbytné pro život jiných organismů a žít s nimi v symbióze. Existují však i mikroby, které způsobují závažná, někdy i smrtelná onemocnění a znehodnocují potraviny, materiály či výrobky (23).

V potravinářství lze z hlediska zdravotní nezávadnosti mikroby dle jejich účinku rozdělit na mikroorganismy s žádoucím účinkem a na mikroorganismy s účinkem nežádoucím, a tedy škodlivým (19). Mikrobiální biofilm s žádoucím účinkem je buď přímo součástí potraviny, jako je tomu např. u plísňových sýrů, nebo je součástí výrobního kroku, při kterém se původní surovina mění ve výsledný produkt. Příkladem je použití biofilmu ve vinařství, pivovarnictví, při výrobě octu, sýrů apod. (21). K mikroorganismům s nežádoucím účinkem se řadí mikroorganismy, které způsobují kažení potravin, nemusí ale přímo ohrožovat zdraví člověka. Může se jednat o změnu vůně, konzistence, barvy produktu atp. Dále sem patří mikroby vyvolávající onemocnění. Ty obvykle nezpůsobují kažení potraviny, produkt tak na první pohled nevykazuje žádné změny v chuti či vůni. K vyvolání onemocnění dojde, pokud počet mikroorganismů překročí tzv. infekční dávku. Poslední skupinou mikroorganismů se škodlivým účinkem jsou mikroby, které během svého růstu a množení produkují zdraví ohrožující toxiny (19).

## 2.2.2 Základní podmínky pro život mikroorganismů

Aktivita a vývoj mikroorganismů závisí na vnějším prostředí, zejména na množství živin, dostupné energii a na fyzikálních, chemických a biologických podmínkách (22). Mezi základní podmínky nezbytné pro život, růst a rozmnožování mikroorganismů patří teplota, kyslík, voda a živiny (24). Většina mikroorganismů se ale k vnějšmu prostředí umí adaptovat, tzn. přizpůsobit se aktuálním podmínkám (22).

Jednou z nejdůležitějších podmínek je teplota. Ta ovlivňuje především rychlost metabolismu, rozmnožování a samotnou existenci buňky mikroorganismu (22). V závislosti na optimální teplotě potřebné k jejich životu se mikroby dělí na psychrofilní,

mezofilní a termofilní. Psychofilní neboli chladnomilné potřebují k životu teplotu 15 až 20 °C (24), ale poměrně snadno se přizpůsobí i vyšším teplotám (22). Pro mezofilní mikroorganismy je charakteristická optimální teplota 20 až 40 °C a jedná se o nejpočetnější skupinu mikrobů (22). Spadá sem většina mikroorganismů žijících v lidském těle. Poslední skupinou jsou termofilní neboli teplomilné mikroorganismy, které rostou nejlépe při teplotách 50 až 60 °C (24). Dostatečně vysoká teplota se ovšem může projevit i jako inhibiční faktor, kdy začne docházet k ireverzibilní denaturaci bílkovin, a to především těch enzymaticky aktivních, a k inaktivaci mikroorganismu. U mezofilních mikrobů k tomuto jevu dochází již od teploty 60 °C (22).

Dalším základním faktorem pro růst a rozmnožování mikroorganismů je kyslík. Mikroby, které pro svůj život kyslík potřebují, označujeme jako aerobní. Ty, které rostou bez přítomnosti kyslíku, se nazývají anaerobní. Fakultativně anaerobní mikroorganismy jsou schopny růst a rozmnožovat se v prostředí obsahující kyslík stejně tak jako v prostředí bez kyslíku. Existují i mikroorganismy upřednostňující prostředí s malým obsahem kyslíku a převahou oxidu uhličitého, tzv. mikroaerobní mikroby (24).

Voda je nepostradatelnou součástí metabolismu. Metabolismus neboli látková výměna je souhrn chemických reakcí, které probíhají v buňkách. Metabolické procesy mohou být katabolické, při kterých dochází ke štěpení složitých látek na látky jednoduché, a anabolické, kdy se uplatňuje syntéza jednoduchých látek na látky složité (24). Pokud je nabídka vody nedostatečná nebo je voda pevně vázána, mikroorganismy rostou pomaleji a hůře (19).

Dalšími podmínkami, které ovlivňují životní aktivitu mikroorganismů, je např. tlak, přítomnost záření, druh tohoto záření a pH prostředí (22). Za příznivých podmínek mikroorganismy rostou a množí se, při zhoršení těchto podmínek se u některých druhů uplatňují mechanismy umožňující přežití. Jedná se o tzv. spory, což je stadium, při kterém se metabolické procesy omezí na minimum a zcela se zastaví enzymatické procesy (24).

### 2.2.3 Šíření mikroorganismů

Šíření mikroorganismů může probíhat v jejich vegetativní nebo klidové formě. Klidové formy mikrobů méně ovlivňuje vnější prostředí a k jeho podmínkám nejsou tolik citlivé, proto je pro mikroorganismy výhodnější se rozšiřovat klidovou formou. Pokud se

mikroorganismus dostane do prostředí s příznivými podmínkami, pak v závislosti na rychlosti růstu a množení daného mikroorganismu dokáže během pár dní či dokonce několika hodin zaujmout významné místo na daném stanovišti. Obecně se mikroorganismy mohou šířit vodou, za účasti živočichů, neživých předmětů a vzduchem, kterým se mikroorganismy pouze šíří, nerostou ani se nemnoží. Významnou cestou přenosu mikrobů je potrava. Spolu s ní se do člověka dostává rozmanité množství mikroorganismů, a to jak těch prospěšných, tak i patogenních (22).

Z epidemiologického hlediska probíhá šíření mikroorganismů ve třech krocích. Tím prvním je vylučování mikroba ze zdroje nákazy, následuje přežívání mikroorganismu ve vnějším prostředí, tzn. ve vzduchu, v půdě, na předmětech apod. (24) Přičemž všechny plochy a materiály, na kterých se vyskytují mikroorganismy, pokládáme za mikrobiálně kontaminované. Posledním krokem je vniknutí do tzv. vnímavého jedince. Toto vniknutí se uskuteční např. vdechnutím, polknutím, píchnutím nebo poškrábáním kůže či sliznice, která dále netvoří přirozenou překážku pronikání mikroorganismu (23).

Cesta přenosu se dělí na přímou a nepřímou. Přímý přenos je takový, při kterém je současně přítomen zdroj nákazy a vnímavý jedinec (23). Jedná se tedy o přímý kontakt kůže nebo sliznice, přenos kapénkami při mluvení, kýchání a kašlání nebo pokousání či poškrábání zvířetem (17). Při nepřímém přenosu se uplatňují mikrobiologicky kontaminované materiály (23). Nepřímý přenos je zprostředkován kontaminovanými předměty (kliky dveří, kapesníky), vodou, vzduchem nebo půdou (17), dále pak potravinami, hmyzem či kontaminovanými rukama (23).

#### 2.2.4 Přerušování cesty přenosu

Opatření vedoucí k přerušování cesty přenosu mikrobů jsou namířena především proti potenciálně patogenním mikroorganismům, které za určitých podmínek mohou vyvolat infekční onemocnění (23). Jestliže nedojde ke kompletnímu odstranění mikroorganismu z kontaminovaného povrchu, s velkou pravděpodobností se zde opět vytvoří biofilm a zároveň dojde ke zvýšení jeho odolnosti vůči danému prostředí. Toto platí i pro prostředí přicházející do přímého styku s potravinami. Proto je snaha eliminovat přítomnost biofilmů ve výrobním prostředí a zvyšovat tak bezpečnost a kvalitu produktů (21).

Základem těchto opatření vedoucích k přerušení cesty přenosu je dekontaminace. Jedná se o proces, při kterém dochází k usmrcení nebo odstranění mikroorganismů z prostředí nebo z předmětů, a to bez ohledu na snížení jejich počtu (17). Dekontaminaci ovlivňuje teplota, vlhkost vzduchu, reakce pH a povrchové napětí (24). Smáčivější povrch dovoluje lepší přístup přípravku k buňce a její buněčné stěně. Dle míry účinnosti daného postupu se rozlišuje mechanická očista, dezinfekce a sterilizace (23). Dezinfekce a deratizace jsou procesy, které vedou k usmrcení přenašečů mikrobů nebo rezervoárových živočichů (17).

Ochranná dezinfekce, dezinfekce a deratizace (DDD) je činnost, která směřuje k ochraně zdraví osob, životních a pracovních podmínek před původci a přenašeči infekčních onemocnění a před škodlivými a epidemiologicky významnými živočichy (23). Rozděluje se na běžnou ochrannou DDD, jež zahrnuje čištění a obvyklé výrobní a pracovní postupy vedoucí k předcházení vzniku infekčních onemocnění a výskytu škodlivých a epidemiologicky významných živočichů, a na speciální ochrannou DDD (17). Ta je definována jako odborná činnost, která cílí na zneškodnění původců nálezů, zvýšeného výskytu přenašečů infekčních onemocnění a škodlivých a epidemiologicky významných živočichů (23).

K provádění ochranné DDD se smí používat jen přípravky uvedené na tuzemský trh dle platných předpisů způsobem stanoveným výrobcem v návodu, a to za použití ochranných pracovních pomůcek a dodržení pravidel ochrany zdraví při práci (17). Přípravky se používají v co nejmenší nezbytně nutné míře tak, aby nedošlo k poškození životního a pracovního prostředí a zároveň byly splněny všechny požadavky ochranné dezinfekce, dezinfekce a deratizace (23).

Při činnostech epidemiologicky závažných je provádění ochranné DDD významnou částí protiepidemického režimu. Mezi činnosti epidemiologicky závažné patří výroba a uvádění potravin do oběhu, provozování stravovacích služeb a úpraven vod, výroba kosmetiky, ale i provozování kadeřnictví, masérských a regeneračních služeb a mnoho dalších (17).

#### 2.2.4.1 Mechanická očista

Součástí mechanické očisty je úklid, mytí a praní (24). Jedná se o soubor postupů, které vedou k odstranění nečistot a biofilmů z materiálů a ploch (23), čímž dochází ke snížení počtu přítomných mikroorganismů (24). K mechanické očištění se běžně používají čisticí prostředky (povrchově aktivní látky), tedy detergenty a mýdla. Případně tyto prostředky mohou mít i antimikrobiální účinek, pak se jedná o dezinfekční přípravky (24).

Mechanická očista může být fyzikální, ta je prováděna pomocí čisticích strojů, tlakových pistolí, ultrazvukových přístrojů, vysavačů, kartáčů, mopů atp., a chemická, při které se používá co nejteplejší voda s detergenty nebo mýdly. Při míchání různých čisticích přípravků může docházet ke změnám vlastností a ztrátě účinnosti, proto je dovoleno takto činit pouze se souhlasem výrobce. Po použití čisticích přípravků nesmí docházet k poškození čistěných ploch nebo změně čistěných materiálů (23).

Úklid se vykonává zásadně navlhko, aby se zamezilo víření prachu (24). Frekvenci úklidu si stanovuje organizace sama a měla by být uvedena v provozním řádu. Úklid provádí buď vlastní proškolení pracovníci, nebo externí pracovníci s příslušnou kvalifikací. Pro jednotlivé úkony by měly být určeny konkrétní úklidové prostředky (23), které je nutno po skončení úklidu dezinfikovat a usušit (24).

#### 2.2.4.2 Dezinfekce

Dezinfekce je soubor opatření vedoucích ke zneškodnění a zamezení přežívání mikrobů na materiálech či plochách. Cílem je přerušování cesty přenosu mikroorganismů. Aplikace dezinfekce nesmí vést k poškození či jinému znehodnocení dezinfikovaného povrchu a zároveň musí být dostatečně účinná (24). Účinnost dezinfekce je ovlivněna podmínkami vnějšího prostředí a odolností mikrobů. Postup dezinfekce se pak volí v závislosti na známých cestách přenosu mikroorganismů (23).

V souvislosti s epidemiologickou situací se dezinfekce dělí na preventivní a represivní (24), resp. na běžnou a speciální (23). Běžná ochranná dezinfekce (preventivní dezinfekce) tvoří komplexní hygienická opatření (23) prováděná za předpokladu přítomnosti původců nákazy, a to bez nutnosti výskytu infekčního



onemocnění (24). Provádí se na frekventovaných místech s vysokou koncentrací osob (24), v potravinářství, zábavních střediscích, ve zdravotnické a farmaceutické výrobě atd. (23). Preventivní dezinfekce může být také součástí technologie výroby (pasterizace mléka, úprava pitné vody). Speciální ochranná dezinfekce (represivní dezinfekce) cílí na zneškodnění patogenních mikrobu v ohnisku nákazy a předchází rozšíření infekčního onemocnění (24). Součástí protiepidemického opatření je jako tzv. dezinfekce průběžná, po ukončení těchto opatření se nazývá dezinfekcí závěrečnou (23).

Rozlišují se čtyři způsoby dezinfekce: fyzikální, chemická, fyzikálně-chemická a biologická (23). Fyzikální dezinfekce je charakterizována užitím účinků vysoké teploty a ultrafialového záření. Při chemické dezinfekci se využívá mikrobicidního účinku chemických látek. Tyto metody v praxi převládají nad fyzikálními hlavně kvůli své účinnosti. Fyzikálně-chemická dezinfekce kombinuje účinky předchozích dvou způsobů dezinfekce (24). Posledním způsobem je biologická dezinfekce, při které se aplikuje mezidruhový parazitismus mikroorganismů (23). Konkrétní příklady jednotlivých způsobů dezinfekcí jsou uvedeny v příloze B (viz Příloha B, Obr. 2).

Dezinfekční přípravky by měly vykazovat široké spektrum dezinfekčního účinku, rezistence mikroorganismů vůči těmto přípravkům by měla být minimální, jejich účinnost by neměla být snadno ovlivnitelná vnějšími podmínkami, nesmí být toxické, dráždivé a nestabilní, nesmí poškozovat dezinfikovaný povrch, k požadovanému účinku by měly postačovat nízké koncentrace a krátké expozice daného přípravku aj. (24).

#### 2.2.4.3 Sterilizace

Sterilizace je definována jako proces vedoucí k likvidaci všech mikroorganismů i jejich spor a k ireverzibilní inaktivaci virů. Proces sterilizace probíhá ve sterilizačních přístrojích, tzv. sterilizátorech (23). Jako sterilní se označují materiály a plochy bez přítomnosti jakýchkoli životaschopných mikroorganismů. Sterilizační proces je tvořen třemi fázemi (24). První fází je předsterilizační příprava, která zahrnuje mechanickou očistu, dezinfekci a sušení (23). Na ni navazuje vlastní proces sterilizace, při kterém je nutné dodržet předepsané parametry zvoleného způsobu, tzn. předepsaný tlak, teplotu či dobu sterilizace. Poslední fází je uložení již sterilního materiálu (24).

Existují dva způsoby sterilizace, a to fyzikální a chemická, popř. se tyto dvě metody mohou kombinovat (23). Fyzikální sterilizace může být parní, která využívá syté vodní páry, označuje se také jako sterilizace vlhkým teplem, horkovzdušná, při které se sterilizuje proudícím horkým vzduchem (23), dále pak sterilizace plazmou, jež vzniká za přítomnosti vakua působením vysokofrekvenčního elektromagnetického pole nejčastěji na páry peroxidu vodíku, a radiační sterilizace, označovaná také jako průmyslová sterilizace, jež využívá elektromagnetické záření o vysoké energii (24). Chemická sterilizace se používá především na materiál, který nelze sterilizovat fyzikálními způsoby (23). Sterilizačním médiem bývá formaldehyd, ethylenoxid a další chemické látky (24).

#### 2.2.4.4 Dezinsekce a deratizace

Cílem dezinsekce je potlačení škodlivého a epidemiologicky závažného hmyzu, především členovců. Běžnou ochrannou dezinsekcí, tedy provádění preventivních opatření k hubení členovců a zabránit tak jejich přemnožení, jsou povinni provádět všichni občané. Nejvíce se používají chemické dezinsekční prostředky – insekticidy. Jde především o kontaktní a dýchací jedy, druhé jmenované mají skoro okamžitý účinek, ale zároveň jsou toxické i pro člověka (24).

Deratizace je proces, při kterém dochází k cílenému hubení škodlivých nebo epidemiologicky významných hlodavců či jiných živočichů. Běžnou ochrannou deratizací je opět povinen provádět každý, a znamená to zamezit přístupu k potravinám, hygienicky likvidovat odpad, popř. provést nějaká mechanická opatření (mříže). Příkladem fyzikálního deratizačního prostředku jsou různé pasti apod. Chemické deratizační prostředky označujeme jako rodenticidy. Tyto prostředky opět fungují na základě jedů. Biologickými prostředky sloužícími k deratizaci by v případě hlodavců mohli být přirození nepřátelé jako např. kočka a lasice (24).

#### 2.2.5 Kontrola mikrobiální kontaminace povrchů

Jde o ověření účinnosti používaných dezinfekčních postupů, tedy o ověření nepřítomnosti nežádoucích mikroorganismů, v praxi. Kontroluje se, zda došlo k usmrcení

bakterií a plísní na dezinfikovaných materiálech. Principem těchto metod je průkaz mikrobiální kontaminace po provedení dezinfekce daného povrchu. K tomu se využívá sejmutí mikroorganismů z povrchu a jejich následná kultivace. Tyto mikroby se mohou identifikovat nebo se pouze kvantitativně stanovit všechny přítomné životaschopné mikroorganismy (23).

Jednou z metod kontroly mikrobiální kontaminace povrchů je stěr sterilním tamponem z plochy 10 cm × 10 cm, který se vytřepe do kultivačního média. Další metodou je ponoření materiálu do kultivační půdy. V obou případech se následně vyhodnocuje růst mikroorganismů. Příkladem kvantitativní metody může být metoda otisková. Plocha se otiskne přímo na kultivační médium, anebo se otisk provede nepřímo sterilním filtračním papírem, který se přenesení na živnou půdu (23). Následně se celkový počet mikroorganismů vyjádří jako KTJ (kolonie tvořící jednotku) vztažená na 1 g, 1 ml nebo 1 cm<sup>2</sup> vzorku (1).

## 3 Výzkumná část

### 3.1 Cíle a výzkumné předpoklady

Cíle práce:

- 1) Analyzovat situaci: popsat základní hygienickou situaci, zavedené standardy a opatření pro udržování hygieny.
- 2) Teoreticky vyhledat místa s největší úrovní mikrobiologické kontaminace. Provést citlivostní analýzu: zjistit vliv těchto kontaminovaných míst na kontaminaci výrobků.
- 3) Ověřit výsledky analýzy měření.
- 4) Navrhnout limitní hodnoty kontaminace v souladu se standardy pro měření.
- 5) Navrhnout nápravná opatření. Po dohodě s technologem realizovat vybraná nápravná opatření.
- 6) Provést kontrolní měření.
- 7) Navrhnout možnost použití vypracovaného postupu i pro jiné aplikace, například pro obaly používané v mikrobiologii i v genetice.

Výzkumné předpoklady:

Pro vypracování této bakalářské práce se předpokládá nastudování hygienických norem a standardů, dle kterých spolu s výsledky analýzy a výsledky měření je třeba navrhnout limity a nápravná opatření. Druhým předpokladem je využití vypracovaného postupu v praxi i pro jiné aplikace ve spolupráci s firmou Faerch Plast a CxI.

### 3.2 Metodika výzkumu

Výzkum byl prováděn ve firmě Faerch Plast. Tato firma se specializuje na výrobu plastových obalů určených k přímému styku s potravinami. Vyrábí ale i obaly určené pro zkumavky na biologický materiál. Tyto zkumavky jsou vyráběny pomocí jiné technologie výroby, která není vhodná pro výrobu plastových obalů. Proto si podnik, který tyto zkumavky produkuje, nechává jejich obaly zhotovovat ve firmě Faerch Plast (viz Obr. 1, 2).



Obr. 1 Výsledný produkt – první varianta obalu určeného pro zkumavky na biologický materiál (Zdroj: autor)



Obr. 2 Výsledný produkt – druhá varianta obalu určeného pro zkumavky na biologický materiál (Zdroj: autor)

### 3.2.1 Analýza situace

Ve firmě je zaveden funkční systém HACCP, který zajišťuje zdravotní nezávadnost výrobků a případné včasné rozpoznání rizika mikrobiologické kontaminace. Je určen tým HACCP, interní audity se konají minimálně jednou ročně, dle potřeby nebo požadavku zákazníka i častěji. Kontrola mikrobiologické kontaminace probíhá jednou ročně otiskovou metodou za využití Hygicult testů, opět může být provedena na požádání zákazníka. V případě, že výsledné hodnoty měření překročí stanovené meze, vzorky mohou být poslány na rozbor do laboratoře Zdravotního ústavu. Dále se kontrolují všechny prostory a zařízení v rámci boje proti škůdcům. Tyto kontroly probíhají osmkrát ročně a provádí je způsobilý pracovník externí firmy. Kontroly hygieny se provádí jednou měsíčně a zahrnují kontrolu prachu a nečistot, dodržování hygienických předpisů zaměstnanci, jsou kontrolovány odpadní produkty, znečištěné výrobky a další. Úklid je prováděn každý den, je stanoveno, kdo úklid vykonává, s jakou frekvencí má být dané místo čištěno, jakým způsobem a jakými prostředky.

Zaměstnanci musí dodržovat přísné hygienické předpisy, které jsou nastaveny tak, aby se co nejvíce eliminovalo riziko mikrobiologické kontaminace výrobků. Je vyžadován čistý pracovní oděv včetně sítky na vlasy a pracovní obuvi. Pracovní oděv musí být zapnutý, síťka musí zakrývat veškeré vlasy. Pokud zaměstnanci asistují při výrobě obalů pro zkumavky na biologický materiál nebo s těmito výrobky manipulují, musí krom dříve zmíněného během práce nosit bílé rukavice a ústní roušky. Nošení šperků (hodinky, náušnice, řetízky, náramky, piercing) a volných předmětů (tužky, klíče, mobilní telefony) je ve výrobní oblasti zakázáno. Pokud si zaměstnanci některé šperky nemohou sundat, musí používat rukavice. Volné předměty musí být ve vnitřních kapsách pracovních oděvů, anebo k tomuto účelu vyhrazeném uzavíratelném textilním obalu. Takto zaopatřené mobilní telefony mohou mít zaměstnanci u sebe, ale používat je smí pouze mimo výrobní prostor. Pracovníkům ve výrobě nejsou dovoleny umělé či lakované nehty, umělé řasy ani přehnané líčení. Při vstupu do výrobní oblasti jsou všichni pracovníci povinni umýt si ruce, usušit je a provést jejich dezinfekci. Do výrobní oblasti je zakázáno vnášet potraviny a cigarety, dovolena je pouze čistá pitná voda v nádobách, které nesmí být odkládány na stroje. Kouření je povoleno pouze v k tomuto účelu vyhrazených prostorách. Protože výroba obalů určených k přímému styku s potravinami je činnost epidemiologicky závažná, zaměstnanci musí informovat svého nadřízeného ohledně zhoršení svého zdravotního stavu, aby se po dobu trvání příznaků vyhnuli práci

a styku s výslednými produkty. Drobná poranění lze ošetřit a zakrýt k tomuto účelu určenou modrou náplastí s kovovým proužkem.

Co se týká externích pracovníků, nepravidelných dodavatelů nebo návštěv, které se budou pohybovat ve výrobním prostoru, musí se náležitě zapsat do knihy návštěv. Je jim poskytnut návštěvní pracovní plášť a jednorázová čepice či síťka na vlasy, jež jsou povinni obléknout. Plášť musí být zapnutý a pokrývka hlavy musí kompletně zakrývat všechny vlasy. Návštěvníci se mohou pohybovat pouze po značených trasách, je přísně zakázáno dotýkat se produktů a vstupovat do prostor výrobních strojů bez dovolení a doprovodu určené osoby, aby se zamezilo jakékoli kontaminaci a znehodnocení výsledných produktů. Dále pro ně platí obdobné předpisy jako pro zaměstnance podniku.

### 3.2.2 Mikrobiologicky kontaminovaná místa stanovená teoreticky a citlivostní analýza

Teoreticky byla za možná místa s nejvyšší úrovní mikrobiologické kontaminace vybrána taková místa, kde lze mikrobiologickou kontaminaci předpokládat v závislosti na účelu používání těchto míst a dále místa, kterých se často dotýkají různí zaměstnanci, a místa, která jsou nebezpečná především svou bezprostřední blízkostí vzhledem k výrobkům. Byla vybrána následující místa: kliky dveří od toalet, klika dveří místnosti pro odpočinek, madlo výdejníku mýdla na toaletě, povrch umyvadla, povrch dřezu v odpočinkové místnosti, klávesnice počítačů thermoformu a extruderu, obrazovka mobilního telefonu, spínač dveří do výrobního prostoru, střecha rozvaděče stroje, horní kryt stroje. Kliky dveří od toalet a madlo výdejníku mýdla na toaletě byly vybrány z důvodu nutnosti zvýšené pozornosti při úklidu těchto prostor a z důvodu vysoké frekvence, se kterou přichází do styku s rukama zaměstnanců. Klika dveří místnosti pro odpočinek byla vybrána opět z důvodu vysoké frekvence, s jakou s ní ruce zaměstnanců přichází do styku. Povrch umyvadla a povrch dřezu pak pro často nedostatečný úklid a dezinfekci těchto míst, klávesnice počítačů a spínač dveří od výrobního prostoru proto, že jejich čištění a dezinfekce je často opomíjena a pro frekvenci, s jakou přichází do styku s rukama různých pracovníků. Střecha rozvaděče a horní kryt stroje z důvodu bezprostřední blízkosti výrobních linek a výsledných výrobků. Obrazovka mobilního telefonu z toho důvodu, aby se dala vyloučit kontaminace výrobků přenosem mikrobů

rukama zaměstnanců z mobilu na výrobek, a to i přes zákaz používání těchto zařízení ve výrobním prostoru.

V rámci citlivostní analýzy byla zjišťována míra vlivu kontaminovaných míst na kontaminaci výrobků. Byly stanoveny tři kategorie, které rozlišují míru pravděpodobnosti mikrobiologické kontaminace výsledných produktů výroby z jednotlivých míst. První kategorie značí nízkou pravděpodobnost kontaminace výrobků. Místo spadající do této kategorie není ve výrobním prostoru a není tedy ani v blízkosti výrobních linek. Pravděpodobnost kontaminace výrobků z místa spadajícího do této kategorie je vzhledem k již dříve popsané hygienické situaci v podniku a předpisům, které musí zaměstnanci dodržovat, velmi malá. Druhá kategorie popisuje střední pravděpodobnost kontaminace výrobků. Místo sice není v blízkosti výrobních linek, je však ve výrobním prostoru. Cesta přenosu mikroorganismů zde již není tak složitá a nenachází se tu tolik mechanismů zabraňujících tomuto přenosu jako v předchozí kategorii. Třetí kategorie znamená vysokou pravděpodobnost kontaminace výrobků. Toto místo se nachází ve výrobním prostoru a je v bezprostřední blízkosti výrobních linek a výrobků. Při kontaminaci takového místa může lehce dojít i ke kontaminaci výrobků. Vše je přehledně shrnuto v následující tabulce (viz Tab. 1).

Tab. 1 Kategorie míry pravděpodobnosti kontaminace výrobků z daného místa

Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace	Míra pravděpodobnosti kontaminace výrobků	Lokalizace místa spadajícího do dané kategorie
1	Nízká	Místo se nachází mimo výrobní prostor a není v blízkosti výrobních linek a výrobků.
2	Střední	Místo se nachází uvnitř výrobního prostoru, ale není v blízkosti výrobních linek a výrobků.
3	Vysoká	Místo se nachází uvnitř výrobního prostoru a je v blízkosti výrobních linek a výrobků.



Dle tohoto rozdělení provedeného v rámci citlivostní analýzy pak k námi vybraným místům, kde lze teoreticky předpokládat vysokou úroveň mikrobiologické kontaminace, byly přiřazeny kategorie následovně (viz Tab. 2).

Tab. 2 Přiřazení rizika mikrobiologické kontaminace výrobků vybraným místům

Vybrané místo	Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace
Kliky dveří od toalet	1
Klika dveří místnosti pro odpočinek	1
Madlo výdejníku mýdla na toaletě	1
Povrch umyvadla	1
Povrch dřezu	1
Klávesnice počítačů thermoformu a extruderu	2
Obrazovka mobilního telefonu	2
Spínač dveří do výrobního prostoru	1
Střecha rozvaděče stroje	3
Horní kryt stroje	3

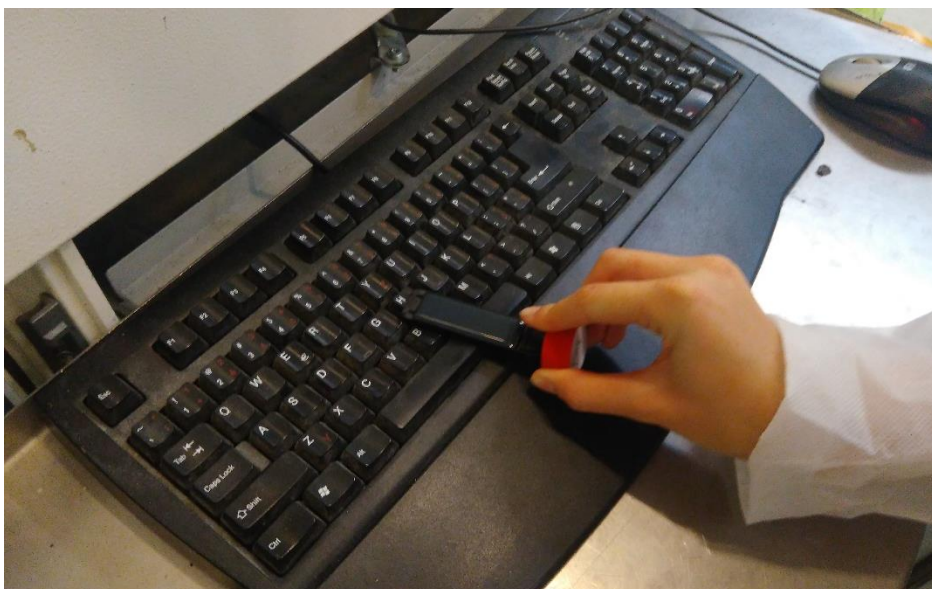
### 3.2.3 Průběh měření

Cílem měření bylo ověřit výsledky analýzy, tedy prokázat mikrobiologickou kontaminaci povrchů na teoreticky stanovených místech. Měření bylo provedeno 24. 8. 2018 otiskovou metodou. Povrch, na kterém byla zjišťována mikrobiologická kontaminace, byl otisknut přímo na kultivační médium. K tomuto účelu bylo využito Hygicult testů, které vyrábí firma Orion Diagnostica.

Byly použity tři typy Hygicult testů, a to Hygicult TPC, Hygicult E a Hygicult Y&F. Hygicult TPC je tvořen destičkou s kultivační půdou, která podporuje růst všech mikroorganismů, slouží tedy ke stanovení celkového počtu mikroorganismů. Kultivační médium na destičce testů typu Hygicult E podporuje růst pouze mikrobů rodu Enterobacteriaceae. Hygicult Y&F pak na destičce obsahuje takové kultivační médium, které je vhodné pro detekci kvasinek a plísní.

Odběr vzorků probíhal následovně. Destička s kultivačním médiem byla otisknuta na povrchu daného místa (viz Obr. 3). Jelikož je na destičce kultivační médium přítomno

z obou stran, byly otisknuty obě strany tak, aby se druhý otisk neodebíral z místa povrchu, kde už byla otisknuta první strana, ale pokud možno z odlišného místa co nejbližší prvnímu otisku. Po odebrání vzorku byla tato destička s kultivační půdou opět vložena a zavřena do původního plastového obalu. Takto zajištěné destičky se nechaly kultivovat. Předepsaná doba a teplota se odlišuje v závislosti na použitých Hygicult testech, nicméně všechny námi použité destičky byly kultivovány při teplotě 24 °C čtyři dny.



Obr. 3 Záznam odběru vzorků, zde konkrétně odběr z klávesnice počítače extruderu na destičku se živnou půdou testu Hygicult TPC (Zdroj: autor)

### 3.2.4 Průběh kontrolního měření

V rámci kontrolního měření byla nejprve zjišťována účinnost používané dezinfekce. K tomu byly využity testy Hygicult TPC (pro stanovení celkového počtu mikroorganismů) a Hygicult E (pro detekci mikrobů rodu Enterobacteriaceae). Tato měření proběhla 27. 9. 2018 a 18. 10. 2018. Otisk se provedl před a po dezinfekci povrchu kliky od toalet. Postup odběru byl stejný jako při prvním měření a je popsán na předchozí stránce.

Měření, jehož cílem bylo ověření účinnosti všech zavedených nápravných opatření, bylo realizováno 17. 1. 2019. K tomuto účelu byly využity testy Hygicult TPC (pro celkový počet mikroorganismů) a Hygicult Y&F (pro detekci kvasinek a plísní).

Ve spolupráci s mikrobiologickou laboratoří Ústavu pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace (CxI), byly provedeny i otisky sterilním filtračním papírem.

Mikrobiologická laboratoř CxI poskytla dvě živné půdy, a to Sabouraud + Chloramphenicol Agar, který je vhodný pro růst a následnou detekci plísni, a Plate Count Agar pro stanovení celkového počtu mikroorganismů. Živné půdy byly vylity do Petriho misek a připraveny tak k odběru vzorků. Samotný odběr vzorků probíhal následovně. Sterilní filtrační papír o ploše  $5 \times 5 \text{ cm}^2$  byl nejprve pinzetou přenesen na Petriho misku se živnou půdou, kde došlo k nasáknutí této půdy na filtrační papír a k jeho zvlhnutí. Takto upravený filtrační papír byl z půdy pinzetou opatrně odebrán a přiložen na povrch zkoumaného místa. Po přilnutí byl filtrační papír pinzetou přenesen zpět na živnou půdu a položen na ni tou stranou, na kterou byl otisknut povrch daného místa. Po dvaceti minutách, které by měly stačit k přenosu mikroorganismů z filtračního papíru na živnou půdu, byl filtrační papír sejmут. Následně byly všechny živné půdy s odebranými vzorky odneseny zpět do mikrobiologické laboratoře CxI, kde byly kultivovány.

### 3.3 Analýza výzkumných dat

Analýza dat a hodnocení měření probíhaly vždy po ukončení kultivace odebraných vzorků. Všechny otisky byly hodnoceny pouze kvantitativně. Hodnotil se tedy celkový počet mikroorganismů, který byl vyjádřen jako počet kolonií tvořících jednotku na otisknutou plochu, tzn. počet KTJ/10  $\text{cm}^2$  u Hygicult testů a počet KTJ/25  $\text{cm}^2$  u otisků filtračním papírem. Kromě použití rozdílných živných půd nebyly mikroby přítomné na kultivačních médiích nijak identifikovány.

#### 3.3.1 Výsledky měření

Kliky dveří od toalet, klávesnice počítačů thermoformu a extruderu, obrazovka mobilního telefonu, spínač dveří do výrobního prostoru (viz Obr. 4), střecha rozvaděče stroje a klika dveří místnosti pro odpočinek byly otestovány testy Hygicult TPC pro zjištění celkového počtu mikroorganismů.



Obr. 4 Destička se živnou půdou testu Hygicult TPC po čtyřdenní kultivaci vzorku odebraného z povrchu spínače dveří do výrobního prostoru (Zdroj: autor)

Kliky dveří od toalet, klika dveří místnosti pro odpočinek (viz Obr. 5) a madlo výdejníku mýdla na toaletě byly otestovány testy Hygicult E pro zjištění mikrobů rodu *Enterobacteriaceae*, protože bylo předpokládáno, že tyto typy mikroorganismů by se mohly vyskytovat právě v prostoru toalet.



Obr. 5 Destička se živnou půdou testu Hygicult E po čtyřdenní kultivaci vzorku odebraného z povrchu kliky dveří místnosti pro odpočinek (Zdroj: autor)

Testy Hygicult Y&F byly použity na otisky z horního krytu stroje a ze střechy rozvaděče stroje, kde se nacházela jemná vrstva prachu a předpokládá se tu tedy výskyt plísní, a na otisky povrchu umyvadla (viz Obr. 6) a povrchu dřezu.



Obr. 6 Destička se živnou půdou testu Hygicult Y&F po čtyřdenní kultivaci vzorku odebraného z povrchu umyvadla (Zdroj: autor)

Vzorky se vyhodnocovaly po čtyřdenní kultivaci. Pokud to bylo možné, jednotlivé kolonie na živné půdě byly spočítány a zapsány do tabulky měření (viz Tab. 3), jestliže byl jejich počet vyšší a byly by okem těžko spočítatelné, destička s kultivačním médiem byla porovnána se vzorovými tabulkami, které byly obsaženy v návodu pro použití Hygicult testů (viz Příloha C). Byl vybrán nejvíce odpovídající vzor a zapsána orientační hodnota uvedená u tohoto vzoru.

Jednotlivé vzory byly pro 10 KTJ/cm<sup>2</sup> (pro takto malý počet mikroorganismů byla do tabulky zapsána přesná hodnota), dále pro 50 KTJ/cm<sup>2</sup>, 450 KTJ/cm<sup>2</sup>, 800 KTJ/cm<sup>2</sup> a >1000 KTJ/cm<sup>2</sup>. Pokud se tedy v tabulce měření objevuje některá z těchto hodnot, pak je počet mikroorganismů pouze přibližný. Jestliže je u hodnoty > (větší než) a \* (hvězdička), znamená to, že daný vzorek byl hůře porovnatelný se vzorovými tabulkami nebo že byly spočítány pouze jasně identifikovatelné kolonie, protože vzorek byl přerostlý sporulujícími mikroorganismy, tzn., nešlo rozlišit, zda se jedná o odlišnou kolonii nebo o tutéž rozrůstající se kolonii. Záznam měření, tedy jednotlivé vzorky, typ použitého testu a výslednou hodnotu měření, přehledně zobrazuje následující tabulka (viz Tab. 3).

Tab. 3 Výsledky měření (24. 8. 2018)

Č. vzorku	Místo odběru	Typ testu	Výsledek [KJT/10 cm <sup>2</sup> ]
TPC1	Klika dveří toalety muži	Hygicult TPC	50 50
TPC2	Klika dveří toalety ženy	Hygicult TPC	18 50
TPC3	Klávesnice počítače thermoformu	Hygicult TPC	>10* >19*
TPC4	Klávesnice počítače extruderu	Hygicult TPC	>6* >7*
TPC5	Obrazovka mobilního telefonu	Hygicult TPC	10 6
TPC6	Spínač dveří do výrobního prostoru	Hygicult TPC	450 450
TPC7	Střecha rozvaděče stroje	Hygicult TPC	>1000* >1000*
TPC8	Klika dveří místnosti pro odpočinek	Hygicult TPC	800 800
E1	Klika dveří toalety muži	Hygicult E	0 1
E2	Klika dveří toalety ženy	Hygicult E	9 1
E3	Klika dveří místnosti pro odpočinek	Hygicult E	50 50
E4	Madlo výdejníku mýdla na toaletě	Hygicult E	3 5
Y&F1	Horní kryt stroje	Hygicult Y&F	>1000* >1000*
Y&F2	Střecha rozvaděče stroje	Hygicult Y&F	>450* >450*
Y&F3	Povrch umyvadla	Hygicult Y&F	>3* >4*
Y&F4	Povrch dřezu	Hygicult Y&F	50 50

\*přerostlé sporujícími mikroby

### 3.3.2 Návrh limitních hodnot

Limitní hodnoty byly stanoveny zvláště pro celkový počet mikroorganismů, pro kvasinky a plísně a pro mikroby rodu *Enterobacteriaceae*. Pro každou skupinu byly určeny dvě limitní hodnoty, a to 20 KTJ/10 cm<sup>2</sup> a 90 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro celkový počet mikroorganismů, 20 KTJ/10 cm<sup>2</sup> a 90 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro kvasinky a plísně a 0 KTJ/10 cm<sup>2</sup> a 10 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro *Enterobacteriaceae*. Dle těchto limitních hodnot byly vytvořeny tři kategorie popisující úroveň mikrobiologické kontaminace. Do první kategorie spadají místa, která pro naši potřebu byla označena jako místa čistá. Přípustné hodnoty první kategorie byly stanoveny: pro celkový počet mikroorganismů méně než 20 KTJ/10 cm<sup>2</sup>, pro kvasinky a plísně méně než 20 KTJ/10 cm<sup>2</sup> a pro *Enterobacteriaceae* 0 KTJ/10 cm<sup>2</sup>. Druhá kategorie popisuje ještě přijatelné hodnoty mikrobiologické kontaminace, ty byly definovány jako 20–90 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro celkový počet mikroorganismů, 20–90 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro kvasinky a plísně a méně než 10 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro *Enterobacteriaceae*. Za nevyhovující hodnoty jsou považovány veškeré hodnoty vyšší než 90 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro celkový počet mikroorganismů, vyšší než 90 KTJ/10 cm<sup>2</sup> pro kvasinky a plísně a v případě mikroorganismů třídy *Enterobacteriaceae* vyšší než 10 KTJ/10 cm<sup>2</sup>. Rozdělení kategorií je přehledně zobrazeno v tabulce (viz Tab. 4).

Tab. 4 Definice jednotlivých kategorií vytvořených podle limitních hodnot

Úroveň mikrobiologické kontaminace	1	2	3
Slovní popis kategorií	Čisté	Přijatelné	Nevyhovující
Stanovené hodnoty pro celkový počet mikroorganismů	< 20 KTJ/10 cm <sup>2</sup>	20–90 KTJ/10 cm <sup>2</sup>	> 90 KTJ/10 cm <sup>2</sup>
Stanovené hodnoty pro kvasinky a plísně	< 20 KTJ/10 cm <sup>2</sup>	20–90 KTJ/10 cm <sup>2</sup>	> 90 KTJ/10 cm <sup>2</sup>
Stanovené hodnoty pro mikroby rodu <i>Enterobacteriaceae</i>	0 KTJ/10 cm <sup>2</sup>	1–10 KTJ/10 cm <sup>2</sup>	> 10 KTJ/10 cm <sup>2</sup>

### 3.3.3 Návrh nápravných opatření

Nápravná opatření byla navržena na základě celkového rizika mikrobiologické kontaminace výrobků (viz Tab. 5). Celkové riziko bylo stanoveno jako součin pravděpodobnosti rizika mikrobiologické kontaminace z daného místa a úrovně mikrobiologické kontaminace. Tzn., pokud se místo nacházelo mimo výrobní prostor a spadalo tedy do první kategorie (= 1) míry pravděpodobnosti kontaminace výrobků a zjištěná úroveň mikrobiologické kontaminace tohoto místa byla vyhodnocena jako přijatelná, tedy spadalo do druhé kategorie (= 2) úrovně mikrobiologické kontaminace, pak by celkové riziko mikrobiologické kontaminace výrobků bylo rovno 2 ( $1 \times 2 = 2$ ).

Po konzultaci s manažerem kvality firmy Ing. Jiřím Heroldem bylo rozhodnuto, že pokud je celkové riziko rovno 1, 2 nebo 3, bude považováno za nevýznamné a řešeno organizačním opatřením. Jestliže celkové riziko nabývá hodnoty 4, bude řešeno interní směrníci firmy. Pokud celkové riziko vychází rovno 6 nebo 9, pak je nutná aplikace trvalého opatření vedoucího k odstranění rizika. Navíc v případě, že celkové riziko nabývá hodnoty 9, dojde k zavedení pravidelných kontrol stavu tohoto místa, a tedy ke stanovení kritického kontrolního bodu.

Co se týče klik dveří od toalet, kliky dveří místnosti pro odpočinek, spínače dveří do výrobního prostoru, madla výdejníku mýdla na toaletě, povrchu umyvadla a povrchu dřezu, celkové riziko mikrobiologické kontaminace výrobků zde bylo zhodnoceno jako nevýznamné. Navrženo bylo organizační opatření zahrnující zvýšení frekvence prováděného úklidu. Celkové riziko mikrobiologické kontaminace z povrchu obrazovky mobilního telefonu vyšlo také jako nevýznamné, bylo ponecháno původní opatření – zákaz používání mobilních telefonů a manipulace s nimi ve výrobním prostoru. V případě klávesnic počítačů bylo celkové riziko mikrobiologické kontaminace shledáno nevýznamným. Jako organizační opatření zde byla navržena zvýšená frekvence čištění a pravidelné výměny klávesnic. Střecha rozvaděče stroje a horní kryt stroje byly stanoveny kritickými kontrolními body. Byla navržena úprava tvaru střechy a horního krytu, nicméně takováto opatření musí schválit vedení podniku. Dále byly stanoveny pravidelné kontroly stavu těchto míst a určen pravidelný a důkladný úklid těchto míst. Jaká frekvence úklidu je dostačující, bylo zjišťováno během kontrolního měření.



Tab. 5 Výsledky měření (24. 8. 2018) se stanovením celkového rizika mikrobiologické kontaminace

Č. vzorku	Místo odběru	Typ testu	Výsledek [KJT/10 cm <sup>2</sup> ]	Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace	Úroveň mikrobiologické kontaminace	Celkové riziko mikrobiologické kontaminace
TPC1	Klika dveří toalety muži	Hygicult TPC	50 50	1	2	2
TPC2	Klika dveří toalety ženy	Hygicult TPC	18 50	1	2	2
TPC3	Klávesnice počítače thermoformu	Hygicult TPC	>10* >19*	2	1	2
TPC4	Klávesnice počítače extruderu	Hygicult TPC	>6* >7*	2	1	2
TPC5	Obrazovka mobilního telefonu	Hygicult TPC	10 6	2	1	2
TPC6	Spínač dveří do výrobního prostoru	Hygicult TPC	450 450	1	3	3
TPC7	Střecha rozvaděče stroje	Hygicult TPC	>1000* >1000*	3	3	9
TPC8	Klika dveří místnosti pro odpočinek	Hygicult TPC	800 800	1	3	3

\*přerostlé sporujícími mikroby

Č. vzorku	Místo odběru	Typ testu	Výsledek [KJT/10 cm <sup>2</sup> ]	Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace	Úroveň mikrobiologické kontaminace	Celkové riziko mikrobiologické kontaminace
E1	Klika dveří toalety muži	Hygicult E	0 1	1	1	1
E2	Klika dveří toalety ženy	Hygicult E	9 1	1	2	2
E3	Klika dveří místnosti pro odpočinek	Hygicult E	50 50	1	3	3
E4	Madlo výdejníku mýdla na toaletě	Hygicult E	3 5	1	2	2
Y&F1	Horní kryt stroje	Hygicult Y&F	>1000* >1000*	3	3	9
Y&F2	Střecha rozvaděče stroje	Hygicult Y&F	>450* >450*	3	3	9
Y&F3	Povrch umyvadla	Hygicult Y&F	>3* >4*	1	1	1
Y&F4	Povrch dřezu	Hygicult Y&F	50 50	1	2	2

\*přerostlé sporujícími mikroby

### 3.3.4 Výsledky kontrolního měření

Nejprve byla zjišťována účinnost používané dezinfekce. K tomu byly využity testy Hygicult TPC (pro stanovení celkového počtu mikroorganismů) a Hygicult E (pro detekci mikrobů rodu Enterobacteriaceae), kterými byly provedeny otisky povrchu kliky od toalet před a po její dezinfekci. Vzorky byly vyhodnocovány po čtyřdenní kultivaci. Výsledky jsou zobrazeny v následujících tabulkách (viz Tab. 6, Tab. 7).

Tab. 6 Výsledky měření pro ověření účinnosti dezinfekce (27. 9. 2018)

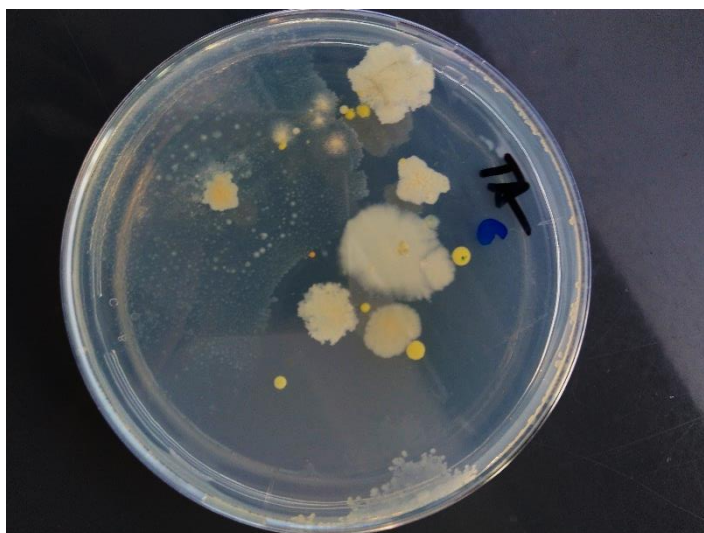
Č. vzorku	Místo odběru	Typ testu	Výsledek [KJT/10 cm <sup>2</sup> ]
TPC9	Klika dveří toalety – před ošetřením	Hygicult TPC	7 1
TPC10	Klika dveří toalety – po ošetření	Hygicult TPC	0 1
E5	Klika dveří toalety – před ošetřením	Hygicult E	0 0
E6	Klika dveří toalety – po ošetření	Hygicult E	0 0

Tab. 7 Výsledky měření pro ověření účinnosti dezinfekce (18. 10. 2018)

Č. vzorku	Místo odběru	Typ testu	Výsledek [KJT/10 cm <sup>2</sup> ]
TPC11	Klika dveří toalety – před ošetřením	Hygicult TPC	3 2
TPC12	Klika dveří toalety – po ošetření	Hygicult TPC	0 0
E7	Klika dveří toalety – před ošetřením	Hygicult E	0 0
E8	Klika dveří toalety – po ošetření	Hygicult E	0 0

Vzhledem k výsledkům prvního měření bylo při kontrolním měření nutné se zaměřit na střechy rozvaděčů strojů a horní kryty strojů. Pro stanovení dostačující frekvence úklidu těchto míst byly označeny a následně otestovány povrchy krytů strojů s různou časovou prodlevou od jejich posledního úklidu. První testované místo bylo čištěné před 5. 12. 2018. Na dalších místech úklid proběhl 5. 12. 2018, 12. 12. 2018, 20. 12. 2018 a 4. 1. 2019. Pro kontrolní měření byla dále vybrána místa, která dle výsledků prvního

měření spadala do třetí kategorie v rámci úrovně mikrobiologické kontaminace, těmi byly spínač dveří do výrobního prostoru a klika dveří místnosti pro odpočinek. Také byla ověřena účinnost nápravných opatření navržených pro klávesnice počítačů a pro povrch dřezu a opět byl otestován povrch mobilního telefonu. Na všech vybraných místech byly provedeny otisky testem Hygicult TPC (pro zjištění celkového počtu mikroorganismů) a testem Hygicult Y&F (pro detekci kvasinek a plísní) a dále otisky filtračním papírem přeneseným na živnou půdu vhodnou pro stanovení celkového počtu mikroorganismů (viz Obr. 7) a na živnou půdu vhodnou pro růst plísní (viz Obr. 8).



Obr. 7 Petriho miska se živnou půdou typu Plate Count Agar po čtyřdenní kultivaci vzorku odebraného z povrchu klávesnice počítače thermoformu (Zdroj: autor)



Obr. 8 Petriho miska se živnou půdou typu Sabouraud + Chloramphenicol Agar po čtyřdenní kultivaci vzorku odebraného z povrchu krytu stroje čištěného před 5. 12. 2018 (Zdroj: autor)

Vzorky odebrané pomocí Hygicult testů byly vyhodnoceny stejným způsobem jako vzorky odebrané během prvního měření. Pokud to bylo možné, jednotlivé kolonie na živné půdě byly spočítány a zapsány do tabulky měření, jestliže byl jejich počet vyšší a byly by okem těžko spočítatelné, destička s kultivačním médiem byla porovnána se vzorovými tabulkami, které byly obsaženy v návodu pro použití Hygicult testů (viz Příloha C). Byl vybrán nejvíce odpovídající vzor a zapsána orientační hodnota uvedená u tohoto vzoru.

Jednotlivé vzory byly pro 10 KTJ/cm<sup>2</sup> (pro takto malý počet mikroorganismů byla do tabulky zapsána přesná hodnota), dále pro 50 KTJ/cm<sup>2</sup>, 450 KTJ/cm<sup>2</sup>, 800 KTJ/cm<sup>2</sup> a >1000 KTJ/cm<sup>2</sup>. Pokud se tedy v tabulce měření objevuje některá z těchto hodnot, pak je počet mikroorganismů pouze přibližný. Jestliže je u hodnoty > (větší než) a \* (hvězdička), znamená to, že daný vzorek byl hůře porovnatelný se vzorovými tabulkami nebo že byly spočítány pouze jasně identifikovatelné kolonie, protože vzorek byl přerostlý sporulujícími mikroorganismy, tzn., nešlo rozlišit, zda se jedná o odlišnou kolonii nebo o tutéž rozrůstající se kolonii. Jednotlivé hodnoty, typ použitého testu, místo odběru vzorku a celkové riziko mikrobiologické kontaminace výrobků z těchto míst přehledně zobrazuje tabulka (viz Tab. 8).

Hodnocení vzorků odebraných pomocí otisku sterilního filtračního papíru bylo konzultováno s Bc. Alicí Břečkovou a Jarmilou Zemanovou z mikrobiologické laboratoře CxI. Za dobrého osvětlení byly spočítány jednotlivé kolonie a výsledek byl zapsán ve tvaru počet KTJ/25 cm<sup>2</sup>. Jestliže byl vzorek přerostlý sporulujícími mikroorganismy, je u daného výsledku v tabulce uvedeno > (větší než) a \* (hvězdička). Jednotlivé hodnoty, typ použité živné půdy, místo odběru vzorku a celkové riziko mikrobiologické kontaminace výrobků z těchto míst přehledně zobrazuje tabulka (viz Tab. 9). Pro zařazení do třídy úrovně mikrobiologické kontaminace byly ponechány stejné limitní hodnoty jako pro hodnocení Hygicult testů. Celkové riziko mikrobiologické kontaminace je tak v případě otisků sterilním filtračním papírem pouze orientační. Jestliže je ve sloupečku typ půdy uvedeno PCA, znamená to, že jako kultivační médium byl použit Plate Count Agar. Jestliže pro daný vzorek byl jako kultivační médium využit Sabouraud + Chloramphenicol Agar, v tabulce je uvedeno SChA.

Tab. 8 Výsledky kontrolního měření (17. 1. 2019) provedeného pomocí Hygicult testů

Č. vzorku	Místo odběru	Typ testu	Výsledek [KJT/10 cm <sup>2</sup> ]	Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace	Úroveň mikrobiologické kontaminace	Celkové riziko mikrobiologické kontaminace
TPC13	Povrch krytu čištěný před 5. 12.	Hygicult TPC	>9* >10*	3	1	3
TPC14	Povrch krytu čištěný 5. 12.	Hygicult TPC	>12* >11*	3	1	3
TPC15	Povrch krytu čištěný 12. 12.	Hygicult TPC	>7* >4*	3	1	3
TPC16	Povrch krytu čištěný 20. 12.	Hygicult TPC	>8* >3*	3	1	3
TPC17	Povrch krytu čištěný 4. 1.	Hygicult TPC	>2* >10*	3	1	3
TPC18	Klávesnice počítače thermoformu	Hygicult TPC	19 14	2	1	2
TPC19	Spínač dveří od výrobního prostoru	Hygicult TPC	50 50	1	2	2
TPC20	Povrch dřezu	Hygicult TPC	450 450	1	3	3
TPC21	Klika dveří místnosti pro odpočinek	Hygicult TPC	14 5	1	1	1
TPC22	Obrazovka mobilního telefonu	Hygicult TPC	1 3	2	1	2

\*přerostlé sporujícími mikroby

Č. vzorku	Místo odběru	Typ Testu	Výsledek [KJT/10 cm <sup>2</sup> ]	Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace	Úroveň mikrobiologické kontaminace	Celkové riziko mikrobiologické kontaminace
Y&F5	Povrch krytu čištěný před 5. 12.	Hygicult Y&F	>9* >8*	3	1	3
Y&F6	Povrch krytu čištěný 5. 12.	Hygicult Y&F	>4* >8*	3	1	3
Y&F7	Povrch krytu čištěný 12. 12.	Hygicult Y&F	>4* >6*	3	1	3
Y&F8	Povrch krytu čištěný 20. 12.	Hygicult Y&F	>1* >4*	3	1	3
Y&F9	Povrch krytu čištěný 4. 1.	Hygicult Y&F	1 3	3	1	3
Y&F10	Klávesnice počítače thermoformu	Hygicult Y&F	>4* >5*	2	1	2
Y&F11	Spínač dveří od výrobního prostoru	Hygicult Y&F	1 0	1	1	1
Y&F12	Povrch dřezu	Hygicult Y&F	33 26	1	2	2
Y&F13	Klika dveří místnosti pro odpočinek	Hygicult Y&F	0 0	1	1	1
Y&F14	Obrazovka mobilního telefonu	Hygicult Y&F	0 0	2	1	2

\*přerostlé sporujícími mikroby

Tab. 9 Výsledky kontrolního měření (17. 1. 2019) provedeného pomocí otisku sterilním filtračním papírem

Č. vzorku	Místo odběru	Typ půdy	Výsledek [KJT/25 cm <sup>2</sup> ]	Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace	Úroveň mikrobiologické kontaminace	Celkové riziko mikrobiologické kontaminace
TA1	Povrch krytu čištěný před 5. 12.	PCA	>6*	3	1	3
TA2	Povrch krytu čištěný 5. 12.	PCA	1	3	1	3
TA3	Povrch krytu čištěný 12. 12.	PCA	>1*	3	1	3
TA4	Povrch krytu čištěný 20. 12.	PCA	2	3	1	3
TA5	Povrch krytu čištěný 4. 1.	PCA	2	3	1	3
TA6	Klávesnice počítače thermoformu	PCA	25	2	2	4
TA7	Spínač dveří od výrobního prostoru	PCA	4	1	1	1
TA8	Povrch dřezu	PCA	65	1	2	2
TA9	Klika dveří místnosti pro odpočinek	PCA	4	1	1	1
TA10	Obrazovka mobilního telefonu	PCA	1	2	1	2

\*přerostlé sporujícími mikroby



Č. vzorku	Místo odběru	Typ půdy	Výsledek [KJT/25 cm <sup>2</sup> ]	Pravděpodobnost rizika mikrobiologické kontaminace	Úroveň mikrobiologické kontaminace	Celkové riziko mikrobiologické kontaminace
SAB1	Povrch krytu čištěný před 5. 12.	SChA	29	3	2	6
SAB2	Povrch krytu čištěný 5. 12.	SChA	2	3	1	3
SAB3	Povrch krytu čištěný 12. 12.	SChA	0	3	1	3
SAB4	Povrch krytu čištěný 20. 12.	SChA	1	3	1	3
SAB5	Povrch krytu čištěný 4. 1.	SChA	1	3	1	3
SAB6	Klávesnice počítače thermoformu	SChA	33	2	2	4
SAB7	Spínač dveří od výrobního prostoru	SChA	3	1	1	1
SAB8	Povrch dřezu	SChA	0	1	1	1
SAB9	Klika dveří místnosti pro odpočinek	SChA	0	1	1	1
SAB10	Obrazovka mobilního telefonu	SChA	0	2	1	2

### 3.4 Analýza výzkumných cílů a předpokladů

Byla popsána základní hygienická situace, zavedené standardy a opatření pro udržování hygieny, uvedeno jaké kontroly a jak často se provádějí a detailně popsány hygienické předpisy závazné pro zaměstnance podniku. Tím byl splněn první cíl práce.

Druhý cíl práce byl splněn teoretickým stanovením míst s největší úrovní mikrobiologické kontaminace a provedením citlivostní analýzy, během níž byl zjištěn vliv těchto kontaminovaných míst na kontaminaci výrobků. Byly stanoveny a specifikovány tři kategorie, které rozlišují míru pravděpodobnosti mikrobiologické kontaminace výrobků.

Ověřením výsledků analýzy měřením byl splněn třetí cíl práce. Měřením nebylo potvrzeno, že by mezi místa s největší úrovní mikrobiologické kontaminace patřily klávesnice počítačů, obrazovka mobilního telefonu nebo povrch umyvadla. Nicméně první dvě jmenovaná místa se nachází ve výrobním prostoru a spadají tedy do druhé kategorie, co se týče rizika mikrobiologické kontaminace výrobků. Ostatní teoreticky stanovená místa vzhledem k výsledkům měření patří mezi místa s vysokou úrovní mikrobiologické kontaminace.

Dle těchto výsledků měření byly v souladu se standardy stanoveny limitní hodnoty. Ty byly definovány zvláště pro celkový počet mikroorganismů, pro kvasinky a plísně a pro mikroby rodu *Enterobacteriaceae*. Podle limitních hodnot byly vytvořeny tři kategorie popisující úroveň mikrobiologické kontaminace, ke kterým byly přiřazeny odebrané vzorky. Naprosto nevyhovujícími byly shledány hodnoty měření ze vzorků odebraných na povrchu spínače dveří do výrobního prostoru, střechy rozvaděče stroje, horního krytu stroje a kliky dveří místnosti pro odpočinek. Tímto byl splněn čtvrtý cíl práce.

Pátý cíl práce byl splněn navržením nápravných opatření. Ta byla navržena na základě celkového rizika mikrobiologické kontaminace výrobků z testovaných míst. Po konzultaci s manažerem kvality firmy Ing. Jiřím Heroldem došlo k realizaci vybraných nápravných opatření.

Funkčnost těchto opatření byla ověřena kontrolním měřením, jehož provedení vedlo ke splnění šestého cíle práce. Nejprve bylo provedeno ověření účinnosti dezinfekce. Protože první měření nebylo průkazné, bylo nutné toto měření opakovat. Výsledky

druhého měření byly shledány uspokojivými pro potvrzení dostatečné účinnosti dezinfekce. Výsledky kontrolního měření, provedeného pomocí Hygicult testů, prokázaly účinnost zavedených nápravných opatření. Pouze u vzorku odebraného z povrchu dřezu byla výsledná hodnota při použití testu Hygicult TPC hodnocena jako nepřijatelná. Nicméně u vzorku odebraného z toho samého místa při použití testu Hygicult Y&F byl oproti prvnímu měření zaznamenán pokles mikrobiologické kontaminace. Co se týče povrchů rozvaděčů strojů a horních krytů strojů, zde nedošlo k výraznému snížení mikrobiologické kontaminace v závislosti na tom, zda k poslednímu čištění došlo tři týdny nebo týden před odběrem vzorků. Důležitým faktorem zde bylo, že k čištění povrchu došlo nejdéle po měsíci od posledního úklidu. Nápravné opatření tedy bylo dodefinováno jako pravidelné kontroly stavu těchto míst a byl stanoven pravidelný a důkladný úklid těchto míst prováděný s frekvencí alespoň jednou měsíčně. Výsledky kontrolního měření provedeného otiskem sterilním filtračním papírem byly rozdílné od výsledků kontrolního měření provedeného Hygicult testy. I přes to, že plocha, na které se vyhodnocoval počet kolonií tvořících jednotku, byla u měření provedeného otiskem sterilním filtračním papírem 2,5× větší než u Hygicult testů, většina výsledných naměřených hodnot byla menších než odpovídající hodnoty měření provedeného Hygicult testy. Vzhledem k těmto nízkým hodnotám a faktu, že tato metoda nebyla využita během prvního měření a nebyly tedy stanoveny ani limitní hodnoty pro toto měření, byly k hodnocení výsledků použity limitní hodnoty stanovené během prvního měření provedeného Hygicult testy. Proto jsou výsledky měření pomocí otisku sterilního filtračního papíru pouze velmi orientační. Avšak lze pozorovat, že pokud byly hodnoty u některého vzorku při použití Hygicult testů zvýšené, byly zvýšené i hodnoty u téhož vzorku odebraného otiskem sterilního filtračního papíru.

Sedmý cíl práce – navrhnout možnosti použití vypracovaného postupu i pro jiné aplikace je splněn až dále, konkrétně v kapitole 5 Návrh doporučení pro praxi.

## 4 Diskuze

Jak již bylo v práci uvedeno, limitní hodnoty byly stanoveny s ohledem na výsledky měření tak, aby jich při provozu podniku bylo možné dosáhnout a byly dlouhodobě udržitelné. Nicméně i přesto byly stanoveny přísně. Bylo předpokládáno, že pokud na povrchu kliky dveří od toalet byla zjištěna mikrobiologická kontaminace 50 KJT/cm<sup>2</sup>, pak je zde možné dosáhnout i nižších hodnot a zároveň je možné dosáhnout podobných a nižších hodnot i na povrchu kliky dveří místnosti pro odpočinek, kde výsledná hodnota 800 KJT/cm<sup>2</sup> byla hodnocena jako naprosto nepřijatelná. Ovšem bylo také dbáno na to, aby stanovení těchto hodnot nebylo v rozporu se standardy. Návrh limitních hodnot byl proveden v souladu s analýzou rizik a kritických kontrolních bodů (HACCP), limitní hodnoty byly navrženy tak, aby splňovaly následující aspekty, které se doporučují při implementaci systému HACCP, např. aby byly přesně definovatelné, měřitelné a kontrolovatelné (15).

Dále bylo zjištěno, jaké hodnoty mikrobiologické kontaminace v potravinách jsou definovány jako zdravotně nezávadné. Bylo nahlédnuto do tabulek uvedených v Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny (26) a do přístupných tabulek z normy ČSN 56 9609 Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace (27). Všechna tato mikrobiologická kritéria ale platí pro konkrétní typ potravin a pro konkrétní mikroorganismy a bývají nejčastěji uvedena ve tvaru počet KTJ/g nebo je stanovena nepřítomnost daného mikroorganismu v určité hmotnosti (nepřítomnost v x g). Ohledně stanovení limitních hodnot je důležité vzít v úvahu, že pro naše účely byl zjišťován pouze celkový počet mikroorganismů na určité ploše. V podniku navíc nedochází k balení potravin, ale pouze k výrobě obalů určených pro potraviny, které jsou expedovány dále. Je nutné si také uvědomit, že mikroorganismy se přirozeně vyskytují všude kolem nás a pro provozování podniku pro výrobu potravinářských obalů není nutné sterilní prostředí.

## 5 Návrh doporučení pro praxi

Kromě doporučení využití vypracovaného postupu v podnicích na výrobu potravinářských obalů, lze tento postup aplikovat např. i v dříve zmíněném podniku vyrábějícím zkumavky na biologický materiál nebo přímo v potravinářských podnicích, kde by tabulky s přípustnými hodnotami mikrobiologické kontaminace v potravinách ve zmíněné legislativě v kapitole 4 Diskuze byly více směřovatné, co se týká stanovení limitních hodnot mikrobiologické kontaminace.

Možnosti použití Hygicult testů pro potřeby hygienické stanice byly konzultovány s MUDr. Janou Pratingerovou z Krajské hygienické stanice v Liberci. Na KHS musí stanovení úrovně mikrobiologické kontaminace, na jehož základě jsou vyvozena následná opatření, probíhat podle předepsaných postupů a pomocí stanovených metod. Nicméně postup vypracovaný v této práci za použití Hygicult testů lze aplikovat pro orientační a demonstrativní stanovení mikrobiologické kontaminace. A to především kvůli praktičnosti a snadnosti použití Hygicult testů, malé náročnosti této metody na potřebné vybavení a rychlému hodnocení vykultivovaných vzorků.

Ve spolupráci s RNDr. Dušanou Kafkovou z Krajské hygienické stanice v Liberci byly představeny testy Orion Clean Card PRO, které vyrábí stejně tak jako testy Hygicult firma Orion Diagnostika, na sterilizačním centru Krajské nemocnice Liberec staniční sestře tohoto centra Bc. Halině Doležalové. Tyto testy umožňují detekovat rezidua proteinů na površích. Jejich aplikace je velice jednoduchá, navlhčených testem se provede stěr ze zkoumaného povrchu, anebo se navlhčí zkoumaný povrch a stěr se provede suchým testem. Největší předností těchto testů je jejich hodnotitelnost již po třiceti sekundách. Na sterilizačním centru se vyžaduje sterilní prostředí, výsledek testů by tak měl být v ideálním případě vždy negativní. Proto byla tato možnost rychlého orientačního ověřování čistoty povrchů a kontrolování nepřítomnosti mikroorganismů na těchto površích pomocí testů Orion Clean Card PRO kladně přijata se stanoviskem budoucího využívání této metody v praxi. Avšak byly shledány i nedostatky týkající se návodu pro použití těchto testů. Tím prvním nedostatkem byla nepřítomnost české verze tohoto návodu a tím druhým pak, že v návodu nebylo uvedeno, jak se starat o nádobku na vodu určenou k navlhčení zkoumaného povrchu. Bez její dezinfekce by totiž jejím delším používáním mohlo dojít k falešně pozitivním výsledkům testů způsobených pomnožením mikroorganismů přítomných v této nádobce s vodou. Naopak v případě nedostatečného

vypláchnutí této nádoby vodou po její dezinfekci by mohly být výsledky testů falešně negativní. Oba tyto velké nedostatky by měl výrobce odstranit přiložením českého návodu pro použití a doplněním tohoto návodu o správný způsob dezinfekce nádoby s vodou.

Vzhledem k výše uvedeným zkušenostem by vypracovaný postup s použitím Hygicult testů mohl být aplikován i na jiných centrech a odděleních zdravotnických zařízení. Mohl by sloužit pro kontrolu účinnosti dezinfekce, prováděného úklidu a čištění, zjišťování mikrobiologické kontaminace jednotlivých míst a k efektivnějšímu přerušení cest přenosu mikroorganismů. Právě přerušení cesty přenosu infekce nemusí být vždy jednoduché, nicméně ve zdravotnictví naprosto nezbytné k ochraně zdraví pacientů.

Dalšími možnými místy, kde by bylo zajímavé a potenciálně přínosné provést rozbor nebezpečí mikrobiologické kontaminace, se jeví mj. centra sportovní medicíny, rehabilitační zařízení či zařízení a prostory posiloven.

## 6 Závěr

V práci byl popsán a zdokumentován postup provedení rozboru nebezpečí mikrobiologické kontaminace výrobků v podniku na výrobu potravinářských obalů. Praktická část této práce stojí na poznacích týkajících se systému HACCP, zdravotní nezávadnosti produktů, mikrobiologické kontaminace, šíření mikroorganismů, přerušení cesty přenosu mikrobů a dalších, které jsou jasně, stručně a přehledně zpracovány v teoretické části práce.

Byly splněny všechny stanovené cíle této práce. V práci je popsána základní hygienická situace, zavedené standardy a opatření pro udržování hygieny, uvedeno jaké kontroly a jak často se v podniku provádějí a detailně popsány hygienické předpisy závazné pro zaměstnance podniku. Dále práce popisuje teoretické stanovení míst s největší úrovní mikrobiologické kontaminace a provedení citlivostní analýzy, v rámci které byly stanoveny a specifikovány tři kategorie, které rozlišují míru pravděpodobnosti mikrobiologické kontaminace výrobků. Výsledky předchozí analýzy byly ověřeny měřeními. Dle výsledků tohoto měření byly v souladu se standardy stanoveny limitní hodnoty, podle kterých byly vytvořeny tři kategorie popisující úroveň mikrobiologické kontaminace. Na základě celkového rizika mikrobiologické kontaminace výrobků byla navržena nápravná opatření. Po konzultaci s manažerem kvality firmy Ing. Jiřím Heroldem došlo k realizaci vybraných nápravných opatření. Funkčnost těchto opatření byla ověřena kontrolním měřením.

Všechny stanovené kategorie a výsledky měření jsou v práci přehledně zobrazeny v tabulkách. Měření uvedená v práci jsou provedena metodou otisku sterilního filtračního papíru a především pomocí Hygicult testů, které jsou v práci představeny jako nenáročná, snadná a poměrně rychlá metoda ke zjištění mikrobiologické kontaminace povrchů.

Ve čtvrté kapitole práce je diskutováno nad problematikou stanovení limitních hodnot a jsou zde uvedeny standardy, které specifikují mikrobiologická kritéria přípustná pro potraviny. Na závěr jsou v páté kapitole uvedeny možné aplikace tohoto postupu i v jiných odvětvích.

## Seznam použité literatury

- 1) DEMNEROVÁ, Kateřina et al. *Laboratoř mikrobiologického zkoumání potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-957-0.
- 2) HAVELKOVÁ, I., Z. MAHDIOVÁ a M. ŽÁČEK. *Praktický postup pro zavedení a funkční provozování systémů HACCP*. Praha: HASAP GASTRO Consulting, 2005. ISBN 80-86605-03-5.
- 3) Základní informace o systému kritických bodů HACCP. KOLEKTIV PRACOVNÍKŮ SZÚ. SZÚ [online]. Státní zdravotní ústav, [cit. 2019-02-19]. Dostupné z: [http://www.szu.cz/uploads/documents/ska/akreditace/HACCP\\_zakladni\\_info.pdf?highlightWords=haccp](http://www.szu.cz/uploads/documents/ska/akreditace/HACCP_zakladni_info.pdf?highlightWords=haccp)
- 4) KUSHWAH, Akash a Rajendra KUMAR. Haccp – its need and practices. *Acta Chemica Malaysia*. 2017, 1(2), 1–5. DOI 10.26480/acmy.02.2018.01.05. Dostupné také z: [https://www.researchgate.net/publication/327794533\\_HACCP\\_-\\_ITS\\_NEED\\_AND\\_PRACTICES](https://www.researchgate.net/publication/327794533_HACCP_-_ITS_NEED_AND_PRACTICES).
- 5) NECIDOVÁ, Lenka. HACCP - aktuální normativní a legislativní předpisy a jejich vývoj. *Výživa a potraviny*. 2014, 69(2), 33–34. ISSN 1211-846x.
- 6) ČESKO. MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. Vyhláška č. 147 ze dne 18. června 1998 o způsobu stanovení kritických bodů v technologii výroby. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1998, částka 51, s. 6644–6647. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: <https://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=147&r=1998>
- 7) ČESKO. Zákon č. 258 ze dne 14. července 2000 o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2000, částka 74, s. 3622–3662. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-258#cast1>
- 8) ČESKO. Zákon č. 110 ze dne 24. dubna 1997 o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1997, částka 38, s. 2178–2188. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110>
- 9) ČESKO. Zákon č. 166 ze dne 13. července 1999 o veterinární péči a změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon). In: *Sbírka zákonů České republiky*. 1999, částka 57, s. 3122–3150. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: <https://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=166&r=1999>



- 10) ČESKO. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ. Vyhláška č. 38 ze dne 19. ledna 2001 o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2001, částka 13, s. 672–771. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: <https://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=38&r=2001>
- 11) ČESKO. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ. Vyhláška č. 137 ze dne 17. března 2004 o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2004, částka 45, s. 1914–1947. ISSN 1211-1244. Dostupné také z: <https://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=137&r=2004>
- 12) ČESKO. MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. Všeobecné požadavky na systém analýzy nebezpečí a stanovení kritických kontrolních bodů (HACCP) a podmínky pro jeho certifikaci. In: *Věstník MZeČR*. 2010, částka 2. Čj.: 18559/2010-17000. Dostupné také z: [http://eagri.cz/public/web/file/106403/\\_2010\\_2.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/106403/_2010_2.pdf)
- 13) Manuál pro zavádění systému kritických bodů (HACCP) ve stravovacích provozech zdravotnických zařízení. KOLEKTIV PRACOVNÍKŮ SZÚ. SZÚ [online]. Státní zdravotní ústav, [cit. 2019-02-21]. Dostupné z: [http://www.szu.cz/uploads/documents/ska/akreditace/HACCP\\_manual.pdf?highlightWords=haccp](http://www.szu.cz/uploads/documents/ska/akreditace/HACCP_manual.pdf?highlightWords=haccp)
- 14) JANOTOVÁ, Lucie a Jiří PLZÁK. Systém HACCP jako praktický pomocník a ne přítěž (1). *Jidelny.cz* [online]. 2014 [cit. 2019-02-26]. ISSN 1805-7209. Dostupné z: <https://www.jidelny.cz/show.aspx?id=1510>
- 15) JANOTOVÁ, Lucie a Jiří PLZÁK. Systém HACCP jako praktický pomocník a ne přítěž (2). *Jidelny.cz* [online]. 2014 [cit. 2019-02-28]. ISSN 1805-7209. Dostupné z: <https://www.jidelny.cz/show.aspx?id=1511>
- 16) JANOTOVÁ, Lucie a Jiří PLZÁK. Systém HACCP jako praktický pomocník a ne přítěž (3). *Jidelny.cz* [online]. 2014 [cit. 2019-03-03]. ISSN 1805-7209. Dostupné z: <https://www.jidelny.cz/show.aspx?id=1512>
- 17) HAMPLOVÁ, Lidmila et al. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. Praha: Triton, 2015. ISBN 978-80-7387-934-1.
- 18) SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2. vyd. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4771-2.

- 19) Přehled změn probíhající v potravinářských surovinách a potravinách během zpracování a skladování. KOLEKTIV PRACOVNÍKŮ UKP. *UKP* [online]. Ústav konzervace potravin, [cit. 2019-03-08]. Dostupné z: <https://ukp.vscht.cz/files/uzel/0007649/0025~~Principy%20%C3%BAchovy%20potravin%20-%201.%20%C4%8D%C3%A1st.pdf?redirected>
- 20) JULÁK, Jaroslav. *Klinicky významné bakterie*. Praha: Triton, 2012. ISBN 978-80-7387-588-6.
- 21) RULÍK, Martin et al. *Mikrobiální biofilmy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2011. ISBN 978-80-244-2747-8.
- 22) NĚMEC, Miroslav a Dagmar MATOULKOVÁ. *Základy obecné mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-7923-6.
- 23) MELICHERČÍKOVÁ, Věra. *Sterilizace a dezinfekce*. 2. vyd. Praha: Galén, 2015. ISBN 978-80-7492-139-1.
- 24) PODSTATOVÁ, Hana. *Základy epidemiologie a hygieny*. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-597-0.
- 25) ORION DIAGNOSTICA. Hygicult®Y&R: návod k použití česky 132253-24. Espoo: Orion Diagnostica, [2017]. Příbalový leták.
- 26) EVROPSKÁ KOMISE. Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 2005, svazek 48, s. L 338/1–L 338/26. ISSN 1725-5074. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=OJ:L:2005:338:TOC>
- 27) KOCOUREK V., K. MÍKOVÁ a J. KOHOUTKOVÁ. Úvod do potravinářské legislativy: Lekce 7-1: mikrobiologické požadavky na potraviny. KOLEKTIV PRACOVNÍKŮ VŠCHT. *VŠCHT* [online]. Praha: Ústav analýzy potravin a výživy, 2017 [cit. 2019-04-21]. Dostupné z: [https://web.vscht.cz/~kocourev/files/Leg\\_7\\_2017-1-mikroorganismy.pdf](https://web.vscht.cz/~kocourev/files/Leg_7_2017-1-mikroorganismy.pdf)

## Seznam tabulek

Tab. 1 Kategorie míry pravděpodobnosti kontaminace výrobků z daného místa.....	34
Tab. 2 Přirazení rizika mikrobiologické kontaminace výrobků vybraným místům .....	35
Tab. 3 Výsledky měření (24. 8. 2018) .....	40
Tab. 4 Definice jednotlivých kategorií vytvořených podle limitních hodnot.....	41
Tab. 5 Výsledky měření (24. 8. 2018) se stanovením celkového rizika mikrobiologické kontaminace.....	43–44
Tab. 6 Výsledky měření pro ověření účinnosti dezinfekce (27. 9. 2018).....	45
Tab. 7 Výsledky měření pro ověření účinnosti dezinfekce (18. 10. 2018).....	45
Tab. 8 Výsledky kontrolního měření (17. 1. 2019) provedeného pomocí Hygicult testů .....	48–49
Tab. 9 Výsledky kontrolního měření (17. 1. 2019) provedeného pomocí otisku sterilním filtračním papírem.....	50–51

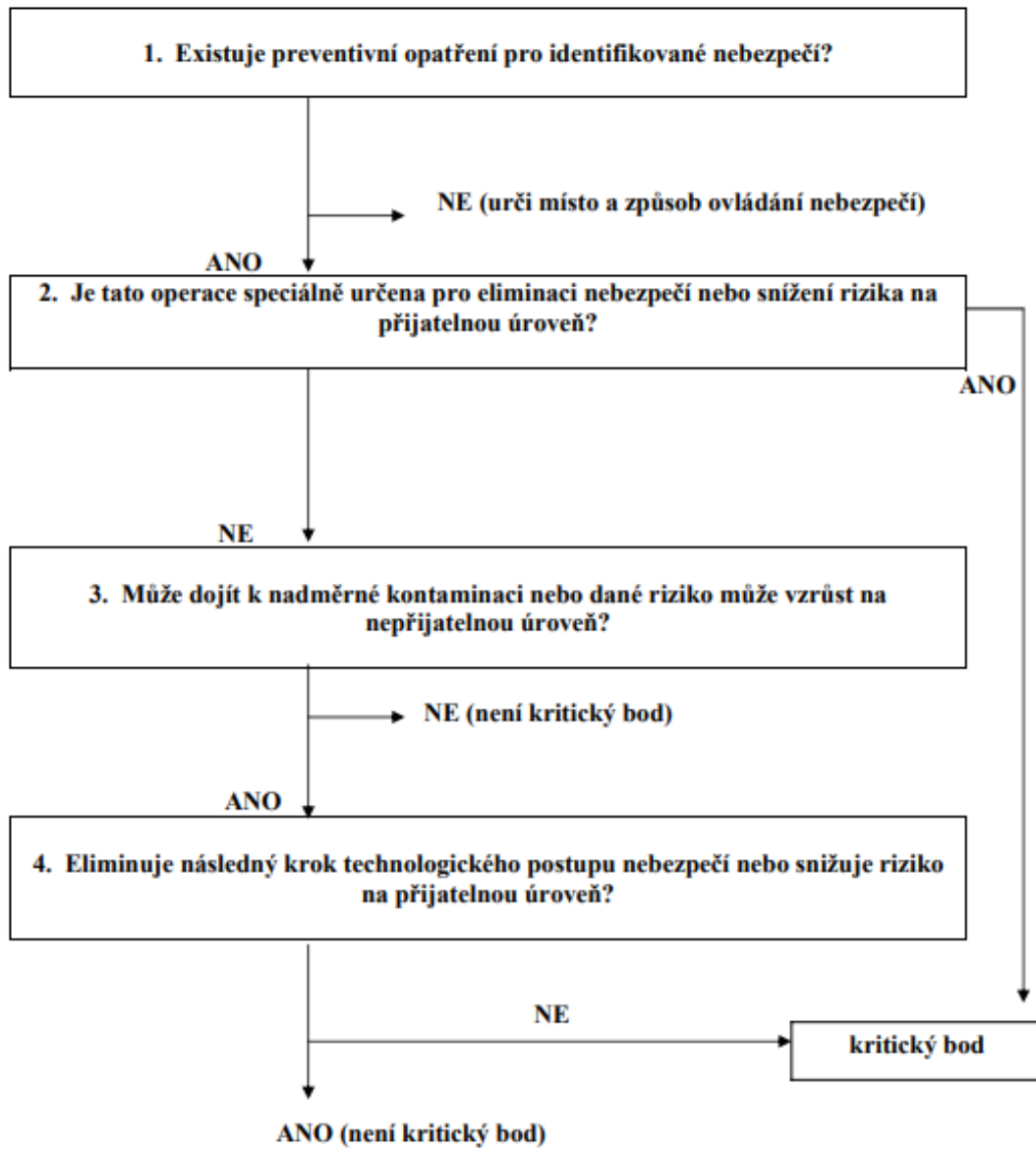
## Seznam příloh

Příloha A Ukázkové schéma postupu při stanovení CCP

Příloha B Konkrétní příklady jednotlivých způsobů dezinfekcí

Příloha C Návod pro použití testu Hygicult Y&F

Příloha A Ukázkové schéma postupu při stanovení CCP



Obr. 1 Ukázkové schéma postupu při stanovení CCP (13, s. 6)

Příloha B Konkrétní příklady jednotlivých způsobů dezinfekcí

<b>Fyzikální</b>	<b>Fyzikálně-chemické</b>	<b>Chemické</b>	<b>Biologická ochrana</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- var po dobu 30 min</li> <li>- var v tlakových nádobách po dobu 20 min</li> <li>- v přístrojích při teplotě 90 °C a vyšší</li> <li>- UV záření (253,7–264 nm)</li> <li>- filtrace</li> <li>- žhání v plamenu</li> <li>- spalování</li> <li>- proudící horký vzduch 110 °C/30 min</li> <li>- pasterizace</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- dezinfekční přístroje a dezinfekční přípravky</li> <li>- mycí, prací a čisticí stroje při teplotě 60 °C</li> <li>- paroformaldehydová dezinfekční komora</li> </ul>	chemické látky na bázi: <ul style="list-style-type: none"> <li>- alkálie</li> <li>- kyseliny</li> <li>- oxidancia</li> <li>- halogeny</li> <li>- sloučeniny kovů</li> <li>- alkoholy a étery</li> <li>- aldehydy</li> <li>- cyklické sloučeniny</li> <li>- povrchově aktivní látky</li> <li>- kombinované</li> <li>- nové látky</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- parazitismus mikroorganismů</li> </ul>

Obr. 2 Konkrétní příklady jednotlivých způsobů dezinfekcí (23, s. 93)

## Příloha C Návod pro použití testu Hygicult Y&F

### Hygicult®Y&F

#### Zamýšlené použití

Testovací destičky Hygicult Y&F jsou určeny pro rychlou kontrolu znečištění způsobené plísněmi u různých typů materiálů, jak pevně tak kapalně konzistence. Test se může provést přímo na destičce nebo lze použít destičku jako výhodné médium pro transport vzorku. Destička je z obou stran pokryta Maltozovým agarem, který podporuje růst kvasinek a plísní. Růst bakterií je potlačen. Hlavním významem tohoto testu je detekce zvýšeného počtu plísní. Je také nejprve nutno stanovit normální hodnotu výskytu plísní.

#### Balení obsahuje:

Hygicult Y&F	Kat.číslo 68013
Testovací destičky	10 ks
Štítky	10 ks
Návod k použití	1 ks

#### Složení agarů:

Maltózový agar	
Maltózový agar	Antibiotika
Kvasnicový extrakt	Agar-agar
Glukosa D	Voda
Kyselina mléčná	

#### Upozornění a bezpečnostní opatření:

Nepoužívejte tento výrobek po uplynutí doby použitelnosti vyznačené na obalu.

Nepoužívejte soupravu, pokud si všimnete

- změny barvy nebo dehydratace živné půdy
- oddělení živné půdy od plastové destičky
- kontaminace destičky bakterií nebo plísní

Nedotýkejte se mikrobiologického nárůstu, protože kolonie rostoucí na destičce mohou být patogenní.

#### Skladování:

Soupravu skladujte při pokojové teplotě (18...25°C/ 64...77°F), chraňte před větrem, kolísáním teplot a zdrojem světla. Vyhněte se skladování soupravy v blízkosti zdroje tepla. Chraňte před mrazem. Datum expirace (rok-měsíc-den) je uveden na obalu soupravy a na víčku každého testu.

#### Odběr vzorku

Živná půda by neměla přijít do kontaktu s žádným jiným materiálem, než určeným k testování, aby se zabránilo kontaminaci. Zároveň je důležité, aby byl kontakt agarové vrstvy destičky s testovacím materiálem co nejdokonalejší.

Po odebrání vzorku pevně zašroubujte testovací destičku zpět do originálního plastového obalu.

#### Inokulace destičky (obr.1a,1b)

Povrchy pevných materiálů mohou být zaočkovány přitlačením každé strany destičky pevně k povrchu na dobu 3 nebo 4 sekund. Destička by měla být během otisku přidržována. Kloubová konstrukce destičky umožňuje snadné použití.

#### Testování tekutých materiálů (obr. 2)

Tekuté materiály se testují ponořením destičky do kapaliny na dobu 3 nebo 4 sekund. Po vyjmutí se přebytečná kapalina nechá odkapat na savý papír.

#### Stěry (obr. 3)

Vzorky polotuhých materiálů nebo předmětů, které jsou obtížně dostupné, mohou být opatrně odebrány pomocí vatového tampónu ve vymezené oblasti, např. pomocí rámu.

Je-li předmět suchý, měl by se nejprve navlhčit vatový tampón sterilní vodou. Navlhčený tampón může být použit i pro odebrání vzorku ve formě prášku (např. koření) nebo viskózní kapaliny. Po odebrání vzorku na tampón, lehce otírejte povrch živné půdy destičky otáčením tampónu, a to zleva doprava a zdola nahoru.

#### Inkubace (obr. 4)

Inkubujte destičky pevně uzavřené v originálních plastových obalech při teplotě 27-30°C. Vyšší teploty se nedoporučují, protože většina běžných kvasinek a plísní neroste při vyšší teplotě. Doba inkubace je 3 až 5 dní. Nárůst je obvykle viditelný již po 3 dnech, ale doporučuje se 5-ti denní inkubace kvůli pomalu rostoucím plísním.

#### Interpretace výsledků (obr. 5)

Po skončení inkubace vyjměte destičku z originálního plastového obalu. Vyvarujte se rychlé manipulace s destičkou, aby se zabránilo uvolnění spor produkovaných plísněmi, což by vedlo k falešně vysokým výsledkům. Určete počet plísní (počet jednotek tvořících kolonie, CFU) porovnáním hustoty nárůstu

na destičce se vzorovou tabulkou. Neměly by být viditelné žádné bakteriální kolonie, protože bakteriální růst je potlačen nízkým pH a přítomností antibiotik v agaru na destičce. Mikrobiální růst na destičce Hygicult Y&F může obsahovat pouze plísně, pouze kvasinky

nebo směs obou. Kolonie plísňí jsou měkké, nadýchané a obvykle bledé, zelené nebo černé barvy. Kvasinky obvykle tvoří kopulovitý tvar, ale mohou být někdy i rovné a suché. Kolonie mají často světlou nebo červenou barvu.

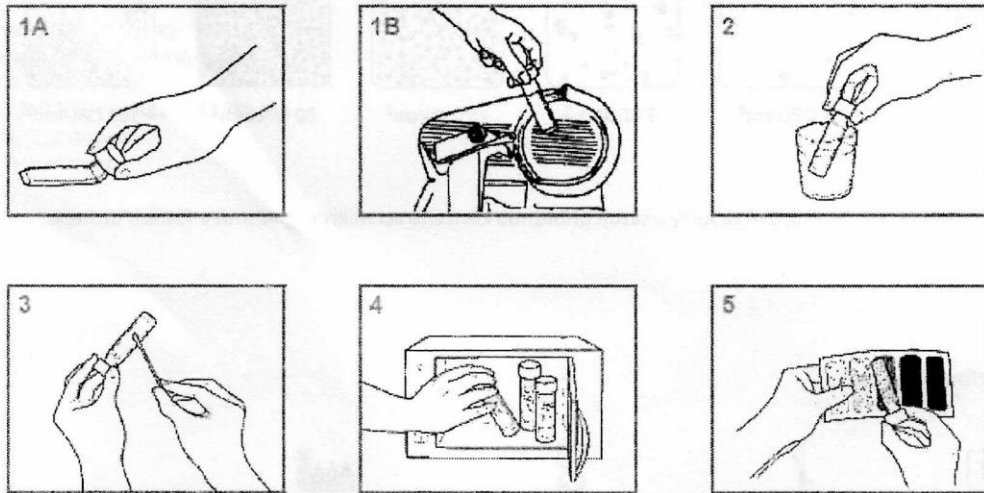
#### Omezení metody

Výsledky získané různým způsobem inokulace by neměly být srovnávány. Validní srovnání výsledků je možné pouze při použití stejné metody odběru vzorku a u stejných typů materiálů.

#### Likvidace

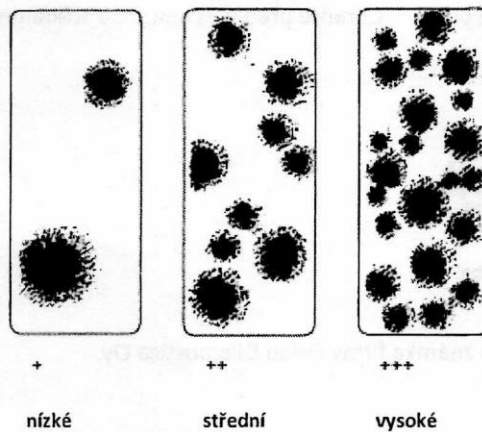
Jakýkoliv nárůst na destičkách může být patogenní. Použité destičky musí být tedy zlikvidovány spálením, použitím autoklávu nebo ponořením do vhodného dezinfekčního prostředku přes noc, a to vždy podle platných předpisů.

#### Návod k použití

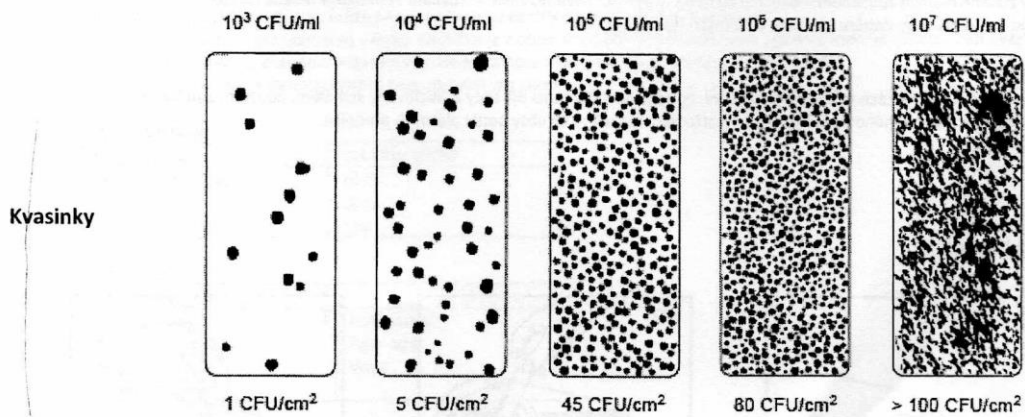


#### Vzorové tabulky

Plísně







Vzorové tabulky ukazují přibližnou koncentraci mikroorganismů v řádech desítek.

#### Vysvětlení symbolů



Kód šarže

Teplotní omezení

Spotřebujte do

Výrobce



Viz. návod k použití

Dostačuje pro

Chraňte před vyschnutím a střídáním teplot



Víčko



Destička



Obal

Hygicult® je registrovaná ochranná známka firmy Orion Diagnostica Oy.

Obr. 5 Návod pro použití Hygicult testů třetí strana (25)