

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA
ÚSTAV PREVENTIVNÍHO LÉKAŘSTVÍ



**Surveillance infekčních komplikací u pacientů
hemato-onkologické kliniky**

**Surveillance of Infectious Complications
in Patients of the Hemato-oncology Clinic**

Dizertační práce

RNDr. Ondřej Holý

2013

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA
ÚSTAV PREVENTIVNÍHO LÉKAŘSTVÍ



**Surveillance infekčních komplikací u pacientů
hemato-onkologické kliniky**

Dizertační práce

Vypracoval: RNDr. Ondřej Holý
Vedoucí dizertační práce: doc. RNDr. Ivanka Matoušková, Ph.D.
Studijní obor: Hygiena, preventivní lékařství a epidemiologie
Datum odevzdání práce: _____

Prohlášení

Prohlašuji, že předložená práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně. Veškerou literaturu a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, v práci řádně cituji a jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Poděkování

Na tomto místě bych chtěl poděkovat vedoucí dizertační práce, doc. RNDr. Ivance Matouškové, Ph.D., za podporu, vstřícnost, odborné vedení, připomínky a cenné rady při zpracovávání této práce. Zároveň bych chtěl poděkovat všem ostatním spolupracovníkům z Ústavu preventivního lékařství a Ústavu mikrobiologie, kteří se zasloužili o vznik této práce.

V Olomouci dne

(podpis)

Bibliografická identifikace

Autor:	RNDr. Ondřej Holý
Název práce:	Surveillance infekčních komplikací u pacientů hemato-onkologické kliniky
Typ práce:	Dizertační práce
Ústav:	Ústav preventivního lékařství
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Ivanka Matoušková, Ph.D.
Rok obhajoby:	2013

Abstrakt

Studie s názvem „Surveillance of Infectious Complications in Hemato-Oncological Patients“ probíhala na oddělení 5C Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc. Byla zahájena 1. července 2010 s dobou ukončení k 31. srpnu 2011. V tomto období bylo na oddělení hospitalizováno celkem 96 pacientů, z toho bylo 63 pacientů transplantovaných. V 43 případech se jednalo o transplantaci autologní, ve zbývajících případech, tj. 20 se jednalo o transplantaci alogenní. V uvedeném období byl prováděn monitoring mikrobiální kontaminace prostředí u vybraných povrchů a ovzduší na výše uvedeném oddělení. Současně byla monitorována mikrobiální kontaminace aktuálně přítomného personálu (stěr pravé ruky a vlasů, výtěr z nosu).

Cílem studie bylo zjištění bakteriální kontaminace ve vnitřním vzduchu, prostředí a osídlení personálu.

Kultivací prokázané bakteriální kmeny byly biochemicky identifikovány. Zvýšená pozornost byla věnována gramnegativním nefermentujícím bakteriím, které podle současné literatury je nutné považovat za nastupující původce nemocničních infekcí.

Bylo výtípováno 20 odběrových míst a celkem bylo provedeno 240 odběrů vnitřního vzduchu. Jednalo se o aktivní nasávání 100 litrů vnitřního vzduchu aeroskopem MAS-100. Nejvyšší průměrná hodnota mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu byla zjištěna v místnosti „vstupní filtr personálu“ (1170 CFU/m³). Nejnižší mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu (150 - 250 CFU/m³) byla naměřena na izolačních boxech pacientů. Nejčastěji izolovanými bakteriálními kmeny byly koagulázanegativní stafylokoky, které tvořili 94,3 % všech zachycených bakteriálních kmenů. Druhým nejčastěji izolovaným kmenem byl *Micrococcus* spp., který tvořil 67 %

všech izolovaných kmenů a *Bacillus subtilis* (11 %). Je možné předpokládat, že zdrojem izolovaných bakteriálních kmenů ve vnitřním ovzduší jsou pacienti a personál.

Celkem bylo provedeno 480 odběrů vnitřního vzduchu na Sabouraudův agar s chloramfenikolem, v 11 případech (tj. 2,29 %) byl kultivací prokázán zástupce mikroskopických vláknitých hub. Jen ve dvou případech se jednalo o sociální zařízení izolačního boxu pacienta, ostatní pozitivní nálezy byly z místností zázemí transplantační jednotky. Nejčastěji byl prokázán kmen *Aspergillus* spp. (4x), 2x byl zastoupen kmen *Trichoderma* spp. a kmen *Penicillium* spp., po jednom zástupci měly kmeny *Paecilomyces* spp., *Eurotium* spp. a *Chrysonilia* spp. Ve dvou případech (sociální zařízení izolačního boxu č. 4) bylo kultivačně prokázáno sterilní vzdušné mycelium, ale bližší identifikace nebyla možná.

Výsledky studie prokázaly minimální riziko v souvislosti s provozním režimem transplantační jednotky.

Abstract

The study, entitled "Surveillance of Infectious Complications in Hemato-oncological Patients", took place at the Department of Hemato-oncology, University Hospital Olomouc. It was launched on 1st of July 2010 and ended on 31st of August 2011. During this period, a total of 96 patients were hospitalized at that department. 63 patients were transplanted – 43 cases of autologous stem cell transplantations, 20 allogeneic transplantations. During this period, microbiological contamination of selected surfaces and air was monitored. Concurrently, microbial contamination of currently present staff was monitored (smear from right hand, hair and nasal mucosa).

The aim of this study was to detect bacterial contamination in indoor air, selected surface and currently present staff.

Cultivated bacterial strains were biochemically identified. Increased attention was paid to nonfermentative Gram-negative bacilli, which according to current literature are considered as potential agents of hospital infections.

Twenty locations were singled out for the purposes of collecting a total of 240 samplings of the indoor air. An MAS-100 air sampler (Merck, GER) was used, with an active intake of 100 liters of the indoor air. The highest average value of microbial contamination of the indoor air was found in the room "staff entrance filter" (1170 CFU/m³). The lowest microbial contaminations of the indoor air (150 –

250 CFU/m³) were measured at the patient isolation boxes. The most frequently isolated bacterial strains were coagulase-negative staphylococci (94.3 % of all bacterial strains). The second most frequently isolated strain was *Micrococcus* spp. (67 % of all isolates) and *Bacillus subtilis* (11%). It can be assumed, that the source for these bacterial strains, isolated from the indoor air are patients as well as medical staff.

In total, 480 samples of the indoor air for Sabouraud agar with chloramphenicol were taken; in 11 cases (i.e. 2.29%) the culture verified the incidence of microscopic filamentous fungi. Only two cases involved the sanitary facilities of a patient isolation box; the other positive findings were from the facilities of the Transplant Unit. A genus established most often was *Aspergillus* spp. (4 instances), followed by 2 cases of *Trichoderma* spp. and *Penicillium* spp., while the strains of *Paecilomyces* spp., *Eurotium* spp. and *Chrysonilia* spp. had one incidence each. In two cases (the sanitary facilities of isolation box No. 4), the culture established sterile aerial mycelium; unfortunately no further identification was possible. A total of 726 swabs of HVAC diffusers were collected, of which 2 were positive (i.e. 0.28%).

The study results demonstrated the efficacy of the HVAC equipment and the minimal risk of the indoor air contamination in relation to the operation of the Transplant Unit. None of the positive culture results showed more than 10 CFU/m³ of the indoor air. Likewise, no quantitative or qualitative changes in the incidence of microscopic filamentous fungi were recorded in connection with the building renovation, which took place on the ground floor of the building during the study.

The study results demonstrate minimal risk in connection with the operation mode of the transplant unit.

KLÍČOVÁ SLOVA

Nemocniční prostředí, čisté prostory, hemato-onkologičtí pacienti, imunosuprese, riziko infekce

KEYWORDS

Hospital environment, clean-rooms, hemato-oncologic patients, immunosuppression, risk of infection

Seznam zkratek

AMC	amoxicillin + kyselina klavulanová
AMP	ampicilin
AMS	ampicilin + sulbactam
ASHRAE	American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers
CDC	Centrer for Disease Control and Prevention
CIP	ciprofloxacin
CFU	Colony Forming Units
COL	kolistin
CoNS	koagulázanegativní stafylokoky
COSPAR	Commitee on Space Research
CYA	Czapkův agar s kvasničným extraktem
EWGLI	The European Working Group for Legionella Infections
HEPA	High Performance Particulate Air
HOK	Hemato-onkologická klinika
HSTC	Hematopoietic Stem Cell Transplantation
HVAC	Heating, Ventilation, and Air Conditioning
GPA	Sabouraudův agar
GVHD	Graft Versus Host Disease
KA	Columbia krevní agar
MEA	2% malt-extrakt agar
OFL	ofloxacin
SI	Le Système International d'Unités
TGPA	tekutý Sabouraudův agar
Thi	Thioglykolátový bujon
ULPA	Ultra-low Penetration Air
ZÚ	Zdravotní ústav

Seznam tabulek, obrázků a grafů

Tabulka 1: Srovnání tříd čistoty dle ČSN EN ISO 14644-1 a FED-STD-209E (počty částic na m³).

Tabulka 2: Základní technické parametry obou typů izolátorů. (Zdroj: Geshwiler, 2008)

Tabulka 3: Selected airborne particulate cleanliness classes for cleanrooms and clean zones. (Zdroj: ČSN EN ISO 14644-1)

Tabulka 4: Klimatizace zázemí transplantační jednotky – odd. 5C, HOK. (Zdroj: Vacek, 1995)

Tabulka 5: Nomogram, umožňující provádění výpočtů pomocí jednoduchých geometrických konstrukcí a čtením přímo v tomto grafu.

Tabulka 6: Hodnoty teploty a relativní vlhkosti vnitřního vzduchu.

Tabulka 7: Zastoupení kmenů gramnegativních bakterií v zázemí transplantační jednotky – odd. 5C, HOK.

Tabulka 8: Zastoupení kmenů gramnegativních bakterií v prostředí izolačních boxů pacientů transplantační jednotky – odd. 5C, HOK*.

Tabulka č. 9: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů izolovaných z povrchů.

Tabulka 10: Legionely izolované z vody v nádržce na vodu určené ke splachování WC. Tato voda není chemicky ošetřena.

Tabulka 11: Legionely izolované ze stěrů vnitřní stěny nádržky na vodu určené ke splachování WC.

Tabulka 12: Absolutní hodnoty a druhové zastoupení bakteriálních kmenů izolovaných z personálu – lékaři.

Tabulka 13: Absolutní hodnoty a druhové zastoupení bakteriálních kmenů izolovaných z personálu – sestry.

Tabulka 14: Počty a druhové zastoupení bakteriálních kmenů izolovaných z personálu – pracovnice úklidové firmy ISS.

Tabulka 15: Identifikované mikroskopické vláknité houby ve vnitřním vzduchu.

Obrázek 1: Izolátor s podtlakem vůči okolí. (Zdroj: MMWR 2003; 52)

Obrázek 2: Izolátor s přetlakem vůči okolí, tzv. „reverzní izolace“.
(Zdroj: MMWR 2003; 52)

- Obrázek 3: Schéma transplantační jednotky – odd. 5C, HOK
(šedou barvou označeno zázemí oddělení, černě vyznačena místa odběru
vnitřního vzduchu aeroskopem).
- Obrázek 4: Nejčastěji opomíjená místa při mytí rukou. (Zdroj: Witt, 2008)
- Obrázek 5: Kontakty a jejich četnost mezi různými profesemi a pacienty
v nemocničním prostředí. (Zdroj: Scientific American, 2013)
- Obrázek 6: Pět základních situací pro hygienu rukou. (Zdroj: MZČR, 2009)
- Graf 1: Naměřené hodnoty teploty vnitřního vzduchu na jednotlivých odběrových
místech.
- Graf 2: Naměřené hodnoty relativní vlhkosti vnitřního vzduchu na jednotlivých
odběrových místech.
- Graf 3: Průměrné hodnoty CFU/m³ na jednotlivých odběrových místech.
- Graf 4: Hodnoty CFU/m³ vzduchu ve vstupním filtru personálu.
- Graf 5: Průměrné hodnoty CFU/m³ (izolační box, filtr izolačního boxu, sociální zařízení
- bez pacienta modře, s pacientem červeně).
- Graf 6: Průměrné hodnoty v CFU/m³ na jednolitéch izolačních boxech a příslušných
sociálních zařízeních obsazených pacientem. Zvýrazněná limitní hodnota
200 CFU/m³.
- Graf 7: Zastoupení bakteriálních kmenů ve vnitřním vzduchu v procentech
- bez koagulázanegativních stafylokoků (izolační boxy + zázemí).
- Graf 8: Zastoupení bakteriálních kmenů ve vnitřním vzduchu v procentech
- bez koagulázanegativních stafylokoků (izolační boxy + sociální zařízení).
- Graf 9: Zastoupení bakteriálních kmenů ve vnitřním vzduchu v procentech
- bez koagulázanegativních stafylokoků (zázemí).
- Graf 10: Izolační box pacienta – lokalizace podle počtu pozitivních kultur.
- Graf 11: Prostředí sociálního zařízení na izolačním boxu pacienta. Roztok
dezinfekčního přípravku na zubní kartáček a tekuté mýdlo – kultivačně
pozitivní na koagulázanegativní stafylokoky.
- Graf 12: Předměty kontaminované mikroorganismy - vstupní filtr na izolační box
pacienta.
- Graf 13: Celkové počty izolovaných gramnegativních bakterií z povrchů.

- Graf 14: Zastoupení jednotlivých gramnegativních bakteriálních kmenů z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.
- Graf 15: Izolované kmeny *Pseudomonas* spp. z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.
- Graf 16: Izolované kmeny *Enterobacter* spp. z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.
- Graf 17: Izolované kmeny *Klebsiella* spp. z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.
- Graf 18: Identifikované koagulázanegativní stafylokoky z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.
- Graf 19: Izolované kmeny *Enterococcus* spp. z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.
- Graf 20: Zastoupení jednotlivých grampozitivních bakteriálních kmenů identifikovaných z personálu.
- Graf 21: Zastoupení identifikovaných koagulázanegativních stafylokoků z personálu.
- Graf 22: Zastoupení jednotlivých gramnegativních bakteriálních kmenů izolovaných z personálu.
- Graf 23: Biochemicky identifikované kmeny *Enterobacter* spp. získané z personálu.
- Graf 24: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů; stěr z nosní sliznice personálu.
- Graf 25: Zastoupení gramnegativních bakteriálních kmenů; stěr z nosní sliznice personálu.
- Graf 26: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů v procentech; stěr pravé ruky personálu.
- Graf 27: Zastoupení gramnegativních bakteriálních kmenů; stěr z pravé ruky personálu.
- Graf 28: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů; stěr z vlasů personálu.
- Graf 29: Rodové zastoupení identifikovaných mikroskopických vláknitých hub, v absolutních počtech.

Obsah

1	Úvod.....	14
1.1	Historie čistých prostorů	16
1.2	Vývoj a současný stav čistých prostorů – izolačních boxů ve zdravotnických zařízeních	19
1.2.1	Izolátor s podtlakem vůči okolí	23
1.2.2	Izolátor s přetlakem vůči okolí (izolační box).....	24
1.3	České technické normy – zařízení pro čisté prostory	25
2	Charakteristika souboru	32
2.1	Transplantační jednotka – odd. 5C, HOK.....	33
2.1.1	Technická vybavenost - izolační boxy.....	34
2.1.2	Technologie přípravy speciálně upravené vody	39
2.1.3	Průběžná a konečná dezinfekce prostorů transplantační jednotky – odd. 5C, HOK.....	40
2.1.4	Distribuce stravy	43
2.1.5	Personál.....	43
2.1.6	Návštěvy pacientů – pokyny pro vstup na transplantační jednotku.....	44
3	Metodika	45
3.1	Stanovení mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu čistých prostorů (aktivní vzorkování vzduchu aeroskopem)	47
3.2	Stanovení mikrobiální kontaminace výústek vzduchotechnického zařízení	49
3.3	Stanovení mikrobiální kontaminace povrchů, výpustí umývadla a dřezů a tekutého materiálu.....	50
3.4	Stanovení mikrobiologických ukazatelů speciálně upravené vody a pitné vody vodovodního řádu	51
3.4.1	Vzorkování vody.....	51
3.4.2	Odběry vzorků speciálně upravené vody a jejich zpracování.....	52
3.4.3	Odběr vzorků speciálně upravené vody a pitné vody na kultivační průkaz legionel.....	53
3.5	Vyšetření promořenosti personálu epidemiologicky významnými bakteriálními kmeny.....	54
3.6	Identifikace kultivací prokázaných mikroskopických vláknitých hub	55
4	Výsledky	56
4.1	Charakteristika bakteriálních kmenů izolovaných v rámci šetření.....	56
4.1.1	Grampozitivní koky	56
4.1.2	Grampozitivní tyčky	59
4.1.3	Gramnegativní tyčky – fermentující	60
4.1.4	Gramnegativní tyčky – nefermentující	62
4.1.5	Mikroskopické vláknité houby	67

4.2	Výsledky hygienicko-epidemiologického šetření na transplantační jednotce – odd. 5C, HOK	69
4.2.1	Stanovení mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu čistých prostorů (aktivní vzorkování aeroskopem)	71
4.2.3	Stanovení mikrobiální kontaminace povrchů, výpustí umývadel a dřezů a tekutého materiálu.....	76
4.2.4	Stanovení mikrobiologických ukazatelů speciálně upravené vody a pitné vody vodovodního řadu	86
4.2.5	Promořenost personálu epidemiologicky významnými bakteriálními kmeny	88
4.2.6	Identifikované mikroskopické vláknité houby ve vnitřním vzduchu	97
5	Diskuze	99
6	Závěr	112
7	Literatura.....	113
8	Přílohy.....	125

1 Úvod

Transplantace kostní dřeně nebo kmenových buněk je život zachraňující léčba u mnohých zhoubných nádorů a geneticky podmíněných nebo hematologických onemocnění. V roce 2009 na celém světě bylo uskutečněno více než 25 000 alogenních a 30 000 autologních transplantací kmenových buněk (Tomblyn, 2009).

Všechny podpůrné postupy stavebně technického i léčebného charakteru zatím nedokáží eliminovat vznik infekčních komplikací u těchto pacientů. Infekce se podílejí na úmrtí pacientů po autologních transplantacích kostní dřeně 8 %, resp. 17 - 21 % u alogenních transplantací kostní dřeně (Tomblyn, 2009).

Hemato-onkologičtí pacienti mají poškozeny nejen důležité složky imunitního systému, ale v souvislosti s léčbou jsou u nich často realizovány četné nefyziologické vstupy, např. centrální venózní katétry. Následně vzniklé infekční komplikace jak endogenního, tak exogenního charakteru mohou mít až fatální vyústění. Prevenci exogenních infekcí u hemato-onkologických pacientů v době nejvyššího rizika (prolongované neutropenie, imunosupresivní terapie) je možné realizovat speciálním pobytovým režimem v boxech reverzní izolace s pozitivním tlakem, v tzv. „čistých prostorech“ s účinným vzduchotechnickým zařízením a zabudovanými High Performance Particulate Air (HEPA) filtry. V některých sděleních se hovoří o tzv. „Protected Environment (PE)“, tj. „chráněném prostředí“, které je určeno především pro pacienty po alogenní transplantaci kmenových buněk. Za takové prostředí je možné považovat izolační boxy pacientů na transplantační jednotce – oddělení 5C, Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc.

Před 10 lety vyšla publikace HVAC (Heating, Ventilation, and Air Conditioning) Design Manual for Hospitals and Clinic. Předseda American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers (ASHRAE) SP 91 v úvodu této knihy zdůrazňuje, že teplota, relativní vlhkost vzduchu a ventilace hrají nejdůležitější roli v přežívání mikroorganismů ve vnitřním vzduchu. Zmíněné fyzikální faktory jsou v čistých prostorech zdravotnických zařízení nastaveny na hodnoty, které by měly být optimální pro pobyt pacientů, a současně by mělo být minimalizováno riziko vzniku nemocničních nákaz. Ne vždy se tyto požadavky daří realizovat v plné míře. V čistých prostorech zdravotnického zařízení, narozdíl od výrobních čistých prostorů bez vstupu člověka, je přítomen pacient a zdravotnický personál. Lidský

organismus je vždy osídlen mikroorganismy, které jsou vnášeny do čistých prostorů. Jak pro pacienty, tak zdravotnický personál jsou vypracovány zásady pro vstup do těchto prostorů, aby mikrobiální kontaminace čistých prostorů byla minimalizována. Přesto dochází už pouhou přítomností člověka v tomto prostoru k uvolňování živých i neživých částic. Pro zdravotnická zařízení nejsou stanoveny limity mikrobiální kontaminace jednotlivých složek daného prostředí čistých prostorů. Pouze farmaceutický průmysl má legislativou dané limity mikrobiální kontaminace kritických míst výroby v čistých prostorech.

Výše uvedené informace o možné mikrobiální kontaminaci prostředí čistých prostorů vedou k jednoznačnému závěru: monitoring mikrobiální kontaminace čistých prostorů ve zdravotnických zařízeních není zbytečný luxus a patří mezi důležité způsoby prevence výskytu nemocničních infekcí u imunosuprimovaných pacientů.

Vyšetřování koncentrací bakterií a mikroskopických vláknitých hub ve vnitřním vzduchu má nezastupitelný význam pro sledování kvality vnitřního vzduchu čistých prostorů. Nejnovější výsledky výzkumu ukazují, že mikroorganismy detekované z pevných povrchů nejsou vždy totožné s mikroorganismy nalézány ve vnitřním vzduchu. Třetí a velmi důležitou složkou pravidelného monitoringu mikrobiální kontaminace čistých prostorů je sledování osídlení personálu epidemiologicky významnými bakteriálními kmeny. Jen tento komplexní monitoring mikrobiální kontaminace čistých prostorů ve zdravotnických zařízeních včetně zdravotnického personálu může být účinný v prevenci nemocničních nákaz.

Cílem této epidemiologické prospektivní studie, která probíhala po dobu jednoho roku (srpen 2010 - červenec 2011) na transplantační jednotce – oddělení 5C Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc, bylo zjistit mikrobiální kontaminaci uvedeného prostředí a bakteriální osídlení personálu epidemiologicky významnými kmeny.

Práce byla podpořena grantovým projektem Research Support Foundation, Vaduz - Surveillance of Infectious Complications in Hemato-Oncological Patients [801100021/39].

1.1 Historie čistých prostorů

Objev a popis bakterií ústní mikroflóry jsou uvedeny v dopisu Leeuwenhoeka ze dne 17. září 1683. V hlenu z povrchu zubu popisuje neobyčejně malá zvířátka, velmi čile se pohybující. Následně pozoruje tato zvířátka poté, co si ústa vypláchl zředěným octem a zjišťuje, že mnohá z nich se nepohybují a jejich množství je zřetelně menší. Toto konstatování je považováno za první důkaz asepse, téměř 200 let před pracemi Listera (Kořínek, 1948).

Celé 19. století je spojeno s velkým rozvojem mikrobiologie a epidemiologie. Především je zde nutné uvést jméno francouzského chemika Louise Pasteura, z jehož odborných prací vycházejí další lékaři a mikrobiologové. Je prokázán vztah mezi mikrobem a nemocí, zjištěna příčina (původce) mnoha infekčních onemocnění a postupně se proti nim vyvíjí prevence.

Ještě před Semmelweisem, v roce 1843, dokazuje O.W. Holmes v Bostonu, že horečka omladnic je infekční nemocí, a že ji mohou přenášet i ošetřující lékaři. V roce 1847 zavádí vídeňský gynekolog maďarského původu Ignac Fülöp Semmelweis chlorovou vodu k dezinfekci rukou lékařů, kteří jdou k porodu nebo vyšetřují ženu. V této době ještě není plně přesvědčen o úloze bakterií jako původců infekce, ale za škodlivé agens pokládá „*faulige septische Stoffe und Jauche*“. Během krátké doby dosahuje u rodiček poklesu letality na horečku omladnic z 35 % na nulu. Tuto práci završuje roku 1861, kdy vydává své hlavní dílo *Die Aetiologie, der Begriff und die Prophylaxie des Kindbettfiebers* (Kořínek, 1948).

Již kolem roku 1850 Ch. G. Ehrenberg vyšetřuje vzduch bakteriologicky. Pomocí aspirátoru jímá vzduch v určitém množství vody, kde pak stanovuje bakterie (Kořínek, 1948).

Joseph Lister, chirurg v anglickém Glasgowě, je upozorněn roku 1865 svým kolegou Andersonem na práce Pasteura, které se týkají jeho pokusů s *baňkami s „labutím krkem“*. Na základě těchto sledování Pasteur prokazuje, že mikroby jsou přítomny všude, tedy i ve vzduchu. Dokazuje, že filtruje-li se vzduch vatou nebo musí-li projít do baňky „*labutím krkem*“, tj. vytáhlou, dlouhou a tenkou postranní trubičkou, zbaví se zárodků. Vzduch nucený změnit směr pohybu se zbavuje zárodků a všech unášených pevných partikulí. Lister provádí rozstříkávání roztoku fenolu na operačních sálech a chrání rány obklady namočenými také v roztoku fenolu. Zavádí pojem

antiseptiky a svým přístupem k ochraně otevřených ran ovlivňuje chirurgické obory. Roku 1867 v Dublinu publikuje práci *On the antiseptic in the practice of surgery*, kde zdůvodňuje používání kyseliny karbolové ve formě aerosolu na operačních sálech (Kořínek, 1948).

Výše již zmiňovaný Louis Pasteur roku 1874 navrhuje sterilizaci obvazového materiálu vysokými teplotami. Objevují se nové postupy a doporučení, které snižují riziko infekce v operační ráně. Již roku 1890 Halsted prvně zavádí do chirurgie sterilizované gumové rukavice (Kruml, 1975).

Pozornost mikrobiologů se opět obrací k problematice výskytu bakterií v ovzduší. Francouzský mikrobiolog Miquel v 80. letech devatenáctého století velmi intenzivně sleduje výskyt bakterií ve venkovním ovzduší (okolí Eiffelovy věže). Zde zjišťuje úbytek bakterií se vzrůstající výškou. Maximální výskyt bakterií a plísní vykazuje v létě. V rozpětí 15 měsíců sleduje mikrobiální kontaminaci vzduchu v pařížské nemocnici Hospital de La Pitié. V přeplněných pokojích prokazuje průměrně 11 000 bakterií na m³ vzduchu (Tölgyessy, 1989).

Tento velmi stručný přehled převratných změn 19. století v mikrobiologii a epidemiologii a jejich uplatnění v některých oborech klinického lékařství je snad možné uzavřít tím, že chirurgové ve 30. letech 20. století navrhují, aby operační sály byly prostorově odděleny od ostatních částí nemocnice.

Snad už naposledy se vraťme ke jménu Louise Pasteura, jehož myšlenky a názory provokují mnohé z jeho mladších kolegů. Mezi ně patří i Němec Thierfelder a Američan Nuttal, kteří se na berlínské univerzitě snaží vyvrátit Pasteurovo tvrzení: „*Život člověka nebo zvířete bez mikrobů je nemožný*“. Protože se píše teprve rok 1885, jsou první pokusy o získání bezmikrobních zvířat velmi primitivní. Jsou limitováni technickými možnostmi. Tito dva mladí vědci vyřeší problém sterilního prostoru pomocí skleněného zvonu, kam přivádějí sterilní vzduch, udržují stálou teplotu a do bezmikrobního prostoru mají zabudované gumové rukavice. Sterilní morčata v tomto prostředí přežívají několik týdnů (Kruml, 1975). Snad můžeme říci, že touto prací jsou položeny nejen základy gnotobiologie, ale i základy technologie čistých prostorů

Rozvoj technických věd a různé typy materiálů umožňují dokonalejší zařízení pro vytvoření *čistých* - bezmikrobních prostorů. Zde je nutné uvést jméno německého badatele Küstera, vědce z Freiburgu, který se věnuje této problematice od roku 1910 a ve své době ji dovedl až na možný vrchol (Kruml, 1975).

Období po druhé světové válce je úzce spojeno s aplikací technologie a veškerých poznatků získaných během vývoje gnotobiologie nejen do lékařských oborů (chirurgie, léčba popálenin, léčba pacientů po ozáření, izolace pacientů s nebezpečnými infekčními chorobami, a v neposlední řadě pacienti onkologičtí, hemato-onkologičtí a novorozenci s imunodeficitními stavy), ale i do rozvíjejícího se průmyslu atomového, elektronického, farmaceutického, chemického a také do kosmonautiky a kosmické biologie.

Bezmikrobní izolační jednotky uvedené v historickém přehledu mají o jeden sledovaný faktor méně než ty, kterých se týká tato práce. Je to *prachová částice*, jejíž velikost a počet je limitujícím faktorem, který určuje třídu čistoty v čistých prostorech. O prachové částici lidé věděli, jen ji neuměli detekovat. V současné době se v čistých prostorech (operační sály, laboratoře, laminární boxy, lékárny atd.) ve zdravotnictví měří a hodnotí i tento faktor, tedy počet prachových částic určité velikosti. Každá prachová částice je považována za možného nosiče infekčního agens.

V dalším vývoji čistých prostorů ve zdravotnictví je možné sledovat dva proudy. Na straně jedné stojí ochrana pacienta před infekčním agens, dnes už i na jiných odděleních než na operačním sále. Druhým problémem je zabránit úniku nebezpečného infekčního agens do prostředí od pacienta. Posledně uvedený problém je úspěšně vyřešen americkou organizací NASA, která v prostředí měsíční laboratoře může izolovat kosmonauty po návratu z kosmu a zabránit eventuálně úniku nebezpečné infekce, která by mohla ohrozit lidstvo.

Ve zdravotnických zařízeních je ve většině případů nutné řešit problém ochrany pacienta před infekčním agens. To úzce souvisí s novými vyšetřovacími a operačními postupy (superseptické a aseptické operační sály), léčbou rozsáhlých popálenin a léčbou nádorových onemocnění, kdy je nutná dočasná ochrana pacienta po léčbě zářením nebo chemoterapií, a v neposlední řadě také s problematikou pacientů s těžkými primárními imunodeficity. Technické zásady pro výstavbu čistých prostorů ve zdravotnických zařízeních jsou shodné se zásadami, které se uplatňují v průmyslu nebo při farmaceutické přípravě a výrobě. Přesto čisté prostory ve zdravotnických zařízeních mají svá specifika a je nutné individuální řešení každého objektu. Problematika čistých prostorů, např. aseptické operační sály, je odlišná od problematiky jednotky reverzní izolace pro pacienty po transplantaci kostní dřeně. Vzhledem k tomu, že pacient pobývá v těchto izolačních pokojích určitou dobu, která je ve většině případů

delší než pracovní doba, je nutné zde také vytvořit optimální mikroklima. Ne vždy se daří úplně skloubit optimální podmínky mikroklimatu s limity teploty a relativní vlhkosti vzduchu, aby bylo zajištěno minimální riziko nežádoucí mikrobiální kontaminace a riziko vzniku nemocniční nákazy v těchto prostorech.

Kapitola byla zpracována dle dizertační práce – Matoušková, Čisté prostory ve farmacii a zdravotnických zařízeních (Matoušková, 2001).

1.2 Vývoj a současný stav čistých prostorů – izolačních boxů ve zdravotnických zařízeních

Prapůvodní myšlenka, že mikroby mohou být příčinou lokální nebo systémové infekce, vede některé odborníky k tomu, že se snaží zamezit přítomnosti mikrobů ve vnitřních prostorech.

Začátky technologie čistých prostorů jsou datovány do první poloviny 20. století. Koncem 30. let je vyvinut HEPA filtr (High Performance Particulate Air) a v době 2. světové války už je používán v protiplynových maskách švýcarské armády. Druhou podmínkou je zajištění jednosměrného proudění vzduchu, aby byly úspěšně ovládnuty částice v něm obsažené. Řešení tohoto problému je publikováno v roce 1962 Willis J. Whitfieldem (Schicht, 2006). Technologie čistých prostorů představuje sled činností na sebe navazujících, které mají kontrolovat a minimalizovat kontaminanty v přiváděném/odváděném vzduchu. Jsou na ni kladeny tyto požadavky:

- ochrana procesu nebo produktu před poškozením vlivem kontaminovaného vzduchu,
- ochrana osoby před expozicí vzdušným škodlivinám, které mohou ohrozit zdraví osoby a
- ochrana venkovního prostředí před škodlivými emisemi vznikajícími v souvislosti s provozem zařízení (Schicht, 2006).

Ve větrání a klimatizaci je filtrace atmosférického vzduchu základní způsob k dodržení požadované čistoty vnitřního vzduchu daného prostoru. Vícetupňová filtrace je nepostradatelnou součástí vysoce účinné filtrace při vytváření čistých

prostorů, kde požadavky na vysokou čistotu vzduchu vyplývají z požadavků jednotlivých pracovních postupů a ochrany zdraví lidí (Hemerka, 2009). Ke splnění požadované třídy čistoty vzduchu v čistých prostorech zdravotnických zařízení je nezbytná třístupňová filtrace vzduchu. Jako předfiltr druhého a třetího stupně filtrace je doporučován jemný filtr třídy F 7. Vysoce účinné HEPA filtry H12-H13 jsou doporučovány jako základní filtry pro všechny čisté prostory třídy 100 – 100 000 podle FED-STD 209E (FED-STD 209E), které v současné době odpovídá třída 5-8 podle ČSN EN ISO 14698-1. HEPA filtry jsou vysoce účinné pro všechny druhy prachů a aerosolů včetně virů. Třístupňová filtrace musí být rovněž realizována v případě odsávacích systémů určených pro nebezpečné aerosoly (zdravotnictví, biotechnologie, jaderná energetika) (ČSN EN ISO 14644-1). Srovnání tříd čistoty dle ČSN EN ISO 14644-1 a FED-STD-209E je uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1: Srovnání tříd čistoty dle ČSN EN ISO 14644-1 a FED-STD-209E (počty částic na m³).

ČSN EN ISO 14644-1							FED-STD-209E	
Třída	0,1 μm	0,2 μm	0,3 μm	0,5 μm	1,0 μm	5,0 μm	Třída	0,5 μm
1	10	2						
2	100	24	10	4				
3	1 000	237	102	35	8		1	35,3
4	10 000	2 370	1 020	352	83		10	353
5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29	100	3 530
6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293	1 000	35 300
7				352 000	83 200	2 930	10 000	353 000
8				3 520 000	832 000	29 300	100 000	3 530 000
9				32 500 000	8 320 000	293 000		

Čisté prostory ve zdravotnictví jsou nejdříve realizovány jako plastové izolátory s přetlakem vůči okolí. Jsou využívány v šedesátých letech některými operačními obory, např. chirurgií nebo gynekologií, kteří realizují porody do sterilního prostředí v případě, že u novorozence existuje podezření na těžký primární imunodeficit. Jedná se o plastovou „bublinu“, která je přilepena ke sterilní podložce. Sterilní vzduch je přiváděn přes HEPA filtry do vnitřního prostoru a v horní části tohoto zařízení je umístěn odvod kontaminovaného vzduchu. Ve vnitřní části ohraničeného prostoru je udržován mírný přetlak vůči okolí. Chirurgové po zavedení těchto izolátorů vykazují nižší počty infekčních komplikací po operacích, nedochází však k jejich širšímu využití.

Vývoj čistých prostorů se ubírá jiným směrem. Jsou realizovány výstavby operačních sálů a jejich zázemí s definovanou třídou čistoty vzduchu. Toto je umožněno především novými technologiemi a materiálem používaným ve stavebnictví a vzduchotechnice. V šedesátých letech chirurgové poprvé používají v průmyslu zavedenou jednotku, která vertikálním laminárním prouděním upraveného vzduchu snižuje ve vymezeném prostoru částicovou a bakteriální kontaminaci (McDade, 1968).

Normy a nařízení, které se týkají realizace a provozu čistých prostorů, jsou od druhé poloviny šedesátých let zaměřeny především na farmaceutický průmysl. Přesto mnohé z nich se stávají základem pro tvorbu norem čistých prostorů ve zdravotnických zařízeních. Německá norma DIN 1946 Raumlufttechnik (DIN 1946, 1989) obsahuje kapitolu řešící vzduchotechniku operačních sálů. Pro projekční práce vzduchotechnických zařízení čistých prostorů se používají České technické normy – „Zařízení pro čisté prostory“ ČSN EN ISO 14644-1, ČSN EN ISO 14644-5, ČSN EN ISO 14644-6, ČSN EN ISO 14698-1, ČSN EN ISO 14698-2, ČSN EN ISO 14698-2 OPRAVA 1.

Další klinické obory začínající využívat izolátory s přetlakem vůči okolí jsou obory, které mají pacienty s nádorovými onemocněními po léčbě zářením nebo cytostatiky. V první řadě je nutné se zmínit o hemato-onkologických pacientech. V roce 1957 je v USA uveden do provozu izolátor pro klinické využití. Toto zařízení je spojeno se jménem Trexler (Trexler, 1957). Od září 1964 má National Cancer Institute (Bethesda) pro nemocné po chemoterapii izolátor typu „*Life Island*“ firmy Matthews. Jedná se o plastický izolátor z průsvitné fólie, do kterého je vzduch přiváděn přes HEPA filtry, které odstraňují více než 99,97 % částic s velikostí větší než 0,3 μm . Výměna vzduchu se uskutečňuje dle potřeby 2-16 krát za hodinu. Pro manipulaci ve vnitřním prostoru slouží speciální rukavice umístěné ve stěně. U nohou postele jsou zabudovány dvě trubice UV záření. Autoři uvádějí velmi přesně postup přesunu pacienta do tohoto izolátoru včetně přísného dezinfekčního režimu, který má zabránit přenosu infekčního agens a vzniku exogenní infekce. Průběžně je ve vnitřním prostoru prováděna kontrola bakteriální kontaminace ovzduší (spadová metoda) a povrchů (stěry z kritických míst). Kultivační postupy jsou zaměřeny na průkaz aerobních bakteriálních kmenů a mikroskopických vláknitých hub. Zařízení je prostorově poměrně malé. Ošetřování pacienta s sebou přináší některé problémy a u pacienta se projevují nežádoucí psychické stavy (Schwartz, 1967). V roce 1967 informuje James se spolupracovníky o jednotce, která má snížit možnost vzniku exogenní infekce

u pacientů po cytotoxické léčbě (James, 1967). Pro dva jednolůžkové pokoje je společné sociální zařízení. Do všech těchto prostorů je přiváděn upravený vzduch (20 výměn za hodinu, filtrační zařízení zadržuje částice větší než 0,5 μm , teplota vzduchu 20 °C a relativní vlhkost 50 %). Tyto jednotky jsou obklopeny „ochrannou“ chodbou, ze které probíhá komunikace s ošetřujícím personálem. Autoři sami uvádějí, že se jedná o kompromis mezi systémem „sterilního prostoru“ a jednolůžkovým izolátorem. Tříleté zkušenosti s „izolační patogenů prostou jednotkou“ publikuje v roce 1969 Schneider se spolupracovníky (Schneider, 1969). Jednotka je realizována ve Francii. Jedná se o komplex pěti jednolůžkových pokojů se zázemím pro práci sester i lékařů, sterilizací, kuchyní pro přípravu sterilní stravy a rozvodem upravené sterilní vody, která je upravována UV zářením. Úprava přiváděného vzduchu se uskutečňuje dvoustupňovou filtrací a ozařováním germicidními lampami.

Všechny výše uvedené izolační jednotky uskutečňují pouze přívod upraveného a odvod kontaminovaného vzduchu.

Bodey se spolupracovníky (Bodey, 1969) referuje v roce 1969 o stabilní izolační jednotce, která je vybavena horizontálním laminárním prouděním upraveného vzduchu. Jedna celá stěna (za hlavou pacienta) je tvořena HEPA filtry s účinností 99,97 % pro částice větší než 0,3 μm . Laminární proudění přiváděného vzduchu vyžaduje jednak dodržování určité rychlosti a minimálního množství předmětů v daném prostoru, aby nedošlo k turbulentnímu proudění. Pacient výměnu vzduchu kontaminovaného za upravený nesmí vnímat jako průvan. Také v tomto případě je uveden přesný harmonogram příjmu pacienta a režim pobytu v tomto zařízení.

V ČSSR byl zaveden do provozu improvizovaný reverzní izolační systém pro léčbu pacientů s hematologickým onemocněním v roce 1972 a systém s laminárním prouděním vzduchu „*Life Island Mark 12*“ firmy Matthews v roce 1974 (Bláha, 1986).

V další literatuře, která dokumentuje provoz izolátorů pro pacienty po chemoterapii, jsou uváděny poznatky a názory na dezinfekci povrchu těla i dezinfekci dutiny ústní a gastrointestinálního traktu. Neméně pozornosti je věnováno dezinfekčním postupům celého zařízení pro reverzní izolaci (Levitan, 1967; Preisler, 1970; Jameson, 1971).

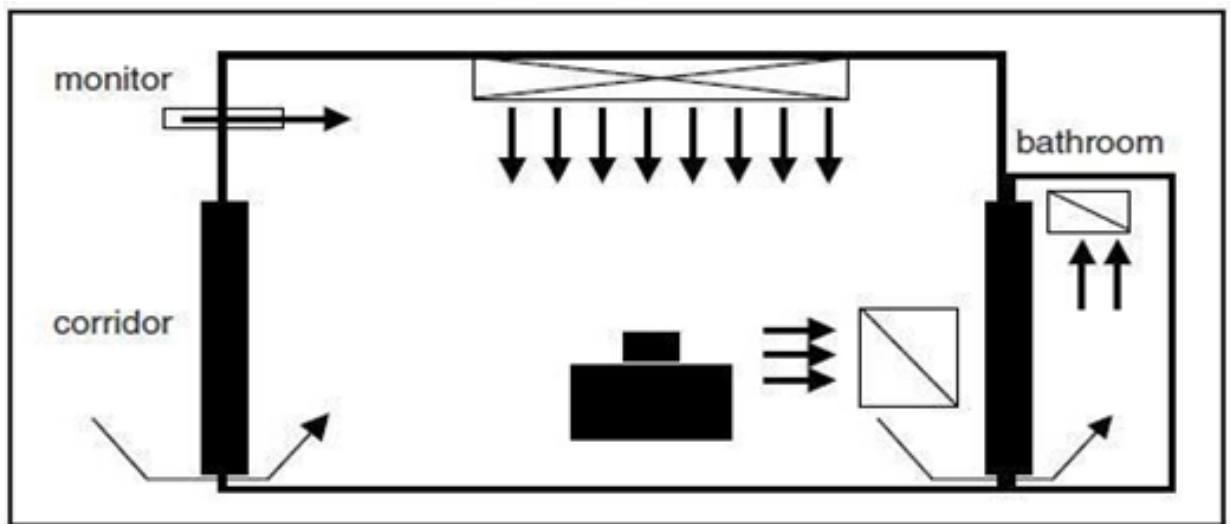
V současné době jsou tyto reverzní izolační jednotky stavebně realizovány ve většině fakultních nemocnic v České republice (např. FN Motol, FN Brno, FN Plzeň a FN Olomouc).

Obecné i specifické podmínky realizace a provozu izolátorů s podtlakem i přetlakem vůči okolí určené pro zdravotnická zařízení jsou uvedené níže.

1.2.1 Izolátor s podtlakem vůči okolí

Využívá se pro izolaci nemocných s nebezpečnými infekčními chorobami nebo při podezření na taková onemocnění. Přetlak okolního vzduchu nemá dovolit eventuálnímu úniku infekčního agens. Odvod kontaminovaného vzduchu je realizován třístupňovou filtrací, kdy poslední stupeň filtrace zajišťují HEPA nebo Ultra-low Penetration Air filtry (ULPA). Otázka čistých prostorů tohoto typu je velmi aktuální i v současné době. Pacienti s infekcí MRSA, SARS, plicní nebo laryngeální tuberkulózou a HIV pozitivní pacienti s vysoce rezistentními kmeny *Mycobacterium tuberculosis* jsou umísťováni do izolátoru s podtlakem vůči okolí (CDC – MMWR, 2003).

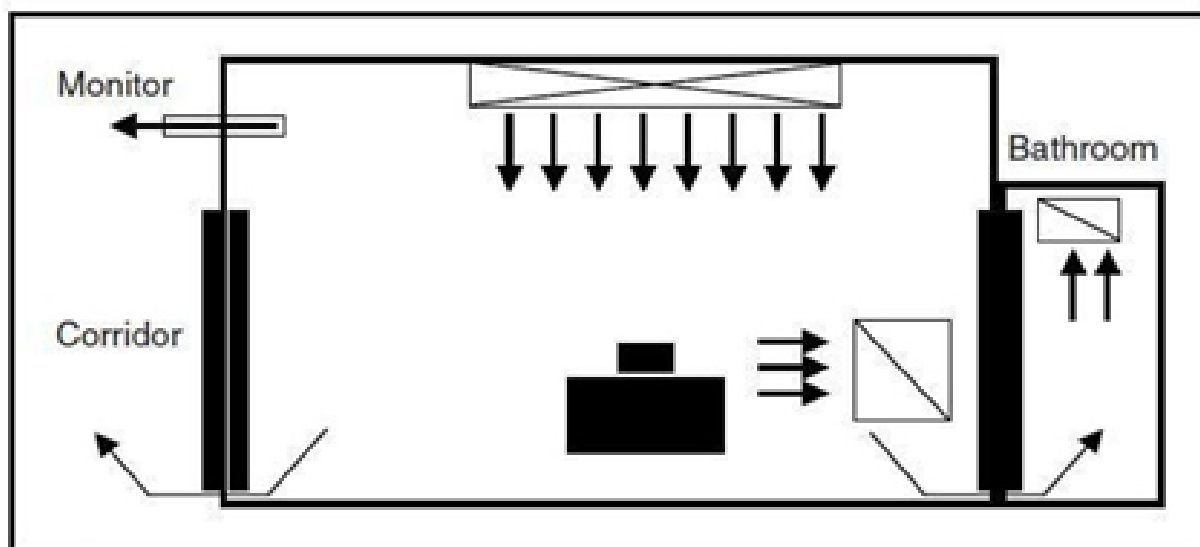
V USA existují doporučení zdravotnických i stavebně technických institucí, např. Centrer for Disease Control and Prevention (CDC) a ASHRAE, k realizaci čistých prostorů pro pacienty léčené na tuberkulózu. Na obrázku 1 je uveden izolátor s podtlakem vůči okolí (MMWR, 2003).



Obrázek 1: Izolátor s podtlakem vůči okolí. (Zdroj: MMWR 2003; 52)

1.2.2 Izolátor s přetlakem vůči okolí (izolační box)

Slouží k zajištění ochrany pacienta po nezbytně dlouhou dobu před možným infekčním agens z vnějšího prostředí a možnému vzniku exogenní nemocniční nákazy. Proto také někdy nese označení „reverzní izolace“ (obr. 2).



Obrázek 2: Izolátor s přetlakem vůči okolí, tzv. „reverzní izolace“.
(Zdroj: MMWR 2003; 52)

Tabulka 2: Základní technické parametry obou typů izolátorů. (Zdroj: Geshwiler, 2008)

Reference values for different types of cleanrooms		
	Protective environment room	Airborne infectious isolation room
Pressure relationships to adjacent areas	positive	negative
Minimum air changes of outdoor air per hour	2	2
Minimum total air changes per hour	12	12
All air exhausted directly to outdoors	-	yes
Air recirculated within room units	no	no
Design temperature °C	21,1 - 23,9	21,1 - 23,9

1.3 České technické normy – zařízení pro čisté prostory

Souběžně s rozvojem kosmické biologie si výzkumní pracovníci začínají uvědomovat nutnost písemně zpracovaných přesných postupů dezinfekce a sterilizace, aby nedošlo k zavlečení pozemských bakterií do kosmu a k ohrožení života na zemi možnou infekcí z kosmu. Z těchto důvodů v roce 1964 vzniklo usnesení přijaté mezinárodní organizací COSPAR (Committee on Space Research) o nutnosti a podmínkách sterilizace kosmických lodí před startem. Požadavky na sterilizaci byly velmi přísné. Pro projekt Apollo byl vybudován v Houstonu ve státě Texas komplex laboratoří, kde byly vytvořeny přísně kontrolované podmínky prostředí. Tato tzv. „měsíční laboratoř“ používala k dezinfekci UV záření a výpary kyseliny peroctové. Technologie použitá při budování této laboratoře vycházela z poznatků gnotobiologie. Vnitřní prostředí „*měsíční laboratoře*“ bylo v podtlaku k okolí, aby nedošlo k úniku kosmické infekce. Od dokumentů NASA z šedesátých let se pravděpodobně odvíjí další legislativa čistých prostorů téměř ve všech zemích (NASA, 1967).

Pro pracovníka bez technického vzdělání, který se zabývá problematikou čistých prostorů, je nutné, aby se seznámil se základními technickými informacemi a termíny, které jsou uvedené v českých technických normách „Zařízení pro čisté prostory“. Nejdůležitější z nich jsou uvedeny níže:

ČSN EN ISO 14644-1 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Část 1: Klasifikace čistoty vzduchu

Vydána v listopadu 2000 a nahrazuje předchozí normy ČSN 12 5310 (12 5310) z 1984-10-31. Jedná se o normu EN ISO 14644-1 Cleanrooms and associated controlled environments – Part 1: Classification of air cleanliness (ISO 14644-1:1999). Součástí této normy je tabulka tříd čistoty vzduchu (tabulka 3).

Tabulka 3: Selected airborne particulate cleanliness classes for cleanrooms and clean zones. (Zdroj: ČSN EN ISO 14644-1)

Selected airborne particulate cleanliness classes for cleanrooms and clean zones (ISO 14644-1:1999 E)						
	Maximum concentration limits (particles/m³ of air) for particles equal to and larger than the considered sizes shown below					
ISO classification number (N)	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO Class 1	10	2				
ISO Class 2	100	24	10	4		
ISO Class 3	1 000	237	102	35	8	
ISO Class 4	10 000	2 370	1 020	352	83	
ISO Class 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
ISO Class 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
ISO Class 7				352 000	83 200	2 930
ISO Class 8				3 520 000	832 000	29 300
ISO Class 9				35 200 000	8 320 000	293 000

ČSN EN ISO 14644-5 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Část 5: Provozování
Vydána v únoru 2005. Jedná se o normu EN ISO 14644-5 Cleanrooms and associated controlled environments – Part 5: Operations (ISO 14644-5:2004).

Norma je členěna do 4 částí a annexů A až F. V textu se pojednává jak správně provozovat čisté prostory, včetně operačních protokolů, nároků na oblečení, materiál, vybavení a úklid v čistých prostorech.

ČSN EN ISO 14644-6 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Část 6: Slovník
Vydána v únoru 2008. Jedná se o normu EN ISO 14644-6 Cleanrooms and associated controlled environments – Part 6: Vocabulary (ISO 14644-6:2007).

Tato norma je českou verzí EN ISO 14644-6:2007. Překlad byl zajištěn Českým normalizačním institutem. Má stejný status jako oficiální verze. Tato část ISO 14644 obsahuje slovník termínů a jejich definicí uvedených v ostatních částech ISO 14644. Obsahuje také termíny a jejich definice uvedené v ISO 14698-1 a ISO 14698-2.

Bariéra

- prostředek použitý pro separaci (oddělení prostorů)

Biologická kontaminace

- kontaminace materiálů, zařízení, osob, povrchů, kapalin, plynů nebo vzduchu životaschopnými částicemi

Biologicky čistý prostor

- čistý prostor používaný v případě produktů a procesů, které jsou citlivé na mikrobiologickou kontaminaci

Biologický aerosol

- disperzní biologické prostředky v plynném prostředí

Částice

- drobné části hmoty s definovanými fyzikálními hranicemi

Částice ve vznosu vzduchu

- pevný nebo kapalný objekt suspendovaný ve vzduchu, životaschopný nebo životaneschopný, o velikosti od 1 nm do 100 μm

Čistá zóna

- vyhrazený prostor, v němž je regulována koncentrace částic ve vznosu vzduchu, a který je konstruován a používán tak, aby se uvnitř tohoto prostoru minimalizovalo vnášení, tvorba a zachycování částic, a v němž jsou podle potřeby regulovány jiné významné parametry, např. teplota, vlhkost a tlak
- tato zóna může být otevřená nebo uzavřená a mohla by být, ale nemusí být umístěna uvnitř čistého prostoru

Čistota

- stav produktu, povrchu, přístroje, plynu, kapaliny atd. s definovanou úrovní kontaminace

Čistý prostor

- vyhrazený prostor, v němž je regulována koncentrace částic ve vznosu vzduchu, a který je konstruován a používán tak, aby se uvnitř tohoto prostoru minimalizovalo vnášení, tvorba a zachycování částic, a v němž jsou podle potřeby regulovány jiné významné parametry, např. teplota, vlhkost a tlak

Dekontaminace

- redukování nežádoucích látek na stanovenou úroveň

Dezinfekce

- odstraňování, ničení nebo zneškodňování mikroorganismů na předmětech nebo površích

Filtrační systém

- systém, který sestává z filtru, rámu a jiného podpůrného systému nebo jiného krytu

Instalace

- čistý prostor nebo jedna či více čistých zón, včetně všech souvisejících konstrukcí, systémů pro úpravu vzduchu, technických zařízení a vybavení

Izolace

- stav dosažený pomocí separačního zařízení s vysokým stupněm oddělení mezi operátorem a operací

Klasifikace

- úroveň (nebo proces stanovující nebo určující úroveň) čistoty částic ve vznosu vzduchu, která je použitelná v čistém prostoru nebo v čisté zóně, vyjádřená třídou N podle ISO, což představuje nejvyšší dovolené koncentrace (v částicích na metr krychlový vzduchu) z hlediska velikosti částic

Koncentrace částic

- počet individuálních částic na jednotku objemu vzduchu

Koncový filtr

- filtry umístěné ve finální pozici před vstupem vzduchu do čistého prostoru

Kontaminat (znečišťující látka)

- jakákoliv částicová, molekulární, nečásticová nebo biologická entita, která může nepříznivě ovlivnit produkt nebo proces

Kvalifikace

- proces prokazování, zda je entita – činnost nebo proces, produkt, organizace nebo jakákoliv jejich kombinace – schopna plnit specifikované požadavky

Monitorování

- pozorování prováděná na základě měření v souladu se stanovenou metodou a plánovaná s cílem poskytnout důkazy o provozu instalace

Nebezpečí

- biologický, chemický nebo fyzikální element nebo faktor, které negativně působí na osoby, prostředí, proces nebo produkt

Personál

- osoby, které z jakéhokoli důvodu vstupují do čistého prostoru

Řízené prostředí

- vymezená zóna, v níž jsou stanovenými prostředky řízeny zdroje kontaminace

Stejnoseměrné proudění vzduchu

- řízené proudění vzduchu celým průřezem čisté zóny se stálou rychlostí a přibližně paralelními proudy vzduchu

Stěr

- sterilní sběrné vybavení, netoxické a nezpomalující růst vzorkovaných mikroorganismů, které se skládá ze specifické matrice vhodné velikosti, namotané na aplikátor

Šatna

- místnost, v níž si lidé, kteří vstupují do čistého prostoru nebo z něj odcházejí, oblékají nebo vysvlékají oděv pro čistý prostor

V klidu

- stav, kdy je dokončena instalace, všechny technické služby jsou připojeny a jsou funkční, není však k dispozici výrobní zařízení, materiály nebo personál

Validace

- potvrzení prostřednictvím poskytnutí objektivních důkazů, že požadavky na specifické zamýšlené použití nebo na specifickou aplikaci byly splněny

Velikost částice

- průměr kulové plochy vyvolávající odezvu daného přístroje pro stanovení velikosti částic, která je ekvivalentní odezvě vyvolané měřenou částicí

Zabudovaný filtrační systém

- filtrační systém zabudovaný ve stropu, stěně, v přístroji nebo v odtahu

Zařízení pro čištění vzduchu

- samostatné zařízení pro úpravu a rozvod čistého vzduchu k dosažení definovaných podmínek prostředí

Zařízení pro oddělování částic podle jejich velikostí

- zařízení způsobilé odstranit částice menší než určené částice, které se připojuje ke vstupní části počítače diskrétních částic nebo počítače kondenzačních jader

Životaschopná částice

- částice, která sestává z jednoho nebo více živých mikroorganismů nebo která podporuje jejich růst

ČSN EN ISO 14698-1 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Regulace biologického znečištění – Část 1: Hlavní principy a metody

Vydána v dubnu 2004. Jedná se o normu EN ISO 14698-1 Cleanrooms and associated controlled environments – Biocontamination control – Part 1: General principles and methods (ISO 14698-1:2003).

ČSN EN ISO 14698-2 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Regulace biologického znečištění – Část 2: Vyhodnocení a výklad údajů o biologickém znečištění

Vydána v červnu 2004. Jedná se o normu EN ISO 14698-2 Cleanrooms and associated controlled environments – Biocontamination control – Part 2: Evaluation and interpretation of biocontamination data (ISO 14698-2:2003).

ČSN EN ISO 14698-2 OPRAVA 1 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Regulace biologického znečištění – Část 2: Vyhodnocení a výklad údajů o biologickém znečištění

Vydána v listopadu 2006. Jedná se o normu EN ISO 14698-2 Cleanrooms and associated controlled environments – Biocontamination control – Part 2: Evaluation and interpretation of biocontamination data (ISO 14698-2:2003/Cor.1:2004).

Na konci této subkapitoly je nutné se zmínit o americké normě **FED-STD-209E** September 11, 1992 - Federal Standard – Airborne Particulate Cleanliness Classes in Cleanrooms and Clean Zones. Vzduchotechnické zařízení budovy, kde je umístěna transplantační jednotka – oddělení 5C, Hemato-onkologické kliniky, FN Olomouc, bylo realizováno podle této normy. Norma platila do roku 2007, kdy byla následně zrušena a nahrazena normou ČSN EN ISO 14644.

Norma **FED-STD-209E** je členěna do 8 kapitol a apendixů A - G. Je zde upozorněno na skutečnost, že neexistuje přímý vztah mezi koncentrací prachových částic a koncentrací živých zárodků ve vzduchu. Dále jsou zde definovány pojmy a termíny. Poprvé je zde uvedeno označení tříd čistoty v soustavě SI. Přesně jsou rozpracovány jednotlivé metody měření, používané přístroje a jejich kalibrace (FED-STD-209E).

2 Charakteristika souboru

Transplantační jednotka – odd. 5C, HOK představuje čistý prostor (soubor) definovaný níže uvedenými parametry, ve kterém byl proveden roční monitoring mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu, povrchů, speciálně upravené vody, pitné vody a sledováno osídlení personálu bakteriálními, epidemiologicky významnými kmeny.

Tento čistý prostor je charakterizován:

- stavebně technickým vybavením,
- typem vzduchotechniky,
- výrobním zařízením a přístrojovým vybavením,
- způsobem dezinfekce prostorů nebo přístrojů a
- personálním obsazením.

Podkladem pro uvedené údaje jsou:

- stavební dokumentace,
- technická zpráva a
- návody výrobců k provozu příslušných zařízení.

Pokud nejsou všechny tyto informace uvedené nebo jsou uvedeny jen částečně, je to dáno jejich nedostupností.

Investiční odbor FN Olomouc poskytl výkresy stavební dokumentace zhotovené firmou STAVOPROJEKT s.p. OSTRAVA. Jedná se o půdorysy v měřítku 1:400 a z nich je proveden výřez sledovaného prostoru.

2.1 Transplantační jednotka – odd. 5C, HOK

Na přelomu 80. a 90. let minulého století Hemato-onkologická klinika začala intenzivně připravovat zahájení transplantací kostní dřeně a periferních kmenových buněk. V roce 1996 byla klinika rozšířena o nové pracovníky a rovněž se výrazně rozšířilo přístrojové vybavení. V nové budově kliniky byla vybudována reverzní izolace – čtyři pokoje – izolační boxy se sociálním příslušenstvím. V polovině roku 1997 byl zahájen transplantační program kliniky a provedeno prvních 21 transplantací periferních progenitorových hemopoetických buněk. V roce 2004 klinika zahájila program nepřibuzenských alogenních transplantací krvetvorných buněk. V současné době má transplantační jednotka – odd. 5C šest lůžek.

Tato jednotka se podílí spolu s ostatními složkami kliniky na zajištění léčebné péče o nemocné s vybranými nemocemi krve, kteří vyžadují v průběhu léčby reverzní izolaci.

Jednotka zajišťuje:

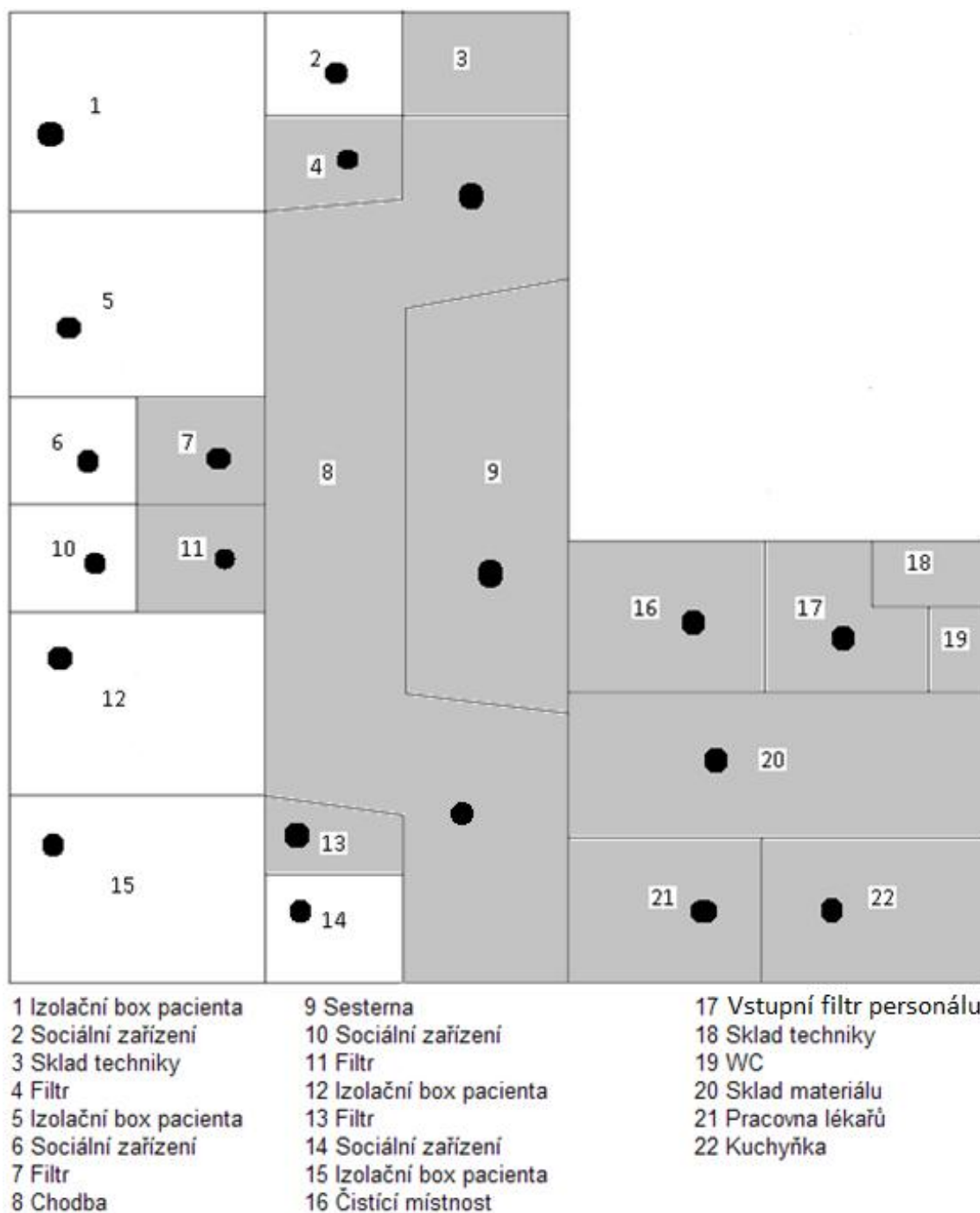
- autologní a alogenní transplantaci kostní dřeně a periferních kmenových buněk a zákroky s nimi souvisejícími,
- vysoce dávkovanou chemoterapii u rizikových pacientů a
- péči o nemocné s těžkou formou aplastické anémie.

Po určitou dobu po zákroku je bezpodmínečně nutné pro tyto pacienty zajistit prostředí bez infekčního agens. Transplantační jednotka – odd. 5C, HOK představuje čisté prostory určité třídy čistoty vzduchu podle FED-STD-209E (FED-STD-209E). Zajistit předepsané podmínky dané výše uvedenou normou je možné jen za předpokladu dokonalého technického zázemí a validované funkčnosti vzduchotechnického zařízení.

Během tohoto období, kdy byla prováděna studie, bylo na oddělení hospitalizováno celkem 96 pacientů, z toho bylo 63 pacientů transplantovaných. Ve 43 případech se jednalo o transplantaci autologní, ve zbývajících případech o transplantaci alogenní (20).

2.1.1 Technická vybavenost - izolační boxy

Transplantační jednotka – oddělení 5C, HOK (v technické dokumentaci značeno jako JIP) je umístěna ve 2. patře budovy, která vznikla rekonstrukcí a dostavbou stávající budovy. Okna izolační boxů pacientů jsou plastová, hermeticky utěsněná, orientovaná jihovýchodním směrem. Přepážky mezi jednotlivými pokoji pacientů jsou ze zdiva obloženého spárovanými keramickými obkladačkami. Podlaha je z plastu, rohy jsou zaoblené. Sociální zařízení má podlahu a stěny až do výše podhledů obloženy keramickými obkladačkami, které jsou opět spárované. Stavební uspořádání izolačních boxů pacientů vůči *sesterně* je polokruhové, oddělené prosklenými přepážkami s kovovými žaluziemi umístěnými ze strany chodby. Mezi *sesternou* a *pokoji pacientů* je *chodba*, která ji spojuje se zázemím tohoto oddělení. Schéma členění transplantační jednotky – odd. 5C, HOK je patrné z obrázku 3.



Obrázek 3: Schéma transplantační jednotky – odd. 5C, HOK

(šedou barvou označeno zázemí oddělení, černě vyznačena místa odběru vnitřního vzduchu aeroskopem).

Prvním předpokladem u tohoto typu zdravotnického zařízení je fungující vzduchotechnika, která zajišťuje centrálně regulovaný přísun upraveného vzduchu do těchto prostorů. Popis vzduchotechnického zařízení a jeho výkonů vychází z Technické zprávy (Technická zpráva IDOP, 1994), proto je ponecháno užití označení. Transplantační jednotka – oddělení 5C, HOK (4 izolační boxy pacientů a příslušející sociální zařízení) a vše ostatní včetně filtrů před jednotlivými izolačními boxy je označeno jako *zázemí*, které zahrnuje následující prostory: *filtr u každého z pokojů, čistící místnost, sklad materiálu, kuchyňku, pracovnu lékaře, chodbu a sesternu*.

Klimatizace transplantační jednotky je zajišťována klimatizační jednotkou firmy Nickel Praha v hygienickém provedení řady HYD HKBCA 0150 pracující pouze s čerstvým vzduchem. Jednotka zajišťuje úpravu vzduchu dvoustupňovou filtrací filtry třídy B a C (EU4 a EU7), ohřevem, chlazením a parním vlhčením. Třetí stupeň filtrace (filtr třídy V = EU12) je osazen filtračními laminárními stropy v podhledu místností JIP.

Čerstvý vzduch je nasáván ze severozápadní fasády strojovny vzduchotechniky přes protidešťovou žaluzii. Po úpravě filtrací, ohřevem (chlazením) a parním zvlhčováním je vzduch potrubím přiváděn prostřednictvím filtračních laminárních stropů ROX LC 24/12 nad lůžko pacienta. Odsávání z pokojů je uskutečňováno 4 kusy odsávacích výustek TROX DQ s regulací. Odpadní teplo z odsávaného vzduchu (v létě chlad) je využíváno v deskovém rekuperačním výměníku pro předeřev (předchlazení) přiváděného vzduchu s účinností cca 55 %.

Odsávání sociálních zařízení izolačních boxů se uskutečňuje radiálním odsávacím ventilátorem. Na sání ventilátoru je napojeno kruhové potrubí, které je ukončeno v podhledu sociálního zařízení koncovými odsávacími ventily TROX LVS.

Úpravu vlhkosti vzduchu zajišťuje elektrický vyvíječ páry CONDAIR MATIC MC 560 napojený na pitnou vodu. Možnosti kondenzace vlhkosti vzduchu v potrubí je zabráněno speciální úpravou vnitřní stěny potrubí. Pro odvod kondenzátu z rekuperačního, chladicího a zvlhčovacího dílu slouží sifon vedený do kanálové výpusti.

Vzduchový výkon v klimatizovaném prostoru byl stanoven na základě letní tepelné zátěže, tepelných zisků od technologie a požadavků na prostředí ve smyslu Typizační směrnice pro projektování zdravotnických staveb – nemocnice s poliklinikou I. a II. typu. Dílčí směrnice, část IV. - VZDUCHOTECHNICKÁ ZAŘÍZENÍ (Typizační směrnice pro projektování zdravotnických staveb, 1986).

Izolační boxy odpovídají třídou čistoty superseptickému operačnímu sálu, FED-STD-209E (USA) - 10 000.

Požadavky na mikroklima izolačních boxů pacientů jsou dány těmito hodnotami: $t_{iz} = 24^{\circ}\text{C}$, $t_{il} = 21^{\circ}\text{C}$, relativní vlhkost mezi 50 - 65 %. Výměna vzduchu 30x za hodinu, přetlak vůči okolním prostorám. Kubatura 34 m^3 /izolační box.

Na sociálním zařízení jednotlivých izolačních boxů je umístěna odsávací výústka, výměna vzduchu je zajištěna odvodem $150 \text{ m}^3/\text{h}$ a je zajištěn podtlak vůči izolačnímu boxu a příslušnému filtru.

Klimatizační zařízení zázemí transplantační jednotky pracuje pouze s čerstvým vzduchem. Přiváděný vzduch je upravován podle potřeb provozu ohřevem (chlazením), vlhčením a dvoustupňovou filtrací filtry třídy B a C (EU4 a EU7). Třetí stupeň filtrace (EU12) je instalován v koncových distribučních elementech - čistých nástavcích F 650. Pro stanovení vzduchového výkonu se vycházelo ze stejných předpokladů jako u izolačních boxů. Místnosti zázemí transplantační jednotky jsou považovány za čisté prostory s třídou čistoty FED-STD-209E (USA) - 100 000.

Tabulka 4: Klimatizace zázemí transplantační jednotky – odd. 5C, HOK. (Zdroj: Vacek, 1995)

Místnost	Kubatura m ³	Počet výměn vzduchu / h	Přívod m ³ /h	Odvod m ³ /h	Tlakové poměry vůči okolí
Filtr u izolačních boxů pacientů	není uvedena	-	100	-	podtlak vůči JIP přetlak vůči chodbě
Čistící místnost	20	5	-	100	podtlak vůči chodbě přetlak vůči skladu materiálu
Sklad materiálu	42	5	200	200	podtlak vůči chodbě
Kuchyňka	28	6	150	200	podtlak vůči skladu materiálu
Lékař	25	4	100	50	rovnostlak vůči chodbě
Chodba	107	4	400	350	rovnostlak vůči lékaři, sesterně přetlak vůči skladu materiálu podtlak vůči filtrům na JIP
Sestry	50	6	350	300	rovnostlak vůči chodbě, lékaři přetlak vůči skladu materiálu

Požadavky na mikroklima místností zázemí JIP jsou dány těmito hodnotami:
 $t_{iz} = 22^{\circ}\text{C}$, $t_{il} = 26^{\circ}\text{C}$

V tabulce 4 jsou sumarizovány následující parametry: místnost, její kubatura, počet výměn vzduchu za hodinu, množství upraveného vzduchu přivedeného a odvedeného za hodinu a tlakové poměry místnosti vůči okolí (Technická zpráva IDOP, 1994).

Na chodbách budovy je dvoustupňová filtrace přiváděného vzduchu filtry EU4 a EU7. Zaregulování vzduchotechnických jednotek bylo provedeno v prosinci 1995 (Technická zpráva - Úprava vody pro JIP, 1994).

Vzhledem k tlakovým poměrům mezi jednotlivými místnostmi je nutné dodržovat systém dvou dveří, tj. jen jedny dveře mohou být do místnosti otevřeny.

Validace vzduchotechniky byla v tomto sledovaném období provedena 20. – 21. 12. 2011.

2.1.2 Technologie přípravy speciálně upravené vody

Druhým rizikovým vnějším faktorem, který se může podílet na počtu úspěšně provedených transplantací kostní dřeně, je dostatečné množství speciálně upravené vody, kterou pacienti používají k osobní hygieně. Pitná voda z vodovodního řadu FN Olomouc splňující hygienické požadavky podle Vyhlášky č. 252/2004 Sb. je pro pacienty transplantační jednotky – odd. 5C, HOK nevhodná. Speciální technologii se připravuje z pitné vody vodovodního řadu voda speciálně upravená.

Zařízení linky úpravy vody pro transplantační jednotku – odd. 5C, HOK je realizováno firmou Aqua Osmotic Tišnov (Aqua Osmotic Systems, CZE). Uvedený systém je umístěn v samostatné místnosti, o půdorysném rozměru 2,2 x 2,4 m a světlosti výšky 4,0 m, která je na stejném podlaží budovy jako transplantační jednotka reverzní izolace. Přirozené větrání místnosti se uskutečňuje dvoudílným plastovým oknem. Podlaha je kryta keramickými obkladačkami, výpusť v podlaze navazuje přes sifon na odpadovou šachtu a slouží pro odvod odpadní vody ze zařízení.

Speciálně upravená voda se připravuje zařízením Aqua Osmotic 100K s UV lampou. Přístroj je určen pro přípravu vysoce kvalitní demineralizované vody. Reverzně osmotickým procesem je voda zbavována rozpuštěných minerálních látek o 96 % a organických látek o 98 % vůči vstupní vodě.

Voda z vodovodního řadu proudí přes omyvatelný předfiltr a následně vtéká na změkčovací filtr. Změkčovaná voda vtéká do filtrů s velikostí pórů 1 μm , kde dochází k odstranění mechanických nečistot. Takto připravená voda vtéká do čerpadla, které zvyšuje tlak vody na hodnotu potřebnou pro funkci reverzní osmózy. V reverzně osmotickém modulu dochází k odsolení vody. Takto připravená voda je vystavena působení UV zářiče a následně vtéká přes mikrobiální filtr s velikostí pórů 0,22 μm do zásobníku. Převravní čerpadlo následně zajišťuje rozvod vody. Za převravním čerpadlem jsou umístěny 2 mikrobiální filtry s velikostí pórů 0,22 μm . Jeden je určen pro rozvod studené vody, druhý je umístěn na větvi vedoucí vodu k bojlerům. V bojlerech je voda přehřívána na teplotu vyšší než 64 °C (prevence přítomnosti legionel). Na sociálním zařízení jednotlivých izolačních boxů je na konci sprchové hadice a na konci vodovodního raménka umístěn koncový filtr (Ionpure – Siemens, USA), který má filtrační membránu s velikostí pórů 0,22 μm (prevence průniku legionel).

2.1.3 Průběžná a konečná dezinfekce prostorů transplantační jednotky – odd. 5C, HOK

Vnitřní zařízení potřebná pro provoz místností jsou řešena tak, aby bylo možné provádět úklidový a dezinfekční režim nezbytný pro dodržení parametrů čistých prostorů podle FED-STD-209E (USA) třídy 10 000 a 100 000.

Podlaha, stěny a veškeré povrchy (nábytek včetně židle a křesla) jsou omyvatelné a lze je dekontaminovat dezinfekčními přípravky. Součástí lůžka pacienta je nedělená molitanová matrace, uložená v omyvatelné koženě.

Sociální zařízení, kde je umístěno umyvadlo, sprchový kout a klozet, má vypracovaný speciální režim, který se týká pravidelné dezinfekce odpadů umyvadla, sprchového koutu a vody v toaletě. Postup je uveden v části o úklidu. Na splachování toalety se používá pitná voda z vodovodního řádu bez úpravy.

Pro osobní hygienu pacientů je určeno tekuté mýdlo v automatickém dávkovači a dezinfekční přípravek na ruce se stejným způsobem aplikace. K osušení slouží sterilní bavlněné ručníky. Zubní kartáček pacient odkládá do sklenice s 1 % roztokem peroxidu vodíku.

Pacient dostane při příjmu sterilní pyžamo, které se mění dle potřeby, minimálně však jedenkrát denně při ranním převlékání lůžkovin. Veškeré pomůcky potřebné pro ošetřování a vyšetřování jsou sterilní, jednorázové, individualizované a jsou umístěny ve filtru před pokojem pacienta.

Úklidový režim a režim nakládání s odpadem jsou součástí provozního řádu transplantační jednotky s reverzní izolací. Prováděnou dezinfekci (úklid) je možné rozdělit do tří skupin:

2.1.3.1 Průběžná dezinfekce (běžný denní úklid) izolačního boxu

Provádí se dvakrát denně (ráno v plném rozsahu, odpoledne bez dezinfekce nábytku a předmětů v pokoji a bez převlečení lůžkovin). Po přípravě úklidové soupravy a čerstvých roztoků dezinfekčních přípravků si uklízečka před vstupem do pokoje pacienta omyje ruce tekutým mýdlem a dezinfikuje přípravkem na bázi propylalkoholu. Po zaschnutí si nasadí jednorázové nesterilní rukavice. Před vlastním zahájením úklidu v pokoji se nemocný přesune do koupelny a provede ranní hygienu. Úklid začíná svlečením použitých lůžkovin a odstraněním jednorázových sáčků s odpadem do filtru pokoje pacienta. Následuje omytí svislých stěn do výšky 1,5 m a poté omytí podlahy. Přechody stěn v podlahu a všechny kouty se myjí dvakrát. Mytí je dvoufázové, nejdříve

saponátem a potom dezinfekčním přípravkem. Po výměně úklidové vody, úklidového hadru a jednorázových rukavic se myje a dezinfikuje veškerý nábytek a větší předměty v pokoji pacienta. Všechny malé předměty se dezinfikují trojnásobným otřením sterilním úklidovým hadrem s dezinfekčním přípravkem. Pro drobné malé předměty se používá dezinfekční přípravek ve spreji. Ve sterilních rukavicích se povleče postel sterilními lůžkovinami. Nemocný se vrátí do pokoje z koupelny, kde se pokračuje s úklidem. Z koupelny do filtru pokoje pacienta se odstraní nádoby na sběr moče a odpadu. Po ukončení úklidu jsou tyto nádoby nahrazeny novými sterilními. Úklid koupelny se provádí stejným způsobem jako pokoj pacienta. Zvýšená pozornost se věnuje odpadovým nádobám, sanitární keramice a odpadům umývadla a sprchy. Do těchto míst se aplikuje minimálně 1 litr roztoku dezinfekčního přípravku. Do zásobní nádržky vody pro splachování WC se třikrát denně používá stejný dezinfekční přípravek jako pro dezinfekci odpadů. Dezinfekční přípravky se střídají v týdenních intervalech dle písemně zpracovaného protokolu.

Dezinfekční přípravky se střídají po měsíci:

- Dezinfekce nástrojů:
 - CHIROSEPTOL (2 %) a STABIMED
- Povrchy, nádoby, pomůcky:
 - INCIDIN PLUS (2 %) a DESAM OX (1 %)
- Dezinfekce malé plochy (noční stolky, lehátka):
 - KOHRSOLIN FF (1 %) a MICROBAC FORTE (2 %)
- Rychlá dezinfekce (postřik se nestřídá):
 - BACILLOL AF (konc.)
- Dezinfekce ohnisková:
 - PERSTERIL (0,5 %)

2.1.3.2 Konečná dezinfekce (konečný úklid) izolačního boxu

Provádí se po každém propuštění pacienta. Provede se trojnásobný běžný úklid v průběhu jednoho dne. Po každém úklidu se v pokoji jemně rozstříkuje 0,5 % roztok Persterilu. Kontrola mikrobiální kontaminace povrchů musí být kultivačně negativní. Sterilní lůžkoviny se připravují až těsně před příchodem nového nemocného.

2.1.3.3 Průběžná dezinfekce (úklid) ostatních prostorů transplantační jednotky

Provádí se dvakrát denně dvouetapovým způsobem. Omyjí se všechny horizontální povrchy s důrazem na pracovní plochy a nově připravenými roztoky se myje podlaha, přičemž se postupuje z místa nejmenší kontaminace do míst s větší kontaminací. Všechny vertikální dezinfikovatelné plochy se dezinfikují 1 krát týdně. Zvýšená pozornost se věnuje odpadním nádobám a sanitární keramice. Vše se myje dvakrát a dezinfekce výpustí je shodná se způsobem používaným na sociálním zařízení pacienta. Biologický materiál, který se vylévá do jímek, je předem dezinfikován. Výlevka je ještě dezinfikována následně po vylití biologického materiálu. Žaluzie se myjí a dezinfikují jedenkrát měsíčně, stropní podhledy jednou za čtvrt roku.

Výše uvedené průběžné i konečné dezinfekční postupy jsou zpracovány v provozním řádu tohoto oddělení.

2.1.4 Distribuce stravy

Jídelníček sestavují nutriční terapeutky s vyloučením rizikových potravin. Oběd se vydává v kuchyni provozu stravování.

Způsob přípravy a distribuce sterilní stravy nebo stravy upravené tak, aby nebyla zdrojem infekčního agens, je součástí provozního řádu tohoto oddělení. Pro distribuci stravy se používá tabletový systém, který se dováží v uzavřeném boxu z centrální kuchyně. Strava pro alogenně transplantované pacienty je ošetřena termodezinfekcí při 100 °C po dobu působení 20 minut. Nádobí je po termodezinfekci vloženo do tabletů označených červeným pruhem, jejichž vnitřní povrch je desinfikován alkoholovými ubrousky určenými pro rychlou dezinfekci a následně je tablet uzavřen. Tablety jsou uloženy do transportní skříně.

Potraviny v originálním balení se dezinfikují dezinfekčními ubrousky a položí se na předem připravený instrumentační vozík na termodezinfikované nádobí. Pečivo je zabaleno do alobalu a vloženo do přístroje určeného k termodezinfekci. Vlastní termodezinfekce začíná po ohřátí na 135 °C po dobu 10 minut. Po ukončení termodezinfekčního cyklu a poklesu teploty na 60 °C je pečivo vyjmuta z přístroje a přemístěno na instrumentační vozík na připravené termodezinfikované nádobí. Nápoje (čaj, káva, kakao, mléko) se připravují v nerezovém hrnci a podávají se aseptickým způsobem v termodezinfikovaných nerezových konvicích. Na oddělení jsou k tomuto účelu umístěny dva termodezinfikátory - HS 402 A (Chirana, CZE) a STERIMAT 334.3 (BMT Brno, CZE).

2.1.5 Personál

Personál (zdravotnický i technický) jednotky reverzní izolace podléhá přísnému hygienicko-epidemiologickému režimu, který je součástí provozního řádu této jednotky. Po vstupu do filtru personál odloží obuv i osobní ochranné pracovní pomůcky (kalhoty, košili a plášť), ve kterém se pohybuje mimo tuto jednotku. Barevným označením na podlaze je prostor personálního filtru rozdělen na část *špinavou* a *čistou*. V části špinavé je umístěno umyvadlo, kde si vstupující umyje ruce tekutým mýdlem s dezinfekčním účinkem. Po osušení si aplikuje z automatického dávkovače dezinfekční přípravek na ruce, který si vtírá až do zaschnutí. Poté si obleče sterilní dvoudílný oděv (kalhoty a košili z bavlny) určený jen pro transplantační jednotku s reverzní izolací.

Součástí jsou sterilní plastové boty a sterilní ústenka. Před vstupem do pokoje pacienta se ruce znovu dezinfikují dezinfekčním přípravkem na bázi propylalkoholu, personál si oblékne sterilní bavlněný operační plášť, který musí krýt co nejvíce pokožky a nakonec přes zavázané rukávy pláště si přetáhne zápěstní ukončení jednorázových sterilních (nesterilních) gumových rukavic.

2.1.6 Návštěvy pacientů – pokyny pro vstup na transplantační jednotku

Vstup do izolačních boxů:

- Ve filtru
 - po sejmutí oblečení ve filtru omýt ruce tekutým mýdlem,
 - osušit ruce jednorázovým ručníkem a vydezinfikovat dezinfekčním roztokem po dobu 30 sekund,
 - před červenou dělicí čarou ponechat příchozí obuv a za červenou dělicí čarou si nasadit obuv transplantační jednotky a
 - dále si obléci operační halenu a kalhoty, nezapomenout si vzít ústenku.
- V předsínce
 - před boxem si správně nasadit ústenku (musí být zakrytý nos i ústa),
 - znovu si vydezinfikovat ruce alkoholovým dezinfekčním roztokem po dobu 30 sekund a
 - obléci si operační plášť.

3 Metodika

Jednotlivé postupy pro kontrolu mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu, povrchů, předmětů a pitné vody byly převzaty z platných normem. V některých případech (např. způsob kontroly mikrobiální kontaminace vnitřních povrchů výpustí odpadů, stěry koncových výústek vzduchotechniky) byly vypracovány postupy dle aktuální potřeby.

Stěry a výtěry k průkazu osídlení personálu epidemiologicky významnými bakteriálními kmeny byly provedeny v souladu s literárními údaji (Isenberg, 1998).

Pro kulturační průkaz mikroorganismů byla použita mikrobiologická kulturační média firmy Trios spol. s r.o., (CZE)

- Sabouraud bujon (5 ml)
- Thioglykolátový bujon (5 ml)
- Columbia krevní agar
- Sabouraud agar s CMP

Zkouška růstových vlastností kulturačních médií byla provedena dle ČsL 2009 referenčními kmeny: *Staphylococcus aureus* CCM 2022, *Escherichia coli* CCM 4517 a *Candida albicans* CCM 8226. Jako negativní kontrola příslušného kulturačního média byla použita stejná půda, která však nebyla inokulována materiálem a její inkubace probíhala za identických podmínek jako v případě vyšetřovaného vzorku.

Stěry a výtěry v době trvání studie byly prováděny výhradně syntetickými výtěrovkami CLASSIQSwabsTM (COPAN, ITA).

Kultivací prokázané bakteriální kmeny byly biochemicky identifikovány sety BD PhoenixTM PID Panel na Phoenix Automated Microbiology System Instrument (USA) na Ústavu mikrobiologie LF UP v Olomouci.

Stanovení citlivosti na antibiotika u vybraných bakteriálních kmenů bylo provedeno mikrometodou stanovením minimálních inhibičních koncentrací (MIC) v mikrotitrační destičce. Byly použity sestavy antibiotik firmy Trios spol. s r.o. (CZE).

Odběry vzorků upravené vody a pitné vody z vodovodního řadu areálu FN Olomouc pro kultivační průkaz legionel byly provedeny vedoucím pracovníkem NRL pro legionely ZÚ Ostrava RNDr. V. Drašarem. Identifikace *Legionella pneumophila* byla provedena sekvenací DNA - Sequence-Based Typing na pracovišti ZÚ Ostrava.

Fenotypická identifikace mikroskopických vláknitých hub byla provedena ve spolupráci s doc. MUDr. P. Hamalem, Ph.D. z Ústavu mikrobiologie LF UP v Olomouci a RNDr. A. Kubátovou, CSc. ze Sbírký kultur hub Katedry botaniky, Přírodovědecké fakulty, UK v Praze.

3.1 Stanovení mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu čistých prostorů (aktivní vzorkování vzduchu aeroskopem)

Po dobu trvání epidemiologické studie bylo na transplantační jednotce – odd. 5C, HOK prováděno měsíční monitorování mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu. Bylo vytipováno 20 odběrových míst – vyznačeno na obrázku 3 (izolační box pacienta, příslušející sociální zařízení, personální filtr před izolačním boxem, 2 místa v prostoru mezi sesternou a jednotlivými izolačními boxy - chodba, sesterna, pracovna lékaře, sklad materiálu, čistící místnost, kuchyňka a vstupní filtr). Na izolačním boxu pacienta byl aeroskop umístěn na jídelní stůl, na sociálním zařízení a personálním filtru byl postaven na podlahu. Na ostatních odběrových místech byl umístěn na pomocném vozíku ve výšce cca 110 cm. Jednalo se o aktivní nasávání 100 litrů vnitřního vzduchu po dobu 60 vteřin pomocí aeroskopu MAS-100 (Merck, GER). Odběry vnitřního vzduchu se vždy uskutečnily v době mezi 8. - 10. hodinou dopolední „za provozu“ transplantační jednotky. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů byl zvolen Columbia krevní agar (KA), pro záchyt mikroskopických vláknitých hub a kvasinek byl použit Sabouraudův agar s chloramfenikolem (50 mg/l) (Trios spol. s r.o., CZE). Celkem bylo provedeno 720 odběrů vnitřního vzduchu. Na místě samém byla měřena teplota a relativní vlhkost vnitřního vzduchu přístrojem Testo 625 (Testo AG, GER). V průběhu roční studie byla prováděna v březnu 2011 v přízemí budovy stavební rekonstrukce.

Inkubace probíhala při 37 °C po dobu 48 hodin, kdy bylo provedeno vyhodnocení kultivací prokázaných kolonií na Columbia krevním agaru a konečné vyhodnocení nárůstu kolonií na Sabouraudově agaru s chloramfenikolem bylo 5. den.

Počty kultivací prokázaných kolonií byly přepočítány dle nomogramu a uvedeny jako CFU/m³ vnitřního vzduchu (CFU = colony forming unit). Kvantitativní vyšetření bylo doplněno také kvalitativním.

Tabulka 5: Nomogram, umožňující provádění výpočtů pomocí jednoduchých geometrických konstrukcí a čtením přímo v této tabulce.

r = Number of colony forming units counted on 90 mm Petridish

Pr = Probable statistical total

r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr	r	Pr
1	1	51	54	101	116	151	189	201	279	251	394	301	557	351	836
2	2	52	56	102	118	152	191	202	281	252	397	302	561	352	844
3	3	53	57	103	119	153	193	203	283	253	400	303	565	353	853
4	4	54	58	104	120	154	194	204	285	254	402	304	569	354	861
5	5	55	59	105	122	155	196	205	287	255	405	305	573	355	870
6	6	56	60	106	123	156	197	206	289	256	408	306	578	356	879
7	7	57	61	107	124	157	199	207	291	257	411	307	582	357	888
8	8	58	63	108	126	158	201	208	293	258	413	308	586	358	897
9	9	59	64	109	127	159	202	209	295	259	416	309	591	359	907
10	10	60	65	110	128	160	204	210	297	260	419	310	595	360	917
11	11	61	66	111	130	161	206	211	299	261	422	311	599	361	927
12	12	62	67	112	131	162	207	212	301	262	425	312	604	362	937
13	13	63	68	113	133	163	209	213	304	263	428	313	608	363	947
14	14	64	70	114	134	164	211	214	306	264	431	314	613	364	958
15	15	65	71	115	135	165	212	215	308	265	433	315	618	365	969
16	16	66	72	116	137	166	214	216	310	266	436	316	622	366	981
17	17	67	73	117	138	167	216	217	312	267	439	317	627	367	992
18	18	68	74	118	140	168	218	218	314	268	442	318	632	368	1005
19	19	69	76	119	141	169	219	219	317	269	445	319	637	369	1017
20	20	70	77	120	142	170	221	220	319	270	449	320	642	370	1030
21	22	71	78	121	144	171	223	221	321	271	452	321	647	371	1043
22	23	72	79	122	145	172	224	222	323	272	455	322	652	372	1057
23	24	73	80	123	147	173	226	223	325	273	458	323	657	373	1071
24	25	74	82	124	148	174	228	224	328	274	461	324	662	374	1086
25	26	75	83	125	150	175	230	225	330	275	464	325	667	375	1102
26	27	76	84	126	151	176	232	226	332	276	467	326	673	376	1118
27	28	77	85	127	153	177	233	227	335	277	471	327	678	377	1134
28	29	78	87	128	154	178	235	228	337	278	474	328	684	378	1152
29	30	79	88	129	156	179	237	229	339	279	477	329	689	379	1170
30	31	80	89	130	157	180	239	230	342	280	480	330	695	380	1189
31	32	81	90	131	158	181	241	231	344	281	484	331	701	381	1209
32	33	82	92	132	160	182	242	232	346	282	487	332	706	382	1230
33	34	83	93	133	161	183	244	233	349	283	491	333	712	383	1252
34	35	84	94	134	163	184	246	234	351	284	494	334	718	384	1276
35	37	85	95	135	164	185	248	235	353	285	497	335	724	385	1301
36	38	86	97	136	166	186	250	236	356	286	501	336	730	386	1327
37	39	87	98	137	167	187	252	237	358	287	504	337	737	387	1356
38	40	88	99	138	169	188	254	238	361	288	508	338	743	388	1387
39	41	89	101	139	171	189	255	239	363	289	511	339	749	389	1420
40	42	90	102	140	172	190	257	240	366	290	515	340	756	390	1456
41	43	91	103	141	174	191	259	241	368	291	519	341	763	391	1496
42	44	92	104	142	175	192	261	242	371	292	522	342	769	392	1541
43	45	93	106	143	177	193	263	243	373	293	526	343	776	393	1591
44	47	94	107	144	178	194	265	244	376	294	530	344	783	394	1648
45	48	95	108	145	180	195	267	245	378	295	534	345	791	395	1715
46	49	96	110	146	181	196	269	246	381	296	537	346	798	396	1795
47	50	97	111	147	183	197	271	247	384	297	541	347	805	397	1895
48	51	98	112	148	185	198	273	248	386	298	545	348	813	398	2028
49	52	99	114	149	186	199	275	249	389	299	549	349	820	399	2228
50	53	100	115	150	188	200	277	250	391	300	553	350	828	400	2628

3.2 Stanovení mikrobiální kontaminace výústek vzduchotechnického zařízení

Stěry výústek vzduchotechniky v jednotlivých místnostech transplantační jednotky byly vždy provedeny po vzorkování mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu. U obdélníkových výústek s listy byly odběry realizovány z ploch jednotlivých listů (3 – 4 ks). U vířivé výústky byly stírány jednotlivé listy včetně obvodu prvku. Stěr z odvodního talířového ventilu byl proveden v prostoru mezi pevnou a libovolně nastavitelnou částí, kterou se reguluje množství přiváděného (odváděného) vzduchu. Nad lůžkem pacienta jsou umístěny HEPA filtry jako stropní panely. Zde byl kontrolován obvod koncového prvku, v prostoru mezi rámem a tímto prvkem. Stěry byly provedeny sterilní syntetickou výtěrovkou, která byla těsně před použitím smočena ve sterilním fyziologickém roztoku. U každé jednotlivé výústky byly provedeny tři odběry. Jejich kultivace probíhala v Sabouraudově bujonu – TGPA (5 ml) – duplicitně a paralelně v thioglykolátovém bujonu – Thi (5 ml). Inkubace probíhala při 37 °C 5 dní (TGPA) a 2 dny (Thi), následovalo vyočkování na pevné půdy (Columbia krevní agar / Sabouraudův agar s chloramfenikolem) a jejich kultivace. Také v těchto případech pro hodnocení mikrobiální kontaminace byla použita kvalitativní metoda.

3.3 Stanovení mikrobiální kontaminace povrchů, výpustí umyvadel a dřezů a tekutého materiálu

Mikrobiální kontaminace povrchů byla sledována kvalitativní metodou. Stěry byly provedeny sterilní syntetickou výtěrovkou na plastové tyčince, která byla těsně před použitím smočena ve sterilním fyziologickém roztoku. Stěr byl proveden z plochy 100 x 100 mm nebo celého menšího předmětu ve dvou směrech na sebe kolmých. Stěry výpustí umyvadel a dřezů byly provedeny z vnitřní stěny výpustí, tak aby bylo možné mechanicky zachytit případně vzniklý mikrobiální biofilm. Výtěrovkou bylo postupně otáčeno kolem její vlastní osy, aby byla využita celá její plocha. Stejným způsobem byl odebírán vzorek ze záchodové mísy (v místě, kde sloupec vody brání šíření zápachu z odpadu). Bezprostředně poté byla výtěrovka zkrácena do 5 ml thioglykolátového bujONU – 5 ml (Trios, spol. s r.o., CZE) a zahájena primokultivace při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin. Poté byla tekutá půda vyočkována na pevné půdy Columbia krevní agar a Sabouraud agar s CMP (Trios spol. s r.o., CZE) a následovala jejich aerobní kultivace. Kultivací prokázané bakteriální kolonie byly biochemicky identifikovány

Mikrobiální kontaminace úklidové vody (aktuálně používaný dezinfekční přípravek naředěný v pitné vodě) byla sledována následujícím způsobem: sterilní jednorázovou stříkačkou byly odebrány 2 ml úklidové vody, které byly bezprostředně aplikovány do 5 ml thioglykolátového bujONU. Vzorky tekutého mýdla a dezinfekčního přípravku na ruce byly přímo z dávkovače aplikovány (2 dávky) do zkumavky se stejným tekutým kultivačním médiem jak uvedeno výše. Kultivací prokázané bakteriální kolonie byly biochemicky identifikovány sety BD PhoenixTM PID Panel na Phoenix Automated Microbiology System Instrument (USA). K odlišení koagulázanegativních stafylokoků (CoNS) a kmenů *Staphylococcus aureus* byl použit „Rapid latex test kit – Staphaurex®“ (Remel Europe Ltd., UK).

3.4 Stanovení mikrobiologických ukazatelů speciálně upravené vody a pitné vody vodovodního řadu

Stanovení mikrobiologických ukazatelů proběhlo během doby trvání studie dvakrát, a to 16. 3. 2011 a 1. 6. 2011.

3.4.1 Vzorkování vody

V březnu 2011 bylo provedeno v rámci surveillance legionel 8 odběrů speciálně upravené vody (4 x sprcha, 4 x vodovodní kohoutek) na sociálním zařízení jednotlivých izolačních boxů pacientů. Tato voda je upravena zařízením Aqua Osmotic 100 kompaktní (Aqua Osmotic Systems, CZE). Sprchy i vodovodní kohouty jsou opatřeny koncovými filtry (Siemens, GER). Na sociálním zařízení pokojů 1 a 3 byl proveden odběr vody z nádržky u záchodu (voda určená ke splachování). Jedná se o studenou pitnou vodu z vodovodního řadu nemocnice. Teploty vzorků pořízených v sociálním zařízení izolačních pokojů pacientů se pohybovaly v rozmezí od 11,2 °C do 13,6 °C. V červnu 2011 byly provedeny odběry (4 x sprcha, 4 x vodovodní kohoutek) stejným způsobem, odběr vody z nádržky WC byl proveden ve všech 4 sociálních zařízeních. Teploty vzorků vody pořízených v sociálním zařízení izolačních pokojů pacientů se pohybovaly v rozmezí od 10,8 °C do 13,1 °C. Odběr vody byl doplněn o 4 stěry, které byly provedeny sterilní syntetickou výtěrovkou CLASSIQSwabs™ (COPAN, ITA) z vnitřní stěny nádržky záchodu. Samostatný odběr vody byl proveden ve sprše personálního filtru, kde se používá teplá voda z vodovodního řadu nemocnice ošetřená chlordioxidem. Teplota tohoto vzorku dosahovala 14,4 °C. Odběr byl proveden přes sprchovou růžici. Všechny odběry vody byly provedeny do sterilních lahví o objemu 500 ml. Odběry vzorků speciálně upravené vody i odběr vody ze sprchy v personálním filtru byly provedeny v souladu s ČSN EN ISO 5667-1, ČSN EN ISO 5667-3, ČSN ISO 5667-14. Pro zjištění aktuálního stavu mikrobiální kontaminace speciálně upravené vody se prováděly výtěry z míst (pojistné kohouty), která by mohla vést k její mikrobiální kontaminaci a odběry vzorků této vody. Šetření byla prováděna v místnosti *úpravna vody* a na *sociálních zařízeních* jednotlivých pokojů pacientů transplantační jednotky s reverzní izolací. Výtěry v místnosti *úpravna vody* byly provedeny

z pojistných kulových kohoutů, které jsou vřazené v povrchovém rozvodu vody. Výtěry byly vždy provedeny před odběry vzorků speciálně upravené vody. Dekontaminace výústí vodovodních kohoutů a mechanický splach při předepsaném odpouštění vody před vlastním odběrem by totiž negativně ovlivnily kultivační výsledek výtěru. Ten byl proveden sterilní syntetickou výtěrovkou CLASSIQSwabs™ (COPAN, ITA), která byla těsně před použitím smočena ve sterilním fyziologickém roztoku.

3.4.2 Odběry vzorků speciálně upravené vody a jejich zpracování

Výpusť pojistných kulových kohoutů v povrchovém rozvodu purifikované vody (*úpravna vody*) a koncové filtrační jednotky IONPURE (na sprše a raménku vodovodního kohoutu) byly dekontaminovány dezinfekčním přípravkem Desprej® (Bochemie, CZE). Kohout byl následně otevřen na maximum a upravená voda se nechala volně vytékat po dobu 5 minut. Odběr vzorků speciálně upravené vody byl proveden do sterilní skleněné zábrusové lahve objemu 500 ml, neprodleně dopraven do laboratoře a zpracován. V případě, že se jednalo o samostatnou výpusť studené nebo teplé vody (kohouty v povrchovém rozvodu vody v místnosti *úpravna vody*), odebírala se tato speciálně upravená voda. Pokud se jednalo o směsnou vodovodní baterii, pak byla odebírána speciálně upravená voda o teplotě, kterou pacient používá pro svou hygienickou potřebu, tedy o teplotě cca 30 °C. Membránovou filtrací za použití filtrů SYNPOR průměru 55 mm a velikosti pórů 0,22 µm bylo zpracováno za sterilních podmínek 100 ml upravené vody. Kultivace membránového filtru byla provedena na Columbia krevním agaru (Trios spol. s r.o., CZE). Inkubace probíhala za aerobních podmínek při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin. Vyšetření bylo realizováno duplicitně. Kultivací prokázané bakteriální kolonie byly biochemicky identifikovány sety BD Phoenix™ PID Panel na Phoenix Automated Microbiology System Instrument (USA). K odlišení koagulázanegativních stafylokoků (CoNS) a kmenů *Staphylococcus aureus* byl použit „Rapid latex test kit – Staphaurex®“ (Remel Europe Ltd., USA). Průměrná hodnota počtu kolonií obou vyšetření byla vyjádřena jako CFU/100 ml vzorku. Jako pozitivní byl hodnocen každý vyšetřený vzorek, ve kterém bylo kultivací prokázáno 3 a více CFU/100 ml speciálně upravené vody.

Odběrová místa:

- pojistné kulové kohouty vřazené v povrchovém rozvodu upravené vody v místnosti úpravna vody
- filtrační jednotky IONPURE na kohoutu vodovodní baterie umývadla a sprchy sociálního zařízení jednotky reverzní izolace

3.4.3 Odběr vzorků speciálně upravené vody a pitné vody na kultivační průkaz legionel

Odběry vzorků upravené vody na kultivační průkaz legionel byly provedeny v březnu a červnu 2011. Rovněž byl proveden odběr pitné vody na průkaz legionel, která se používá pro splachování toalet v izolačních pokojích pacientů (studená voda ve vodovodním rozvodu FN Olomouc, která není ošetřena proti výskytu legionel). Samostatný odběr pitné vody byl proveden ve sprše personálního filtru, kde se používá teplá voda z vodovodního rozvodu FN Olomouc ošetřená chlordioxidem. Odběr byl proveden přes sprchovou růžici. Odběr vzorků speciálně upravené vody byl proveden do sterilní skleněné zábrusové lahve objemu 500 ml. Odběry vzorků speciálně upravené vody i odběr vody ze sprchy v personálním filtru byly provedeny v souladu s ČSN EN ISO 5667-1, ČSN EN ISO 5667-3, ČSN ISO 5667-14. Pro odběr vody ze splachovacího zásobníku WC v České republice není norma. Vzorky byly odebrány a neprodleně dopraveny do Národní referenční laboratoře pro legionely. Zde byly vyšetřeny v souladu s aktuálně platnou legislativou - ČSN ISO 11731 a ČSN ISO 11731-2. Výsledky byly vyjádřeny jako CFU/100 ml. Izoláty byly identifikovány pomocí sérotypizace (panel *L. pneumophila* sg 1-16). Molekulární typizace izolovaného kmene *L. pneumophila* byla provedena sekvenací DNA - Sequence-Based Typing (SBT) [EWGLI, www.ewgli.org].

3.5 Vyšetření promořenosti personálu epidemiologicky významnými bakteriálními kmeny

Stěry byly prováděny z obou nosních dírek dle doporučených zásad pro odběr výtěrů z nosu, z povrchu pravé ruky a povrchu vlasové kštice. Byla použita sterilní výtěrovka CLASSIQSwabsTM (COPAN, ITA), smočená ve sterilním fyziologickém roztoku a následně vložena do zkumavky s 5 ml thioglykolátového bujonu (Trios spol. s r.o., CZE). Inkubace probíhala po dobu 24 hodin při 37 °C, následovalo vyočkování na Columbia krevní agar (Trios spol. s r.o., CZE) a GPA, jehož inkubace probíhala za stejných podmínek jak uvedeno výše. Kultivací prokázané bakteriální kmeny ve formě kolonií byly biochemicky identifikovány pomocí setů BD PhoenixTM PID Panel na Phoenix Automated Microbiology System Instrument (USA).

3.6 Identifikace kultivací prokázaných mikroskopických vláknitých hub

Kultivací prokázané kolonie mikroskopických vláknitých hub byly předány na Ústav mikrobiologie LF UP v Olomouci, kde bylo provedeno jejich makro- a mikroskopické vyhodnocení. Jednotlivé kolonie mikroskopických vláknitých hub byly přeočkovány na Sabouraud agar s chloramfenikolem (Trios spol. s r.o., CZE) a zhotoveny mikrokultury. Předběžné rodové určení bylo provedeno dle morfologie na základě přímé mikroskopie. Preparáty byly prohlíženy světelným mikroskopem, suchým systémem při zvětšení 200x - 400x a byl hodnocen tvar vzdušného mycelia.

Další určení bylo provedeno ve Sbírce kultur hub (Katedra botaniky, PřF UK v Praze). Identifikace byla provedena pouze na základě fenotypových znaků, tj. mikro- a makromorfologických znaků. Kultivace probíhala na agarových médiích CYA (Czapkův agar s kvasničným extraktem) a MEA (2% malt-extrakt agar) při 25 °C ve tmě po dobu 10 dní (*Penicillium chrysogenum* Thom, syn. *P. notatum*) a 1 měsíc (pravděpodobně *Ascomycota*). Mikropreparáty byly pozorovány v kyselině mléčné obarvené bavlnovou modří při zvětšení 400x a 1000x.

4 Výsledky

4.1 Charakteristika bakteriálních kmenů izolovaných v rámci šetření

4.1.1 Grampozitivní koky

Společnou charakteristikou bakterií této skupiny jsou především morfologie buněk (koky) a grampozitivita. Největší význam pro lékařskou mikrobiologii mají od doby jejich popisu rody *Staphylococcus* a *Streptococcus*.

4.1.1.1 Koagulázanegativní stafylokoky (CoNS)

Koagulázanegativní stafylokoky tvoří hlavní část normální mikroflóry kůže a sliznic člověka, mohou se však uplatnit jako oportunní patogeny. *Staphylococcus epidermidis* však byl identifikován jako primární patogen (Gill, 2005; Skovgaard S, 2013). Klinický význam těchto kmenů spočívá v možnosti vyvolávat septikémie, endokarditidy, peritonitidy, infekce operačních ran a katérové sepse (významné u imunosuprimovaných pacientů) (Votava, 2003).

Během studie byly koagulázanegativní stafylokoky izolovány z ovzduší, povrchů a personálu.

4.1.1.2 *Staphylococcus aureus*

Jedná se o jediný důležitý druh koagulující plazmu v humánní patologii. Způsobuje velmi často různé infekce v rozsahu od mírných zánětů kůže a měkkých tkání až po život ohrožující sepse, syndrom toxického šoku a nekrotizující pneumonie. Přibližně u třetiny lidské populace je přirozeně přítomen na kůži a sliznicích (Votava, 2003). Velmi významnou vlastností jsou rezistence k antibiotikům.

Během studie byl *Staphylococcus aureus* izolován z ovzduší, povrchů a personálu.

4.1.1.3 *Streptococcus* spp.

Do rodu *Streptococcus* náleží fakultativně anaerobní grampozitivní koky. Patří sem druhy jak obligátně patogenní, tak příslušníci normální mikroflóry sliznic člověka. Klinický význam spočívá především ve schopnosti vyvolávat sepse, endokarditidy, příp. meningitidy (Votava, 2003).

Z rodu *Streptococcus* byly izolovány z povrchů tyto kmeny:

- *Streptococcus acidominimus*
- *Streptococcus anginosus*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus salivarius*
- *Streptococcus gordonii*

Z rodu *Streptococcus* byly izolovány od personálu tyto kmeny:

- *Streptococcus vestibularis*
- *Streptococcus parasanguinis*
- *Streptococcus salivarius*

4.1.1.4 *Enterococcus* spp.

Jedná se o grampozitivní oválné až lehce protáhlé koky. Enterokoky jsou součástí normální střevní flóry, zároveň se však mohou uplatňovat jako původci močových infekcí, sepsí a endokarditid. U člověka jsou přibližně v 90 % vyvolány *Enterococcus faecalis* a v 7 % *Enterococcus faecium* (Votava, 2003). Velmi výraznou hrozbou je výskyt vankomycin rezistentních enterokoků u hemato-onkologických pacientů (Vagnerova, 2006).

Během studie byly enterokoky izolovány z povrchů a personálu.

4.1.1.5 *Micrococcus* spp.

Jedná se o grampozitivní koky. Druhy rodu *Micrococcus* se vyskytují v různých prostředích, včetně vody, prachu a půdy. Nacházíme je také na lidské pokožce. Obvykle jsou nepatogenní, ale u osob se sníženou imunitou mohou vyvolávat bakteriémie, endokarditidy příp. mozkové abscesy (Votava, 2003).

Během studie byl *Micrococcus* spp. izolován z ovzduší, povrchů a personálu.

4.1.1.6 *Pediococcus pentosaceus*

Pediokoky jsou grampozitivní koky. Běžně bývají izolovány z rostlin. U imunosuprimovaných pacientů mohou vyvolávat septikémie (Kikuchi, 1994).

Během studie byl *Pediococcus pentosaceus* izolován v jednom případě z rukou personálu.

4.1.1.7 *Aerococcus spp.*

Zástupci tohoto rodu jsou řazeni ke grampozitivním kokům. Způsobují obvykle málo častá a nepříliš závažná onemocnění.

Během studie byl *Aerococcus viridans* izolován z povrchu nesterilních rukavic umístěných jedenkrát ve vstupním filtru na izolační box pacienta a z vnitřního povrchu lednice na izolačním boxu pacienta (různé izolační boxy).

4.1.1.8 *Leuconostoc lactis*

Jedná se o grampozitivní koky, které jsou přirozeně rezistentní k vankomycinu. U imunosuprimovaných pacientů mohou vyvolávat septikémie (Kikuchi, 1994), bakteriémie (Shin J, 2011), osteomyelitidy (Koçak, 2007), případně další infekční komplikace u transplantovaných pacientů (Deng, 2012).

Během studie byl tento bakteriální kmen izolován z povrchu klávesnice na sesterně.

4.1.1.9 *Globicatella sanguinis*

Jedná se o grampozitivní fakultativně anaerobní koky, dříve patřící k viridujícím streptokokům. Příležitostně působí infekce močového traktu, meningitidy, může být izolována z krve (Bednář, 1996; Matsunami, 2012; Héry-Arnaud, 2010).

Během studie byla *Globicatella sanguinis* izolována v jednom případě z výpusti umývadla na sociálním zařízení izolačního boxu pacienta.

4.1.1.10 *Gemella morbillorum*

Jedná se o anaerobní, grampozitivní koky. Vzácně jsou původci onemocnění u člověka. Bývají izolovány z oblasti orofaryngu. Zvláště u imunosuprimovaných jedinců mohou způsobovat závažné infekce, jako jsou endokarditidy, bakteriémie a abscesy (Milnik, 2013; Vossen, 2012).

Během studie byla *Gemella morbillorum* izolována v jednom případě z povrchu ovladače infúzní pumpy na izolačním boxu pacienta.

4.1.1.11 *Derma*coccus *nishinomiyaensis*

Původně označován jako *Micrococcus nishinomiyaensis*. Jsou aerobní, grampozitivní koky. Bývají izolovány z vody, stejně jako z povrchu pokožky (Szczerba, 2003; Pathom-Aree, 2006; Ruckmani, 2011). Nejedná se o primární patogen člověka.

Během studie byl *Derma*coccus *nishinomiyaensis* izolován z ovzduší transplantační jednotky - 5C, HOK (v zázemí i izolačních boxech pacientů).

4.1.2 Grampozitivní tyčky

4.1.2.1 *Bacillus* spp.

Zástupci toho rodu jsou aerobní sporulující grampozitivní tyčky. Jedná se o druhy běžně se vyskytující v přírodě, převážně v půdě. Společným znakem je tvorba endospor, díky kterým jsou odolné vůči teplu, radiaci a dezinfekčním přípravkům (Bednář, 1996).

Z rodu *Bacillus* byly izolovány tyto kmeny:

- *Bacillus subtilis* – nejčastěji
- *Bacillus coagulans*
- *Bacillus circulans*
- *Bacillus licheniformis*

Tito zástupci se mohou zvláště u pacientů s imunosupresí uplatňovat jako původci velmi závažných infekcí jako jsou bakteriémie a sepse (Alebouyeh, 2011; Banerjee, 1988; Jeon, 2012; Takeshita, 1980).

Zástupci tohoto rodu byli izolováni během studie z ovzduší, povrchů a klinického materiálu získaného od personálu.

4.1.2.2 *Listeria monocytogenes*

Jedná se o malou a krátkou grampozitivní tyčku. Kolonizuje trávicí trakt člověka i zvířat, žije také ve vodě, bahně nebo půdě. Zároveň se může uplatnit jako potenciální patogen zvířat i lidí. K infekci dochází nejčastěji perorálně infikovanými potravinami. K pomnožení v potravinách může dojít při primární kontaminaci syrových potravin, jako je nedostatečně pasterizované mléko, měkké sýry, paštika, drůbeží párky nebo zelenina. Spektrum onemocnění je od mírných příznaků, jako je nevolnost, zvracení, průjem nebo chřipce podobné symptomy až po meningitidy, encefalidity a septikémie (Bernard, 2012; Koopmanns, 2013; MMWR 2013).

Během studie byla *L. monocytogenes* izolována z obalu cottage sýru v lednici pacienta na izolačním boxu.

4.1.2.3 *Corynebacterium urealyticum*

Jedná se o grampozitivní tyčky. Mnohé korynebakterie žijí na rostlinách a v tělech živočichů, na kůži, v dýchací soustavě, v trávicím a urogenitálním traktu. *Corynebacterium urealyticum* se může uplatnit jako původce pyelonefritid, cystitid, sepsí a endokarditid (Votava, 2003). Velmi často je původcem močových infekcí (Domann, 2003).

Během studie bylo *Corynebacterium urealyticum* izolováno z povrchů na izolačních boxech pacienta (výpusť sprchy, jídelní stůl, vnitřní povrch lednice).

4.1.3 Gramnegativní tyčky – fermentující

4.1.3.1 *Enterobacter aerogenes*

Jedná se o gramnegativní tyčku patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*. *Enterobacter aerogenes* je součástí běžné střevní flóry. U imunosuprimovaných pacientů může vyvolávat závažné bakteriální infekce, jako jsou pneumonie, močové infekce a sepse, zvláště ve spojitosti s centrálními venózními katétry (Zhuang, 2011).

Během studie byl tento bakteriální kmen izolován celkem 22 krát. U personálu byl prokázán 16 krát (10 krát z nosní sliznice, 4 krát z rukou a 2 krát z vlasů). Z prostředí byl izolován 6 krát (žebrování elektrického přímotopu na sociálním zařízení vedle izolačního boxu, z vnitřku lednice, telefonu u lůžka pacienta a výpusti sprchy).

4.1.3.2 *Enterobacter cloacae*

Jedná se o pohyblivou gramnegativní tyčku, z čeledi *Enterobacteriaceae*. Běžně se vyskytuje v půdě a vodě. Je součástí normální střevní mikroflóry. Uplatňuje se jako původce nemocničních infekcí, nejčastěji močového a respiračního traktu (Musil, 2010).

Během studie byl tento bakteriální kmen izolován celkem 21 krát, přičemž v prostředí to bylo 20 krát (6 krát výpusť sprchy na sociálním zařízení pacienta, 2 krát voda v míse WC a jedenkrát dezinfekční roztok na zubní kartáček; v zázemí stěr z nesterilních rukavic, výpusť umývadla na sesterně, skladu materiálu a personálním filtru. Na kuchyňce byl *E. cloacae* izolován 3 krát ve výpusti umyvadla, 2 krát v lednici

pro personál a jedenkrát na houbičce na mytí nádobí. U personálu byl izolován 1 krát z nosní sliznice.

4.1.3.3 *Escherichia coli*

Jedná se o gramnegativní, pohyblivou tyčku. Řadí se do čeledi *Enterobacteriaceae*. Je součástí běžné střevní flóry člověka. *E. coli* je popisována jako původce průjmových onemocnění hlavně u novorozenců, ale také nemocničních infekcí, nejčastěji bakteriemií, infekcí močových cest a pneumonií (Uvizl, 2011; Gaytán-Martínez, 2000; Garnica, 2009). U těchto extraintestinálních infekcí je zdrojem bakterií tlusté střevo. Problémem při léčbě je však narůstající rezistence vůči antibiotikům a schopnost formování biofilmu.

Během šetření byla *E. coli* izolována celkem 9 krát; 6 krát z prostředí (3 krát voda v míse WC sociálního zařízení, výpusť umývadla na sociálním zařízení izolačního boxu pacienta, stěr z nesterilních rukavic a stěr vnitřní části lednice na izolačním boxu pacienta) a 3 krát od zdravotnického personálu (vždy se jednalo o výtěr z nosu).

4.1.3.4 *Klebsiella pneumoniae*

Je gramnegativní, nepohyblivá, fakultativně anaerobní tyčka. Je součástí běžné flóry v ústech a trávicím traktu. Řadí se do čeledi *Enterobacteriaceae*. Přirozeně se vyskytuje v půdě. Typicky vyvolává pneumonie a infekce močových cest a to jak v komunitním, tak nemocničním prostředí (Magliano, 2012). Zároveň se uplatňuje jako původce bakteriemií a to hlavně u imunosuprimovaných pacientů. Mezi nejrizikovější faktory pro akvizování *K. pneumoniae* a rozvoj infekce byla označena transplantace orgánů, dialýza a onkologická onemocnění (Linares, 2012).

Během studie byla *K. pneumoniae* izolována 4 krát z prostředí. Jednalo se 2 krát o výpusť sprchy a vodu v míse WC na pokoji pacienta a výpusť dřezu na kuchyňce personálu.

4.1.3.5 *Klebsiella oxytoca*

Jedná o gramnegativní, nepohyblivou tyčku. Po *Klebsiella pneumoniae* jde o druhý nejvýznamnější klinický kmen rodu *Klebsiella*. Byla popsána jako původce bakteriemií, septických stavů, zvláště u imunosuprimovaných pacientů (Al-Anazi, 2008).

K. oxytoca byla izolována pouze jednou (povrch láhve s infúzním roztokem – glukóza, uložené ve skříně).

4.1.3.6 *Kluyvera* spp.

Rod *Kluyvera* spp. je gramnegativní, pohyblivá tyčka z čeledi *Enterobacteriaceae*. V životním prostředí se nachází ve vodě, odpadních vodách a půdě. Byla prokázána ve vzorcích stolice, sputa, moče atd. Je označována za původce klinicky významných onemocnění – bakteriémie a infekce měkkých tkání (Carter, 2005). Není přesně zřejmé, zda infekce jsou převážně endogenního původu, či se jedná o infekce získané z prostředí, tj. nemocniční nákazy. Onemocnění vyvolané tímto bakteriálním kmenem se vyskytují jak u imunosuprimovaných, tak imunokompetentních jedinců.

Bakteriální kmen *Kluyvera ascorbata* byla izolována ve 3 případech (2 krát výpusť umývadla, jedenkrát výpusť kuchyňského dřezu).

4.1.3.7 *Morganella morganii*

Gramnegativní tyčka. Je součástí normální střevní flóry člověka i zvířat. Může se uplatňovat jako velmi závažný nosokomiální patogen (Abdalla J, 2006; Gebhart-Mueller Y, 1998).

Během studie byl kmen *Morganella morganii* izolována z povrchu vnitřku lednice na izolačním boxu pacienta.

4.1.4 Gramnegativní tyčky – nefermentující

4.1.4.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa gramnegativní tyčka z čeledi *Pseudomonadaceae*. Běžně se vyskytuje ve vodě a půdě. Je řazena mezi nejčastější původce nemocničních nákazy. Podmínkami vzniku onemocnění jsou poruchy fagocytózy, rozsáhlé popáleniny, maligní procesy (hlavně leukémie), podávání cytostatik, imunosupresiv, kortikoidů, dlouhodobé podávání antibiotik, které umožní osídlení rezistentními pseudomonádami, těžké operativní výkony, dlouhodobé zavedení cévních nebo močových katétrů, diabetes mellitus (Rau, 2012; Gharabaghi, 2012; Jefferies, 2012).

Tento bakteriální kmen byl izolován pouze z prostředí (22x). Na sociálních zařízeních izolačních boxů pacientů se jednalo o výpusť sprchy nebo umývadla (8x), voda v míse WC. V prostředí izolačních boxů stěr z povrchu křesla, lištový odtah vzduchu a stěr z žebrování elektrického přímotopu. V zázemí se jednalo o výpusť dřezu na kuchyňce pro personál (2x), výpusť umývadla na sesterně (2x), stěry z úklidového

nářadí – mopy, stěrky (3x), výpusť umývadla ve skladu materiálu, stěr z povrchu telefonu a stěr z láhve na infuze uložené ve skříni.

4.1.4.2 *Pseudomonas putida*

Pseudomonas putida gramnegativní, pohyblivá tyčka z čeledi *Pseudomonadaceae*. Běžně se vyskytující v půdě a vodním prostředí. Kolonizuje rostliny, se kterými je v mutuálním vztahu. *P. putida* je psychrofilní a nemnoží se při teplotě lidského těla. Význam však spočívá v riziku kontaminace infuzních nebo jiných roztoků (Krbková, 2009). *P. putida* byla izolována u pacienta s chronickou sinusitidou, dále může vyvolávat např. konjunktivitidu nebo septikémie (Perz, 2005; Zuberbuhler, 2012). Společně s *P. aeruginosa* byly popsány outbreaky infekcí na odděleních hemat-onkologie (Aumeran, 2007).

P. putida byla izolována celkem 3 krát z prostředí. Dvakrát se jednalo o vodu v míse WC na pokoji pacienta a jednou o výpusť umývadla ve vstupním filtru personálu.

4.1.4.3 *Pseudomonas stutzeri*

Gramnegativní, pohyblivá tyčka z čeledi *Pseudomonadaceae*, vyskytující se jak v půdním, tak vodním prostředí. Vyskytuje se také v nemocničním prostředí, kde se může uplatňovat jako oportunní patogen, který byl posán jako původce bakteriémie, septikémie, meningitid, endokarditid, pneumonií a infekcí močového traktu (Goetz, 1983; Potviliege, 1987; Roig, 1996; Stan, 1977; Rosenberg, 1987).

Během studie byla *P. stutzeri* izolována jedenkrát ve výpusti umývadla čistící místnosti.

4.1.4.4 *Pseudomonas mendocina*

Pseudomonas mendocina je gramnegativní, nefermentující tyčka z čeledi *Pseudomonadaceae*. Poprvé byla izolována v roce 1970 z půdy a vody. Tento environmentální bakteriální kmen je vzácně popisován jako lidský patogen. Byly však popsány případy, kdy byla *P. mendocina* označena jako původce sepsí a endokarditid (Nseir, 2011; Suel, 2011; Mert, 2007).

Během šetření byla izolována jedenkrát z rukou osoby ošetřujícího personálu.

4.1.4.5 *Burkholderia cepacia*

Jedná se o nefermentující gramnegativní bakterii, patřící do čeledi *Burkholderiaceae*. Vyskytuje se ve vodě, v půdě a na rostlinách. *B. cepacia*

je spojována s nemocničními nákazami dýchacích cest, zvláště u pacientů s cystickou fibrózou, ale nejenom s ní (Hanulík, 2012).

Během šetření byla *B. cepacia* izolována celkem 4 krát z prostředí. Jednalo se o výpusť sprchy a umývadla na sociálním zařízení izolačních boxů pacientů pacienta, stěr z vnitřního povrchu lednice lékařů a z plastového košíku na přípravu injekcí na sesterně.

4.1.4.6 *Stenotrophomonas maltophilia*

Stenotrophomonas maltophilia je nefermentující gramnegativní bakterie, patří do čeledi *Xanthomonadaceae*. V životním prostředí se nachází ve vodě a na vlhkých místech. Není považována za součást fyziologické mikroflóry lidí. Ve zdravotnických zařízeních často kolonizuje dýchací cesty a trávicí trakt pacientů (Spencer, 1995). U imunosuprimovaných pacientů (hemato-onkologičtí, po orgánové transplantaci atd.) se podílí na infekčních komplikacích s vysokou mortalitou (Tada, 2012).

Ve studii byla *Stenotrophomonas maltophilia* detekovaná ve 4 případech: 3 krát ve výpusť umývadla v různých místnostech transplantační jednotky, odd. 5C, HOK. V jednom případě byla prokázána stěrem pravé ruky personálu.

4.1.4.7 *Delftia acidovorans*

Druh *Delftia acidovorans*, dříve byl označován jako *Comamonas acidovorans* nebo *Pseudomonas acidovorans*. Patří mezi gramnegativní nefermentující bakterie, s širokým geografickým rozšířením. Nachází se běžně v půdě a vodě. Je považována za nepatogenní bakterii. V současnosti je považována za možného původce endokarditidy, očních infekcí (Ray, 2012) a nemocničních bakteriemií v souvislosti s centrálními venózními katétry především u imunosuprimovaných pacientů (Chotikanatis, 2011; Kawamura, 2011).

Bakteriální kmen *Delftia acidovorans* byl prokázán ve výpusť sprchy sociálního zařízení izolačního box pacienta.

4.1.4.8 *Cupriavidus pauculus*

Označení tohoto druhu pochází až z roku 2004. Předtím byl bakteriální kmen *Cupriavidus pauculus* řazen do CDC skupiny IVc-2. Jedná se o gramnegativní nefermentující pohyblivou tyčku ubikviterního rozšíření, nacházející se v půdě, vodě a také na rostlinách. Je původcem významných onemocnění, především u imunosuprimovaných pacientů. Vyvolává bakteriémie, septikémie, peritonitidy a abscesy (Musso, 1994). V mnoha případech zdroj nebo vehikulum této bakterie není

identifikováno, pokud ano, pak se jedná o kontaminovanou vodu. Do konce roku 2010 bylo dokumentováno 19 případů nemocničních infekcí (bakteriémie, ventilátorová pneumonie) (Tasbakan, 2010).

Během studie byl bakteriální kmen *Cupriavidus pauculus* prokázán ze stěru vnitřní stěny skříně.

4.1.4.9 *Ochrobactrum anthropi*

Ochrobactrum anthropi je gramnegativní tyčka. Dříve označovaná jako *Achromobacter* spp. nebo CDC skupina Vd. Je izolována z prostředí, především vody, z klinického materiálu. V posledních 20 letech je řazena mezi potenciální lidské patogeny, je označována jako původce nemocničních nákaz – bakteriémie v souvislosti s imunosupresivní léčbou nebo centrálními venózními katétry (Kern, 1993; Ezzedine, 1994).

Bakteriální kmen *Ochrobactrum anthropi* byl prokázán ve dvou případech, jednalo se o výpusť sprchy na sociálním zařízení izolačního boxu pacienta a výpusť dřezu na kuchyňce.

4.1.4.10 *Alcaligenes faecalis*

Alcaligenes faecalis je gramnegativní tyčka, ubikviterně rozšířena v půdě a vodě. Bývá izolována ze stolice, sputa a moči. U 5 - 19 % zdravé populace může být nacházen jako neškodný saprofyt (Sachdeva, 1963). Může být součástí kožní flóry, nicméně jsou popsány případy sepse, meningitidy, peritonitidy, apendicitidy, endokarditidy, které mohou končit fatálně, protože je rezistentní na běžná antibiotika (Tai, 1963).

Během studie byl bakteriální kmen *Alcaligenes faecalis* prokázán na úklidové molitanové stěnce.

4.1.4.11 *Acinetobacter lwoffii*

Rod *Acinetobacter* je striktně aerobní gramnegativní kokobacil, někdy tvoří tyčky až vlákna. Je značně rozšířen v prostředí, zdravotnická zařízení jsou často kontaminována endemickými kmeny. Je charakterizován nízkou virulencí, přesto je spojován s nemocničními nákazami – pneumonie, bakteriémie, infekce močového a dýchacího traktu (Playford, 2007).

Ve studii byl izolován tento bakteriální kmen v jednom případě z výpusti umývadla na kuchyňce.

4.1.4.12 *Moraxella* spp.

Gramnegativní krátká tyčka, osídlující sliznice nasofaryngu, spojivkového vaku a genitálního traktu. Patogenita je velmi nízká (Aebi, 2011).

Moraxella spp. byla prokázána ve výpusti sprchy sociálního zařízení izolačního boxu pacienta.

4.1.4.13 *Kingella denitrificans*

Rod *Kingella* zahrnuje gramnegativní nefermentující bakterie, dříve označované jako *Moraxella*. Je uváděna jako původce infekce očí a retrofaryngeálního abscesu. U těchto jedinců byla snížena obranyschopnosti - věk nad 70 let nebo aplikace chemoterapeutika (Kim, 2011; Rajanna, 2011).

Ve studii byl kultivačně prokázán bakteriální kmen *Kingella denitrificans* na úklidové molitanové stěrci.

4.1.4.14 *Legionella pneumophila*

Jedná se o gramnegativní, aerobní, pohyblivou tyčku. Vyskytují se přirozeně ve vodách, v přírodních vodních rezervoárech, ve vodách průmyslových a vodovodních. Jsou velmi náročné na kultivaci na umělých půdách. U pacientů se sníženou imunitou může vyvolávat pneumonie nozokomiálního charakteru (Bednář, 1996).

Během studie byla izolována *Legionella pneumophila* sg. 1 a 6A.

4.1.5 Mikroskopické vláknité houby

4.1.5.1 *Aspergillus* spp.

Rod *Aspergillus* spp. patří mezi saprofyty, je ubikviterně rozšířen v prostředí a tvoří až 40 % mykotické flóry jak v domácím, tak v nemocničním prostředí. Infekce, které vyvolává u imunokompromitovaných jedinců jsou popisovány z celého světa (Alangaden, 2011; Bhatti, 2006; Fridkin, 1996). Nachází se zejména v přírodním materiálu, půdě, tlejícím dřevě, ale také ve starém zdivu. Existuje téměř 200 druhů aspergilů, ale pouze 30 z nich vyvolává léze u lidí a zvířat. Kmen *A. fumigatus* je nejčastější příčinou invazivní plicní aspergilosy (až v 90 %). *A. flavus* vyvolává mykotoxikózy a na další místa jsou řazeni *A. terreus*, *A. niger* (Alangaden, 2011; Dagenais, 2009). Za primární způsob vzniku lidské infekce se považuje inhalace vzdušných konidií (Alangaden, 2011).

Aspergily byly během studie prokázány 1x na chodbě mezi izolačními boxy a zázemím transplantační jednotky a 3x byl prokázán ve vstupním filtru.

4.1.5.2 *Penicillium* spp.

Rod *Penicillium* má přibližně 225 druhů, které jsou všudypřítomné, především v půdě, tlející vegetaci a ve vzduchu. Druhy *Penicillium* spp. mají nízkou patogenitu. Infekce způsobené kmenem *Penicillium chrysogenum* jsou popsány u imunosuprimovaných pacientů (D'Antonio, 1997) a zcela ojediněle u jedinců imunokompetentních (Barcus, 2005).

Zástupci rodu *Penicillium* byly během studie prokázáni v pracovně lékaře a v zadní části chodby u pracovny lékaře.

4.1.5.3 *Trichoderma* spp.

Rod *Trichoderma* zahrnuje druhy všeobecně rozšířené, vyskytující se v půdě, tlejícím dřevě, kompostu a jiných organických látkách, není patogenní pro zdravé savce. Od druhé poloviny 90. let minulého století se objevují častěji kazuistiky fatálních oportunních infekcí vyvolané zástupci rodu *Trichoderma*, především u imunosuprimovaných pacientů (Guarro, 1999). Kmeny *Trichoderma harzianum* a *Trichoderma citrinoviride* jsou považovány za původce závažných mykotických infekcí u imunosuprimovaných, zejména hemato-onkologických pacientů. Často vykazující rezistenci vůči antimykotikům (Kviliute, 2008; Kratzer, 2006; Richter, 1999).

Zástupci rodu *Trichoderma* byli během studie prokázáni v pracovně lékaře.

4.1.5.4 *Paecilomyces* spp.

Warris (2001) se spolupracovníky prokázali kmen *Paecilomyces* spp. ve vodě odebrané z vodovodního kohoutku i sprchy na pediatrické transplantacní jednotce National Hospital University v Oslo. Je možné uvažovat o vodním aerosolu jako o možném vehikulu *Paecilomyces* spp. Často se objevuje jako kontaminanta sterilních roztoků a je rezistentní k většině používaných sterilizačních technik (Pastor, 2006). *Paecilomyces lilacinus* je řazen mezi nastupující oportunní patogeny postihující imunosuprimované i imunokompetentní děti a dospělé (Walsh, 1999).

Tento kmen byl prokázán na sociálním zařízení izolačního boxu č. 4.

4.1.5.5 *Eurotium* spp.

Tento kmen bývá prokazován ve vnitřním vzduchu domácích obydlí nebo farem a je označován za původce respiračních onemocnění, jako je alergická alveolitida a alergická pneumonitis tzv. farmářská plíce a atopické astma (Roussel, 2010; Bellanger, 2011). Způsob přenosu exogenního patogena na hostitele se děje nejčastěji vzduchem z neživého vehikula.

Na sociálním zařízení izolačního boxu č. 2 byl ve vnitřním vzduchu prokázán kmen *Eurotium amstelodami*.

4.1.5.6 *Monilia* spp.

Kmen *Monilia sitophila* se vyskytuje ubikvitěrně v teplých oblastech Evropy od Španělska až po Švýcarsko. Nachází se na rostlinách a jen zřídka v souvislosti s lidmi. Jsou popsány případy pracovního astmatu u jedinců, kteří se účastní zpracování kávy (Francuz, 2010).

Zástupci rodu *Monilia* byly během studie prokázáni v zadní části chodby v odtahu vzduchotechnického zařízení.

4.2 Výsledky hygienicko-epidemiologického šetření na transplantační jednotce – odd. 5C, HOK

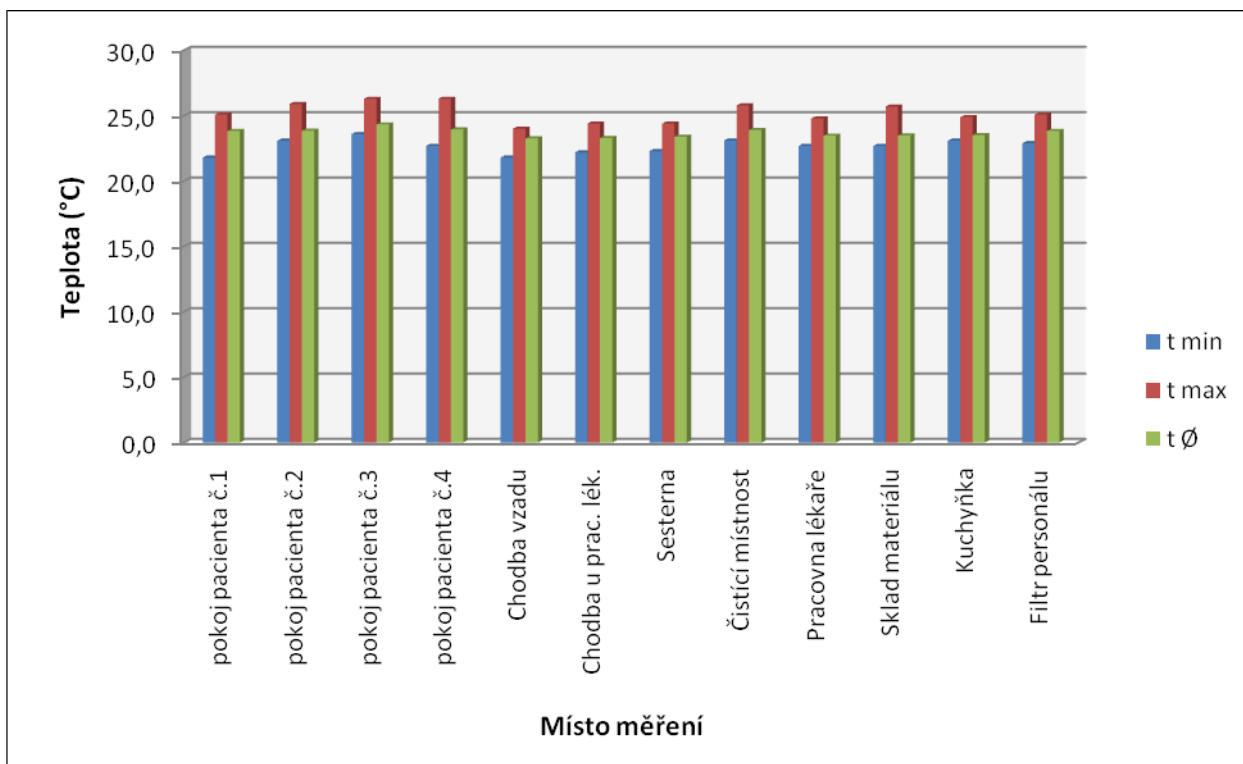
Zpracování materiálu zajistil:

- Ústav preventivního lékařství, LF UP v Olomouci
- Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci
- Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta, UK v Praze
- Národní referenční laboratoř pro legionely, ZÚ Ostrava

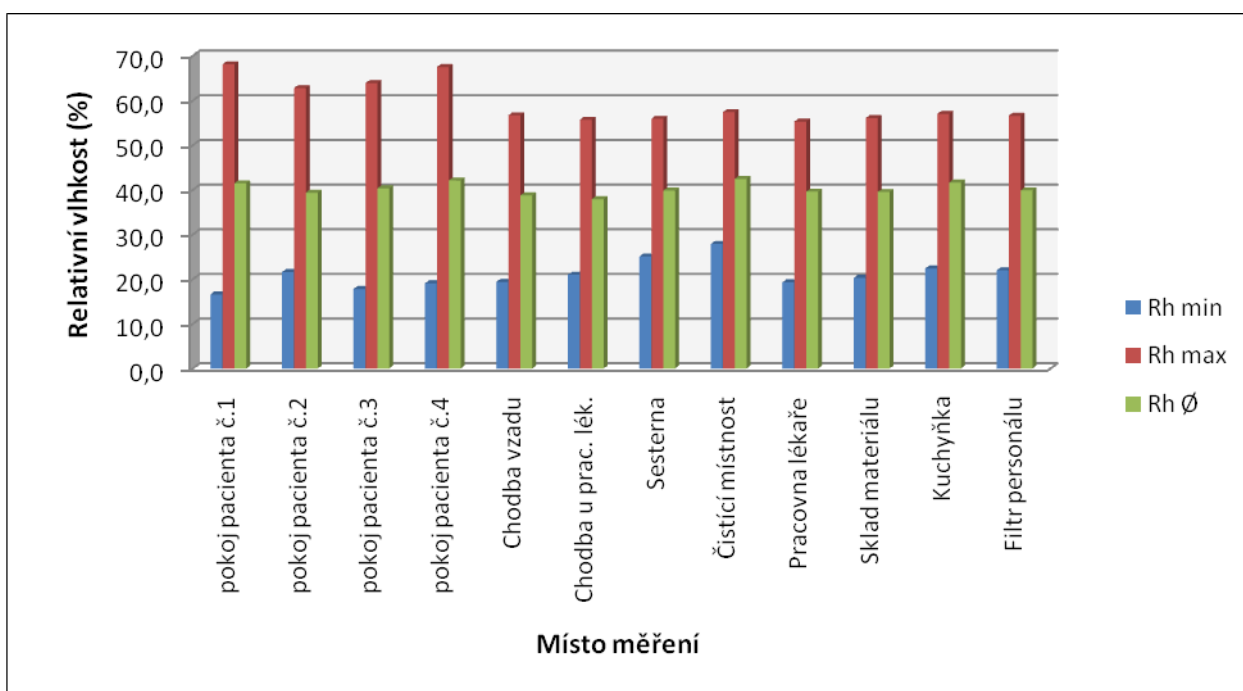
Během odběru materiálu na transplantační jednotce – odd. 5C, HOK byly pravidelně měřeny hodnoty teploty a relativní vlhkosti vnitřního vzduchu na místech, kde bylo prováděno vzorkování aeroskopem. Měření probíhalo na dvanácti předem vytypovaných místech a probíhalo po celou dobu trvání studie, celkem tedy bylo provedeno 144 krát. Minimální, maximální a průměrné hodnoty teploty a relativní vlhkosti vzduchu jsou uvedeny v tabulce 6 a grafech 1 a 2. Teplota a relativní vlhkost vnitřního vzduchu jsou vyšší na izolačních boxech pacientů než v zázemí. Naměřené hodnoty teplot byly stabilní. Hodnoty relativní vlhkosti vzduchu se pohybovaly v rozmezí od minimální hodnoty cca 17 % po maximální hodnotu cca 68 %.

Tabulka 6: Hodnoty teploty a relativní vlhkosti vnitřního vzduchu.

	Izolační box pacienta	Zázemí
Teplota (°C)	24,0 ± 0,9 (21,8 - 26,3)	23,6 ± 0,7 (21,8 - 25,8)
Rh (%)	40,8 ± 14,4 (16,6 - 68,1)	40,0 ± 11,1 (19,3 - 57,4)



Graf 1: Naměřené hodnoty teploty vnitřního vzduchu na jednotlivých odběrových místech.



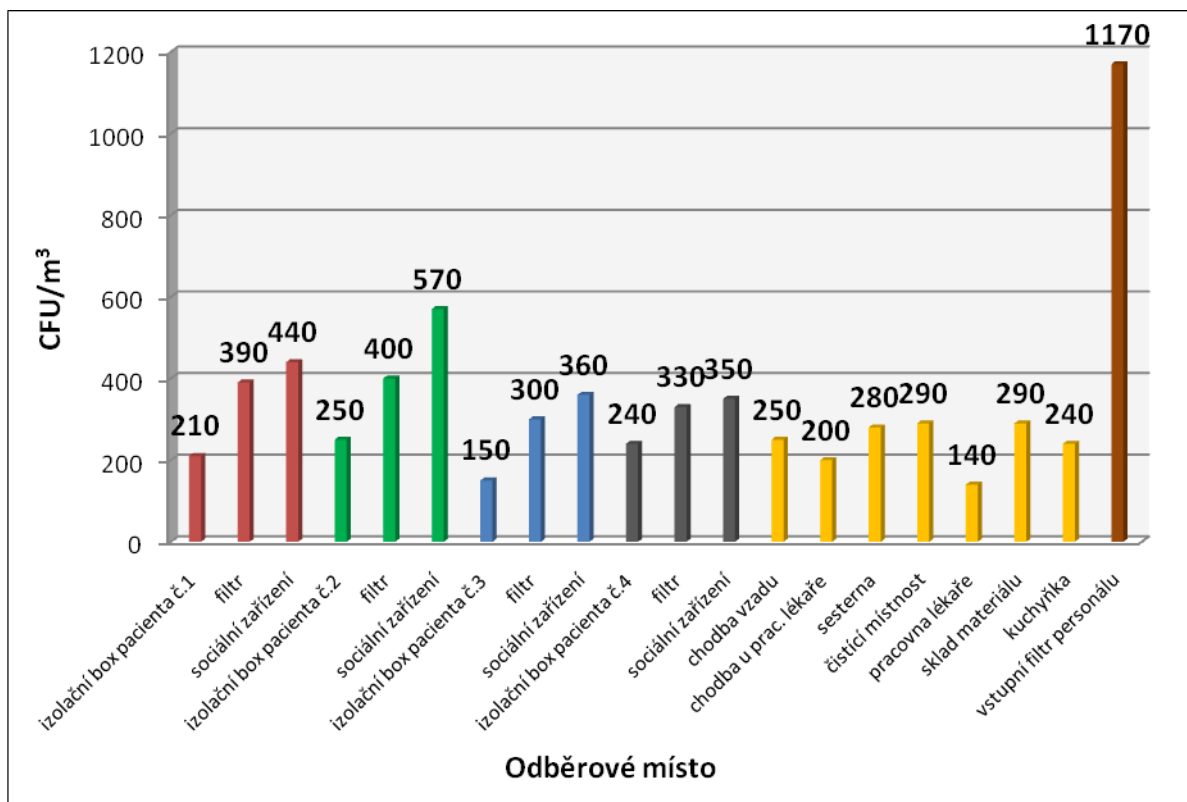
Graf 2: Naměřené hodnoty relativní vlhkosti vnitřního vzduchu na jednotlivých odběrových místech.

4.2.1 Stanovení mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu čistých prostorů (aktivní vzorkování aeroskopem)

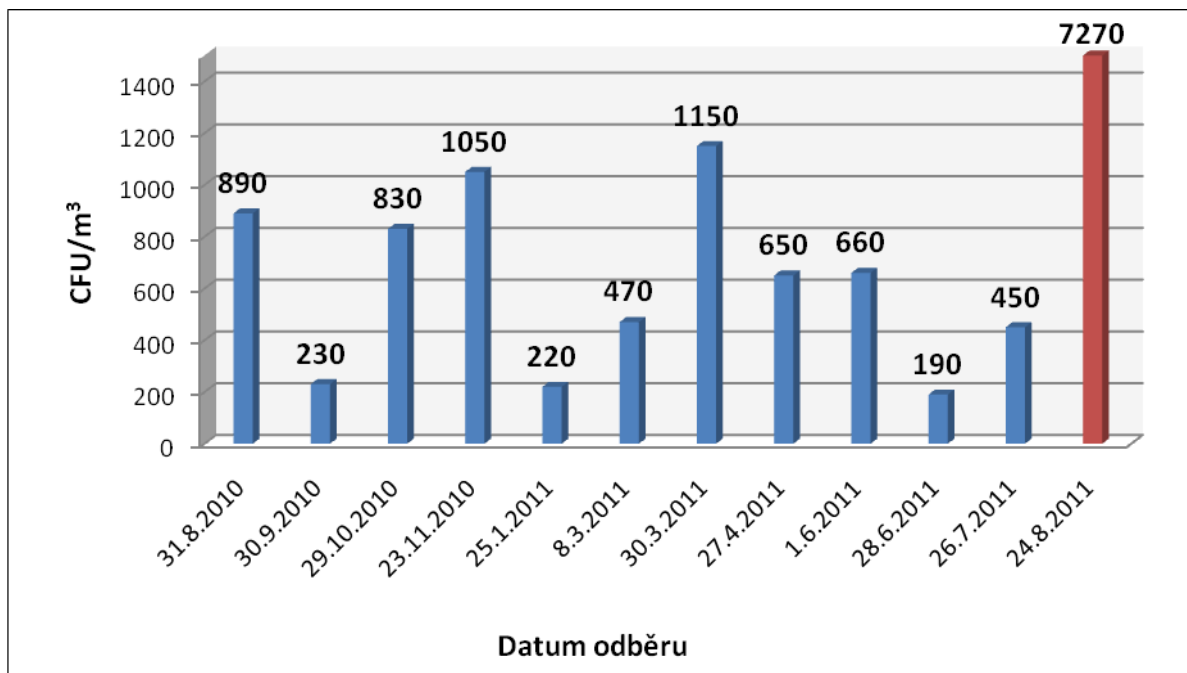
Objemové vzorkování vnitřního vzduchu probíhalo 1x měsíčně, od srpna 2010 do srpna 2011. V průběhu roční studie byla prováděna v březnu 2011 v přízemí budovy stavební rekonstrukce.

Průměrné hodnoty kultivačně prokázané bakteriální kontaminace na jednotlivých odběrových místech (absolutní počty CFU/m³ vnitřního vzduchu) jsou uvedeny v grafu 3. Z grafu je zřejmé, že nejvyšší průměrná hodnota mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu byla zjištěna v místnosti „filtr personálu“ (odběrové místo 20). Hodnoty CFU/m³ vnitřního vzduchu v této místnosti v době jednotlivých měření jsou uvedené v grafu 4. Měření mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu tohoto prostoru bylo prováděno v době mezi 9. až 11. hodinou dopolední.

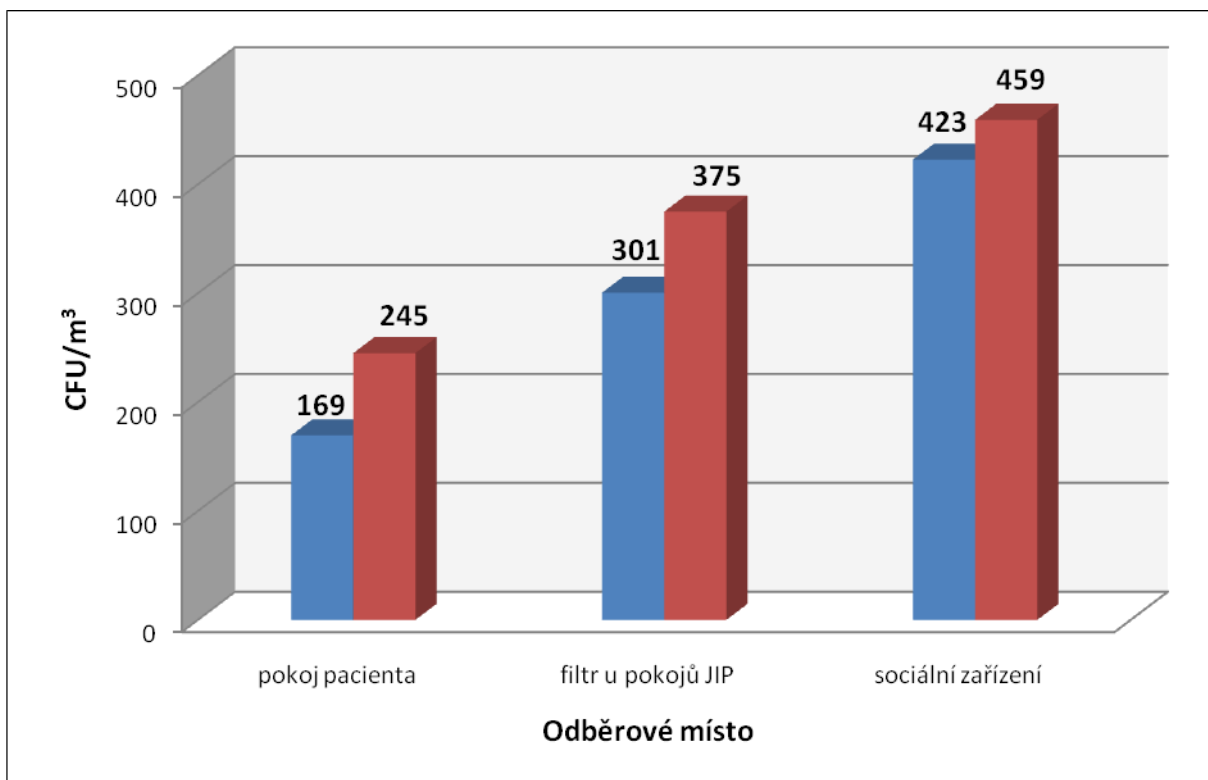
Nejnižší mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu (150 - 250 CFU/m³) byla naměřena na izolačních boxech pacientů, což je v souladu s jejich technickými parametry. V průběhu studie průměrné hodnoty zde zjištěné byly v rozmezí 350 – 570 CFU/m³ vnitřního vzduchu. V prostoru filtru před izolačním boxem pacienta byly naměřeny průměrné hodnoty 300 - 400 CFU/m³ vnitřního vzduchu (graf 3). Na ostatních odběrových místech (13-19) průměrné hodnoty nepřesáhly 300 CFU/m³ vnitřního vzduchu. Graf 5 zobrazuje průměrné hodnoty mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu na izolačním boxu pacienta (CFU/m³) v závislosti na jeho přítomnosti/nepřítomnosti. Při vzájemném porovnání naměřených hodnot CFU/m³ na izolačních boxech, sociálních zařízeních umístěných u izolačních boxů a vstupních filtrech k těmto boxům, byly vždy naměřeny nižší hodnoty CFU/m³ v případě, že zde nebyl umístěn pacient. Při statistickém vyhodnocení nebyl prokázán signifikantní rozdíl, v případě přítomnosti/nepřítomnosti pacienta.



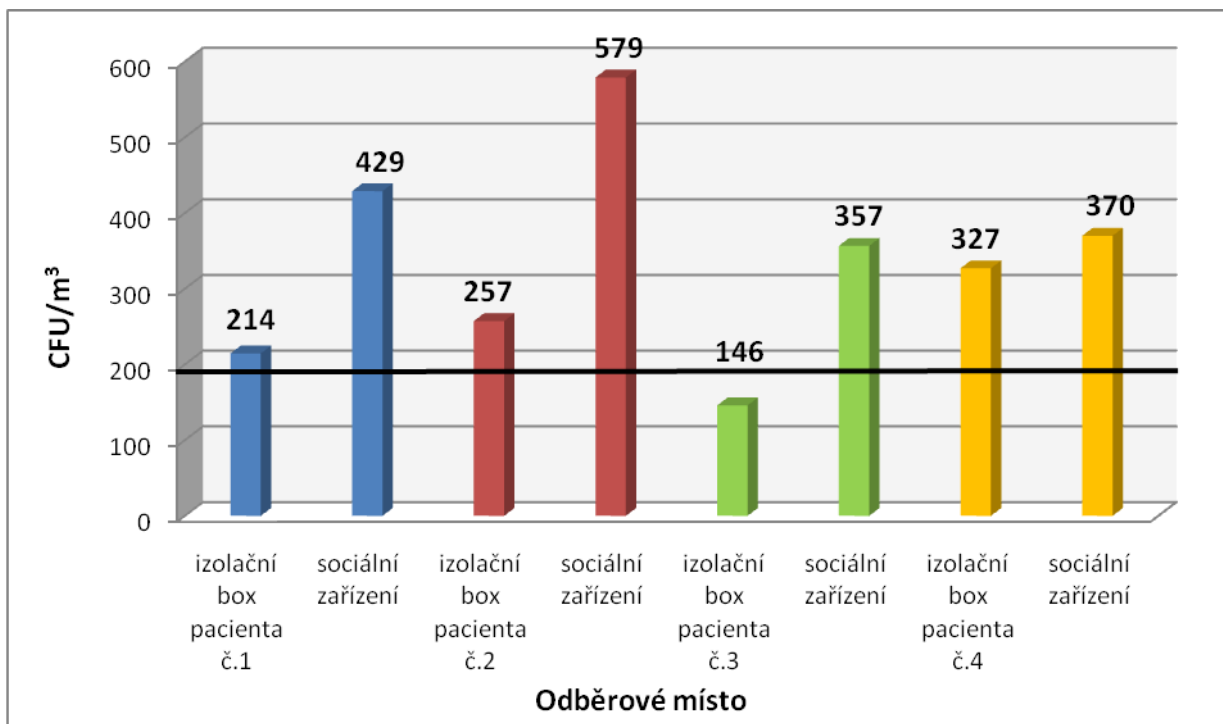
Graf 3: Průměrné hodnoty CFU/m³ na jednotlivých odběrových místech.



Graf 4: Hodnoty CFU/m³ ve vstupním filtru personálu.

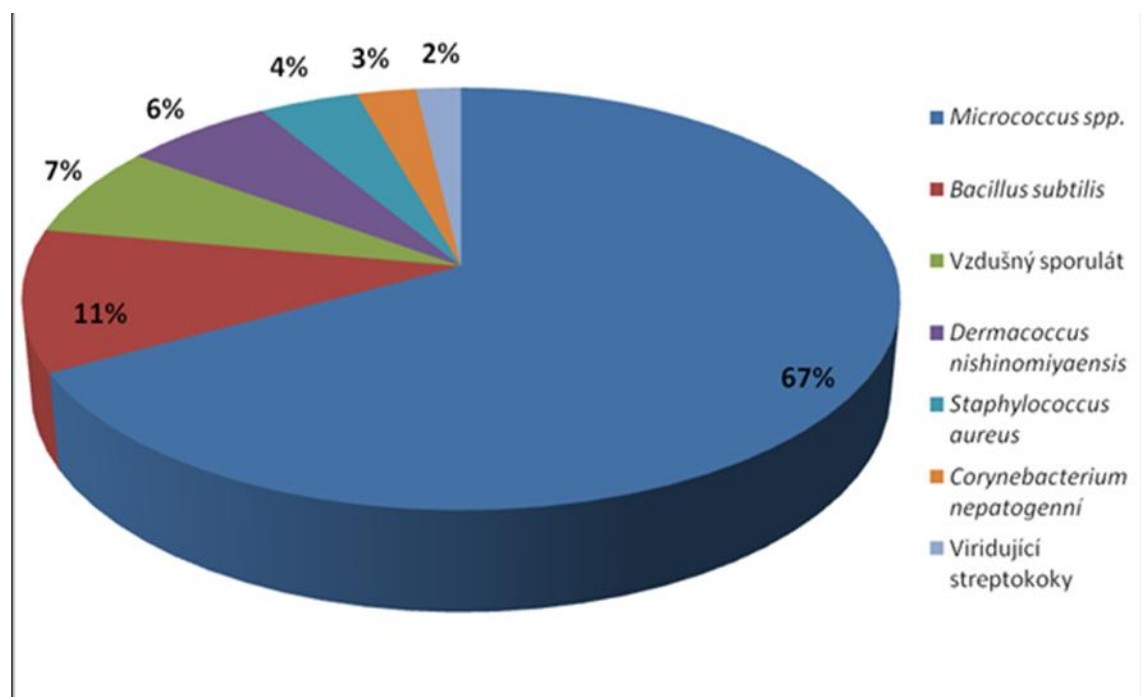


Graf 5: Průměrné hodnoty CFU/m³ (izolační box, filtr izolačního boxu, sociální zařízení - bez pacienta modře, s pacientem červeně).

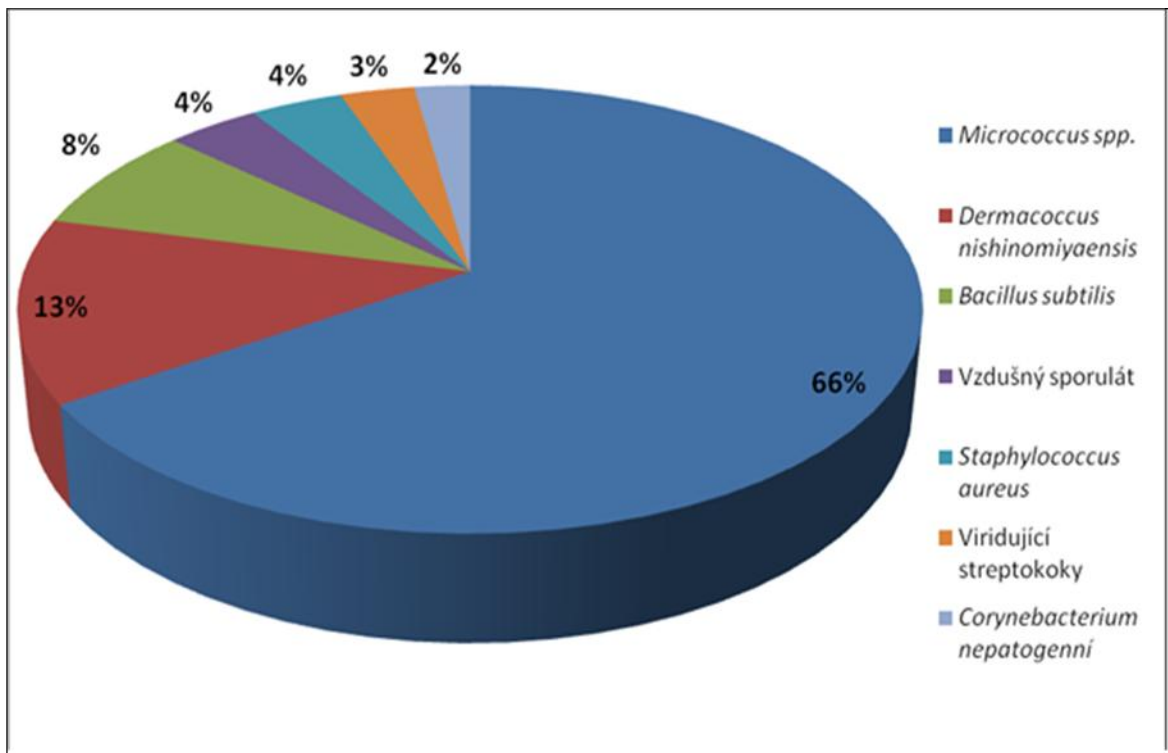


Graf 6: Průměrné hodnoty v CFU/m³ na jednotlivých izolačních boxech a příslušných sociálních zařízeních obsazených pacientem. Zvýrazněná limitní hodnota 200 CFU/m³.

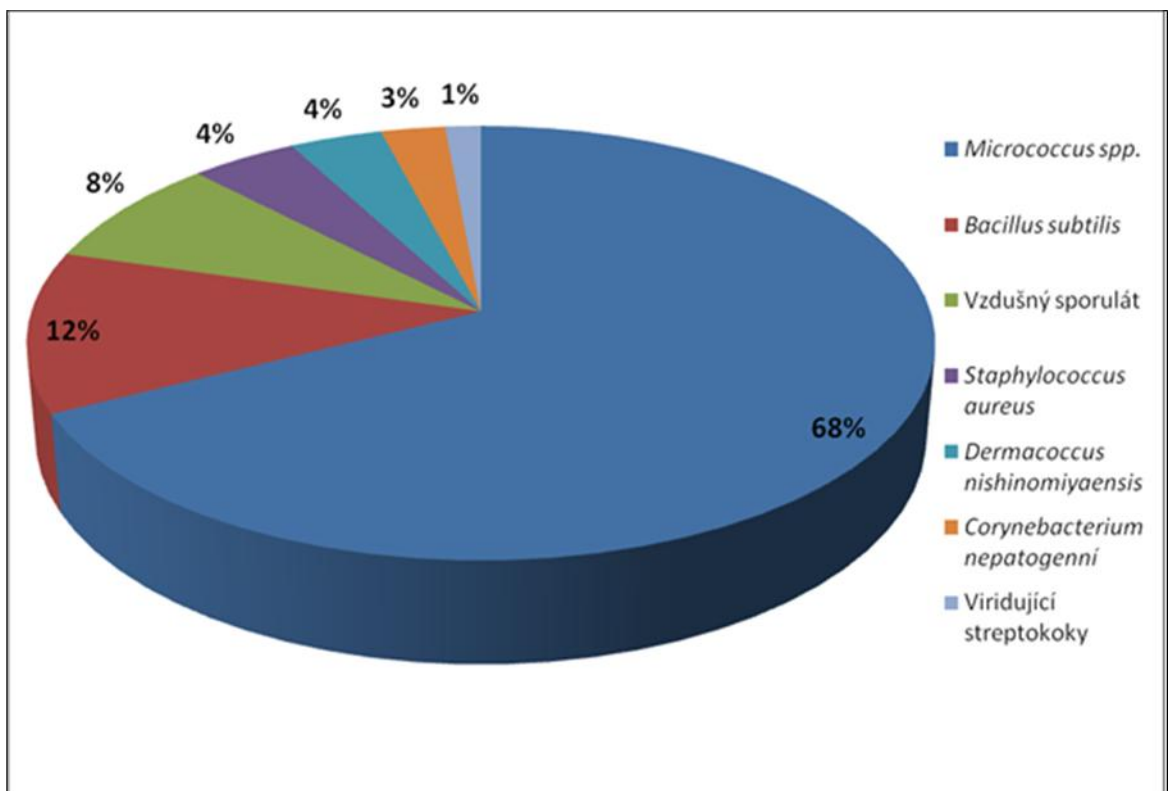
Nejčastěji izolovanými bakteriálními kmeny z vnitřního vzduchu byly koagulázanegativní stafylokoky, které tvořili 94,3 % všech zachycených bakteriálních kmenů. Grafy 7 až 9 ukazují procentuální zastoupení ostatních prokázaných bakteriálních kmenů. Tyto grafy neobsahují naměřené hodnoty koagulázanegativních stafylokoků. Výsledky zobrazené v grafu 7 jsou vztaženy na celé prostředí oddělení transplantační jednotky (izolační box pacienta + zázemí). Z tohoto grafu je patrné, že nejčastěji izolovanými kmeny byl *Micrococcus* spp., který tvořil 67 % všech izolovaných kmenů a *Bacillus subtilis* (11 %). Mírné rozdíly v bakteriálním zastoupení byly zaznamenány při srovnání izolačních boxů pacientů a zázemí (graf 8 a 9). V obou případech byl nejčastěji izolován *Micrococcus* spp. (66 resp. 68 %), ale v prostředí izolačních boxů byl druhým nejčastěji izolovaným kmenem *Dermaococcus nishinomiyaensis* (13 %) a třetím *Bacillus subtilis* (8 %). V prostředí zázemí byl z vnitřního vzduchu druhým nejčastěji izolovaným kmenem *Bacillus subtilis* (12 %) a následně blíže neurčené vzdušné sporuláty (8 %).



Graf 7: Zastoupení bakteriálních kmenů ve vnitřním vzduchu v procentech - bez koagulázanegativních stafylokoků (izolační boxy + zázemí)



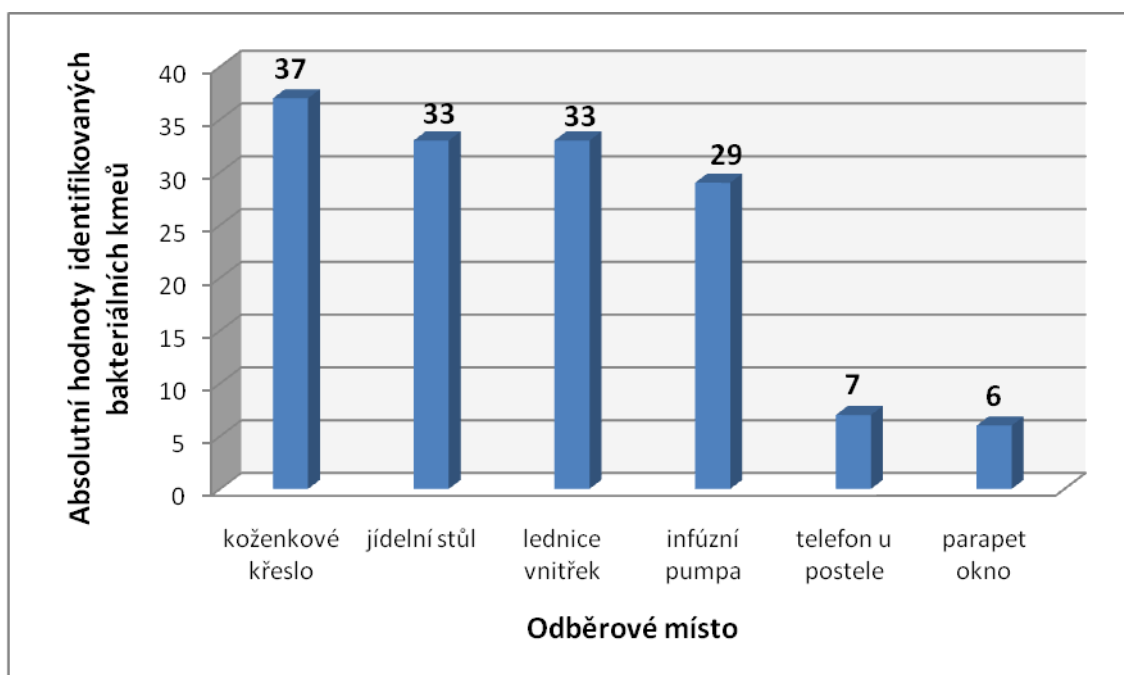
Graf 8: Zastoupení bakteriálních kmenů ve vnitřním vzduchu v procentech - bez koagulázanegativních stafylokoků (izolační boxy + sociální zařízení).



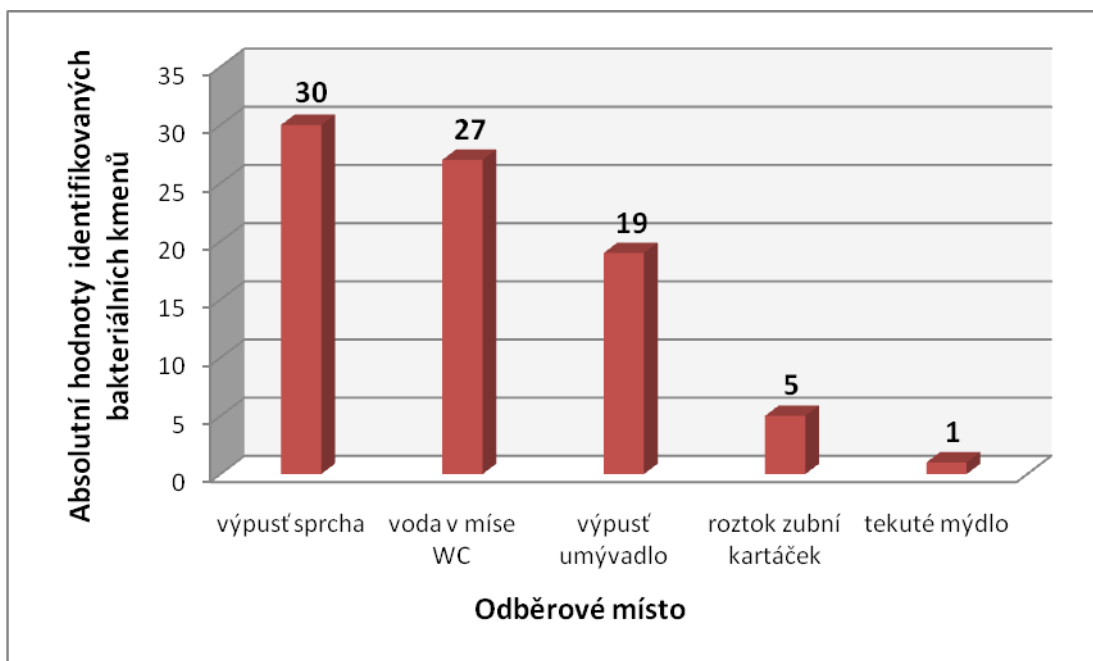
Graf 9: Zastoupení bakteriálních kmenů ve vnitřním vzduchu v procentech - bez koagulázanegativních stafylokoků (zázemí).

4.2.2 Stanovení mikrobiální kontaminace povrchů, výpustí umývadel a dřezů a tekutého materiálu

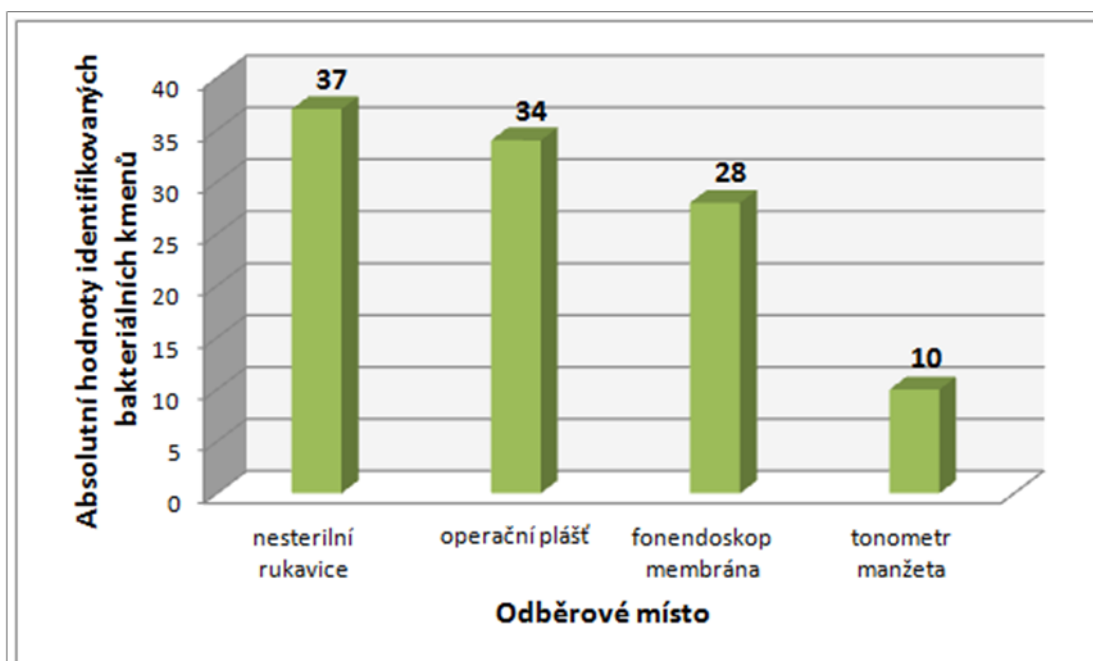
Z výsledků kultivace stěrů, které byly provedeny na izolačním boxu pacienta během studie vyplynulo, že nejvíce bakteriálních kmenů bylo izolováno z koženkového křesla, jídelního stolu a vnitřku lednice (graf 10). V prostředí sociálního zařízení (graf 11) byl nejvyšší výskyt bakteriální kontaminace ve výpustích umývadel, sprch a ve vodě v míse WC. Roztok dezinfekčního přípravku, určený pro přechovávání zubního kartáčku, byl 5 krát kontaminován mikroorganismy a jedenkrát ve vzorku tekutého mýdla byl kultivací prokázán koagulázanegativní stafylokok. Ve vstupním filtru bylo nejvíce bakteriálních kmenů zachyceno z nesterilních rukavic, operačního pláště (stěr byl prováděn z vnitřní strany oblasti krku) a membrány fonendoskopu (graf 12). Mezi nejčastěji izolované kmeny v tomto prostředí patřily koagulázanegativní stafylokoky, enterokoky a *Bacillus subtilis*.



Graf 10: Izolační box pacienta – lokalizace podle počtu pozitivních kultur.

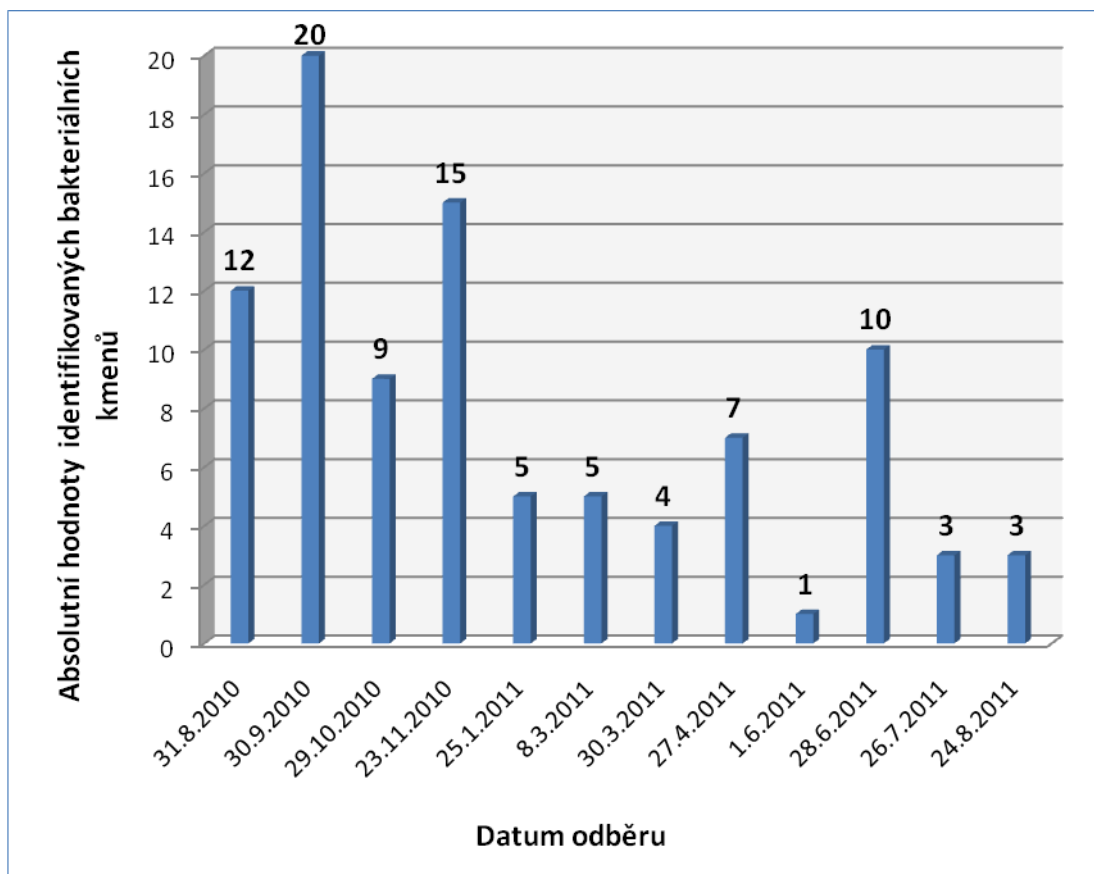


Graf 11: Prostředí sociálního zařízení na izolačním boxu pacienta. Roztok dezinfekčního přípravku na zubní kartáček a tekuté mýdlo – kultivačně pozitivní na koagulázanegativní stafylokoky.



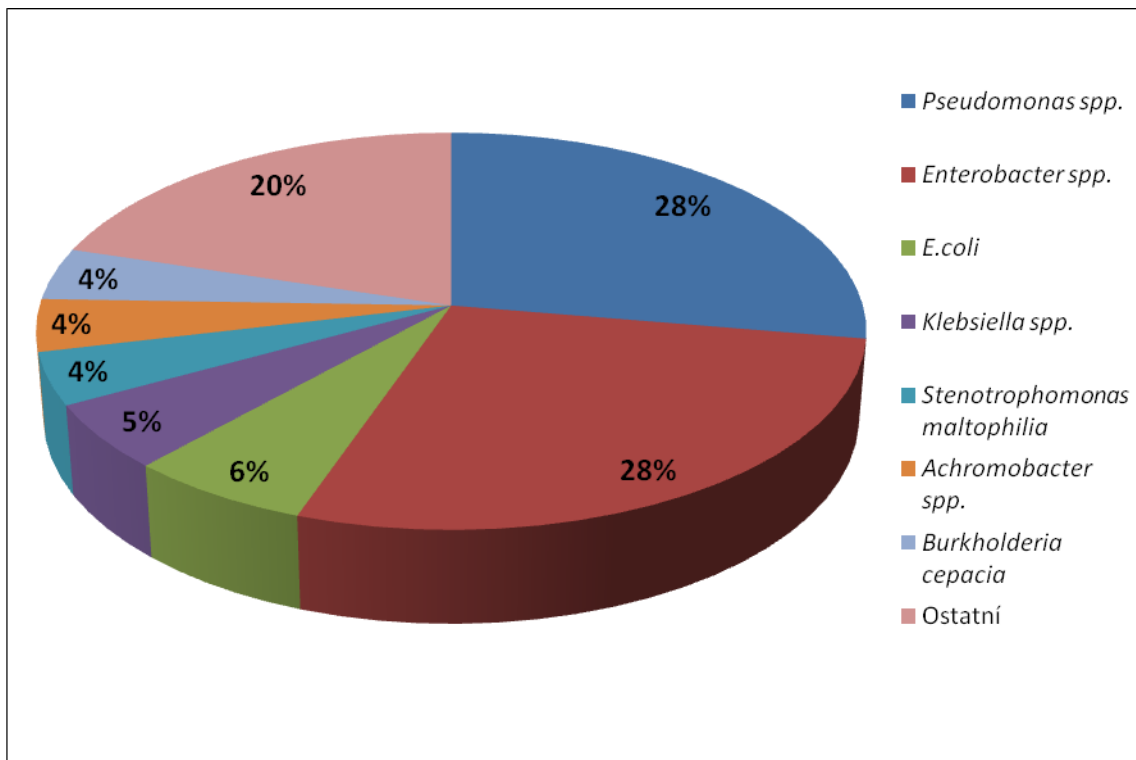
Graf 12: Předměty kontaminované mikroorganismy - vstupní filtr na izolační box pacienta.

V grafu 13 jsou vyjádřeny celkové počty izolovaných kmenů gramnegativních bakterií z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK. Z grafu je patrný vyšší výskyt jednotlivých kmenů gramnegativních bakterií v průběhu první poloviny studie, než ve druhé.

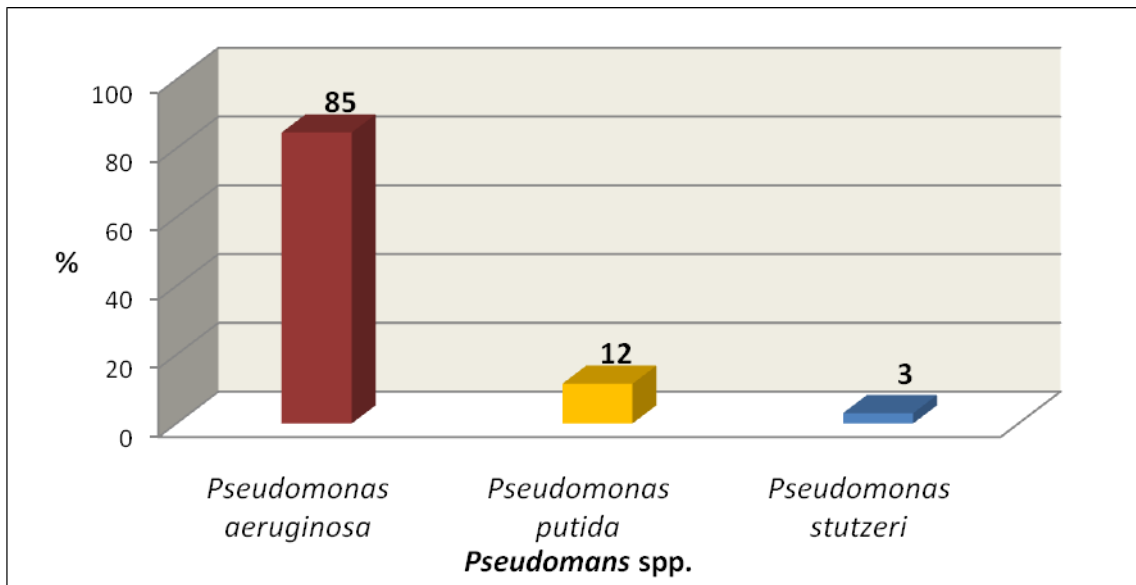


Graf 13: Celkové počty izolovaných gramnegativních bakterií z povrchů.

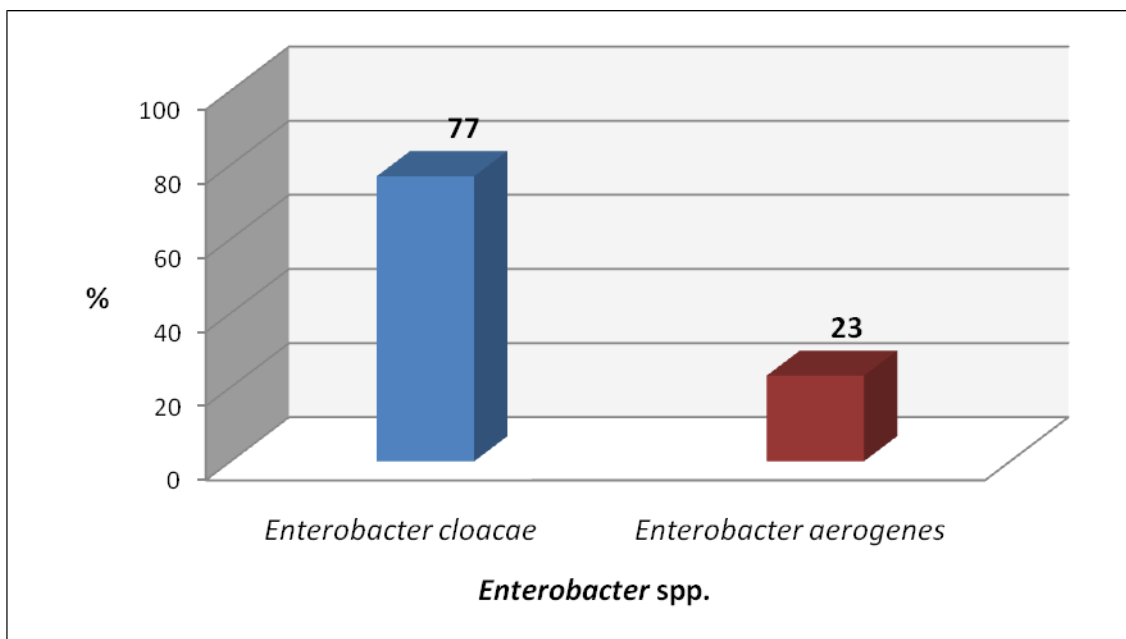
V grafu 14 je uvedeno procentuální zastoupení bakteriálních kmenů, izolovaných z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK. Mezi nejčastěji izolované kmeny patřili zástupci rodů *Pseudomonas* (28 %) a *Enterobacter* (28 %), následovala *E. coli* (6 %) a *Klebsiella* (5 %). Položka „ostatní“ zahrnuje, dle rodů - *Acinetobacter*, *Kingella*, *Kluyvera*, *Ochrobactrum*, *Delftia*, *Morganella*, *Moraxella*, *Serratia* (dohromady tvořily tyto kmeny 20 %). Grafy 15, 16 a 17 nám ukazují poměrné zastoupení jednotlivých rodů - rod *Pseudomonas*, *Enterobacter* a *Klebsiella*. Z pseudomonád byla nejčastěji identifikována izolována *Pseudomonas aeruginosa* (85 %), *Pseudomonas putida* (12 %) a nejméně byl zastoupen kmen *Pseudomonas stutzeri* (3 %). V případě rodu *Enterobacter* byl v 77 % izolován z povrchů *Enterobacter cloacae* a ve 23 % *Enterobacter aerogenes* (graf 16). Z klebsiel byla nejčastějším izolátem *Klebsiella pneumoniae* (80 %), zbylých 20 % tvořila *Klebsiella oxytoca*.



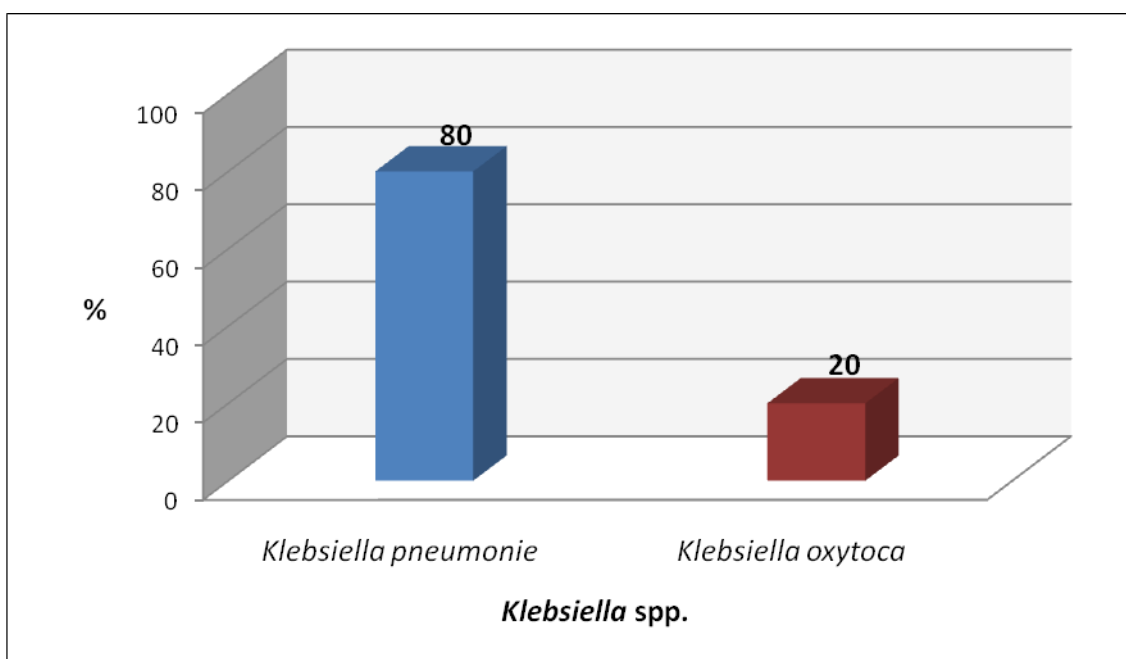
Graf 14: Zastoupení jednotlivých gramnegativních bakteriálních kmenů z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.



Graf 15: Izolované kmeny *Pseudomonas spp.* z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.



Graf 16: Izolované kmeny *Enterobacter* spp. z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.



Graf 17: Izolované kmeny *Klebsiella* spp. z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.

Tabulka 7 a 8 ukazuje zastoupení a počty izolací gramnegativních fermentujících a nefermentujících bakterií z prostředí izolačního boxu pacienta a zázemí transplantační jednotky - odd. 5C, HOK. Z tabulek vyplývá, že nejvíce izolovaných kmenů bylo získáno z výpustí umyvadel v zázemí transplantační jednotky (tabulka 7), výpustí sprch, výpustí umyvadel a vody v míse WC na sociálním zařízení izolačních boxů pacientů (tabulka 8). Záchyt gramnegativních bakteriálních kmenů z jiných povrchů byl sporadický. Jednotlivé značky (křížky) vyjadřují počty záchytů v průběhu studie, nikoliv intenzitu nárůstu bakteriálních kmenů.

Tabulka 7: Zastoupení kmenů gramnegativních bakterií v zázemí transplantační jednotky – odd. 5C, HOK.

		výpust umyvadlo	obal láhve infúze	příprava injekcí	bílý mop malý	telefon	vnitřek lednice	houbička	košík na pečivo	vnitřek skříně
fermentující	<i>Enterobacter cloacae</i>	XXXXXXX					XX	X		
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	XX								
	<i>Kluyvera ascorbata</i>	XX							X	
	<i>Proteus mirabilis</i>	X								
	<i>Klebsiella oxytoca</i>		X							
	<i>Klebsiella pneumonie</i>	X								
nefermentující	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	X								
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	XXXXX	X		X	X				
	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	X								
	<i>Burkholderia cepacia</i>	X		X			X			
	<i>Achromobacter</i> spp.	X								
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	XXXX								
	<i>Cupriavidus pauculus</i>									X
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	XX								
	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	XX								

Tabulka 8: Zastoupení kmenů gramnegativních bakterií v prostředí izolačních boxů pacientů transplantační jednotky – odd. 5C, HOK*.

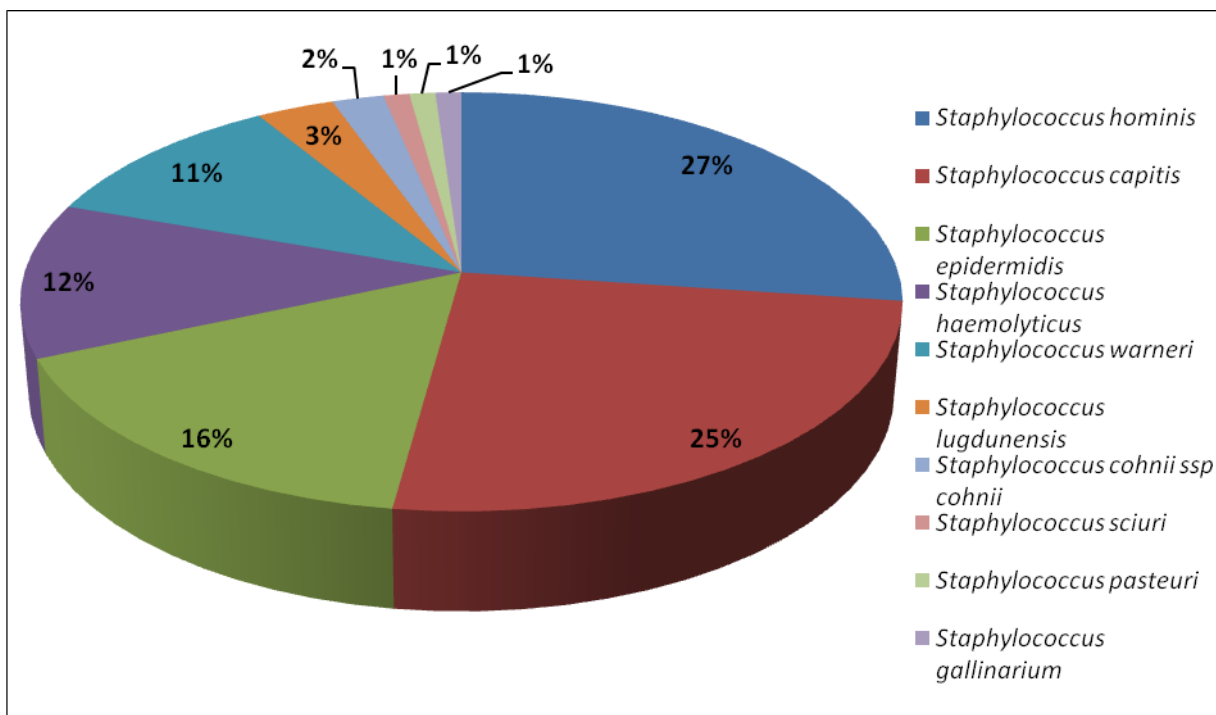
		výpust sprcha	voda v míse WC	výpust umyvadlo	lednice vnitřek	infúzní pumpa	telefon u lůžka pacienta	koženkové křeslo	lišťový odtah vzduchu	nesterilní rukavice	roztok na zubní kartáček	ekoflex- žebrování
fermentující	<i>E. coli</i>		XXX	X	X					X		
	<i>Enterobacter cloacae</i>	XXXXX	XX							X	X	
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	X			X		X					X
	<i>Morganella morganii</i>				X							
	<i>Serratia marcescens</i>	X										
	<i>Citrobacter freundii</i>	XXX										
	<i>Klebsiella pneumonie</i>	XX	X									
nefermentující	<i>Pseudomonas putida</i>		XX									
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	XXXXX	X	XXX				X	X			X
	<i>Moraxella spp.</i>	X										
	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	X										
	<i>Burkholderia cepacia</i>	X										
	<i>Delftia acidovorans</i>	X										
<i>Achromobacter spp.</i>		X										

* V izolačním boxu bez pacienta byla zachycena pouze jedenkrát *Moraxella spp.* ve výpusti sprchy v sociálním zařízení. Vše ostatní bylo kultivačně negativní.

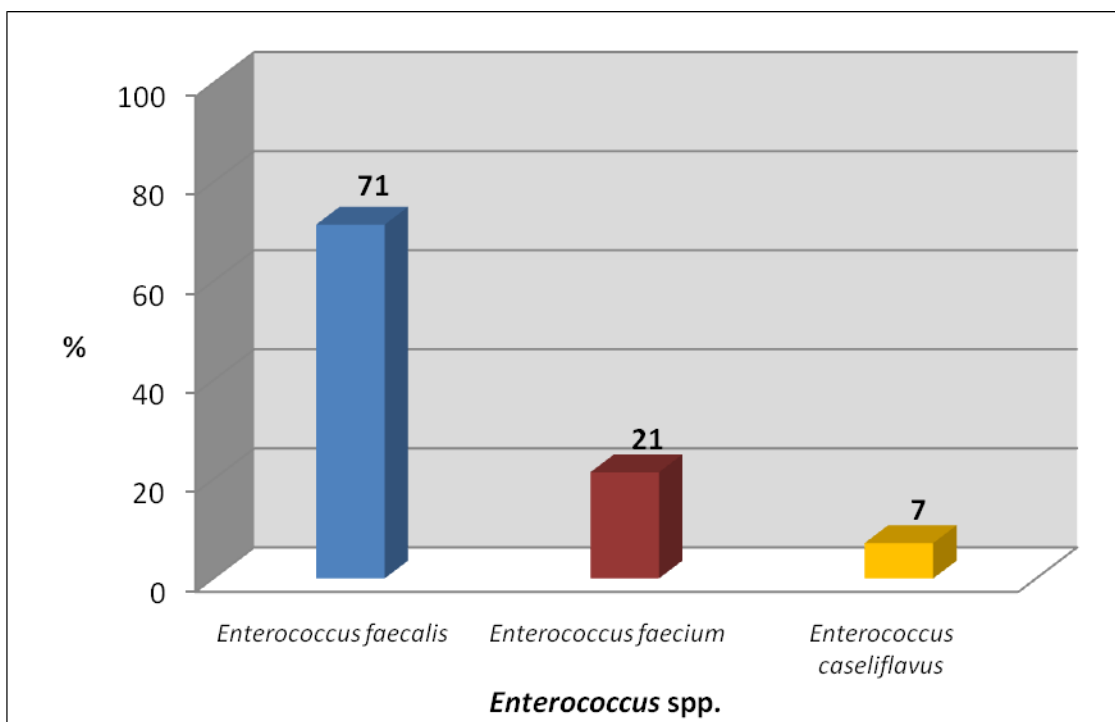
V tabulce 9 je uvedeno zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů izolovaných z povrchů v průběhu studie. Výsledky se týkají celkového prostředí transplantační jednotky (izolační box pacienta + zázemí). Nejčastěji byly identifikovány koagulázanegativní stafylokoky (67,4 %), následovali zástupci rodu *Bacillus* spp. – 21,1 % (nejčastěji *Bacillus subtilis*) a pak už v mnohem menší míře enterokoky (5,5 %), *Staphylococcus aureus* (2,3 %) a rod *Micrococcus* spp. (1,7 %). Z ostatních zástupců, kteří byli izolováni velmi sporadicky (jednalo se o jednotlivé izoláty), za zmínku stojí izolování *Listeria monocytogenes* z obalu cottage sýru, který byl uložen v lednici pacienta na izolačním boxu, dne 29. 10. 2010. Grafy 18 a 19 zachycují poměrné zastoupení druhů koagulázanegativních stafylokoků, resp. zástupců rodu *Enterococcus* spp. V případě koagulázenegativních stafylokoků byl nejčastějším izolátem z povrchů *Staphylococcus hominis* (27 %), *Staphylococcus capitis* (25 %) a *Staphylococcus epidermidis* (18 %). Ostatní zástupci rodu *Staphylococcus* spp. byli biochemicky identifikováni v menší míře (např. *Staphylococcus lugdunensis* – 3 %). Z enterokoků, izolovaných z povrchů, byl nejčastějším zástupce *Enterococcus faecalis* (72 %), *Enterococcus faecium* (21 %) a nejméně častým izolátem byl *Enterococcus caseliflavus* (7 %).

Tabulka č. 9: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů izolovaných z povrchů.

Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů		
	(n)	%
Koagulázanegativní stafylokoky	516	67,4
<i>Bacillus</i> spp.	162	21,1
<i>Enterococcus</i> spp.	42	5,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	2,3
<i>Micrococcus</i> spp.	13	1,7
<i>Streptococcus</i> spp.	6	0,8
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	3	0,4
<i>Aerococcus viridans</i>	2	0,3
<i>Leuconostoc lactis</i>	1	0,1
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	0,1
<i>Globicatella sanguinis</i>	1	0,1
<i>Gemella morbillorum</i>	1	0,1
Celkem	766	100



Graf 18: Identifikované koagulázanegativní stafylokoky z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.



Graf 19: Izolované kmeny *Enterococcus* spp. z povrchů celé transplantační jednotky - odd. 5C, HOK.

4.2.3 Stanovení mikrobiologických ukazatelů speciálně upravené vody a pitné vody vodovodního řadu

- Stanovení mikrobiální kontaminace speciálně upravené vody bylo provedeno dle vyhlášky č. 252/2004 Sb. Voda byla odebrána ze sprchy a vodovodního kohoutku. Koncové výusti sprchy a vodovodního kohoutku jsou opatřeny koncovými speciálními filtry – velikost pórů membrány je 0,22 μm (Siemens, GER). Kultivace byla negativní.
- Na stejných odběrových místech byly provedeny odběry na výskyt legionely (odběr proveden osobně RNDr. V. Drašarem – NRL pro legionely). Kultivace byla negativní.
- Během studie byly provedeny odběry na sociálním zařízení z nádržky na vodu, určené ke splachování WC. Celkově byla legionela prokázána ve třech případech (tabulka 8).
- V červnu 2011 byly provedeny stěry z vnitřní stěny nádržky na vodu, určené ke splachování WC. Legionela byla prokázána v jednom případě (tabulka 9).

Po následné sekvenaci (provedené na ZÚ Ostava), byl jeden kmen určen jako *Legionella pneumophila* sg 1 a tři ostatní jako *Legionella pneumophila* sg 6A. Při šetření provedeném v březnu, kmen identifikován na sociálním zařízení izolačního boxu č. 3 a při šetření provedeném v červnu se jednalo o sociální zařízení izolačního boxu č. 1 a č. 4. Legionely byly izolovány z vody, která není chemicky ošetřena. Jednalo se o odběry z nádržky na vodu určené ke splachování WC, kde je voda určena ke splachování a stěry byly provedeny tamtéž. Hodnoty CFU/ml izolovaných legionel ve vodě jsou uvedeny v tabulce 10. Teplota vzorkované vody se pohybovala v rozmezí 11,2 °C až 13,6 °C. V tabulce 11 jsou uvedeny výsledky ze stěrů vnitřní stěny nádržky na vodu určené ke splachování WC.

Tabulka 10: Legionely izolované z vody v nádržce na vodu určené ke splachování WC. Tato voda není chemicky ošetřena.

Odběr z nádržky na vodu určené ke splachování WC (voda určená ke splachování)				
Datum	Izolační box č.	Kultivace	Kmen	CFU/100 ml
16. 3. 2011	1.	-		
	3.	+	<i>L. pneumophila</i> sg 1	2
1. 6. 2011	1.	+	<i>L. pneumophila</i> sg 6A	4
	2.	-		
	3.	-		
	4.	+	<i>L. pneumophila</i> sg 6A	14

Tabulka 11: Legionely izolované ze stěrů vnitřní stěny nádržky na vodu určené ke splachování WC.

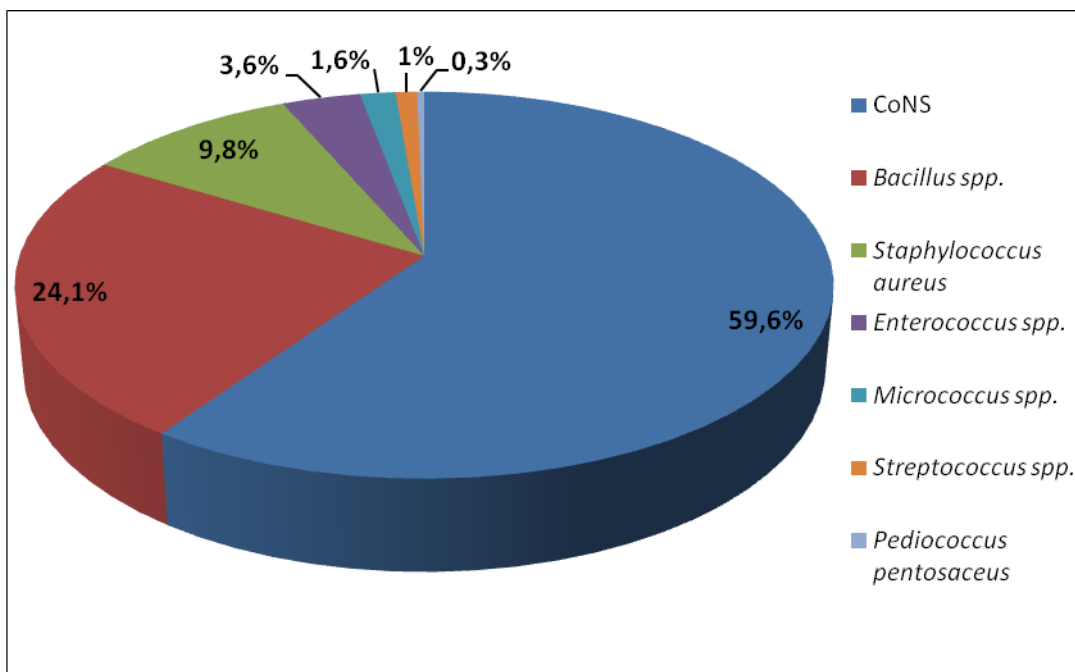
Stěry z vnitřní stěny nádržky na vodu určené ke splachování WC			
Datum	Izolační box č.	Kultivace	Kmen
1. 6. 2011	1.	+	<i>L. pneumophila</i> sg 6A
	2.	-	
	3.	-	
	4.	-	

4.2.4 Promořenost personálu epidemiologicky významnými bakteriálními kmeny

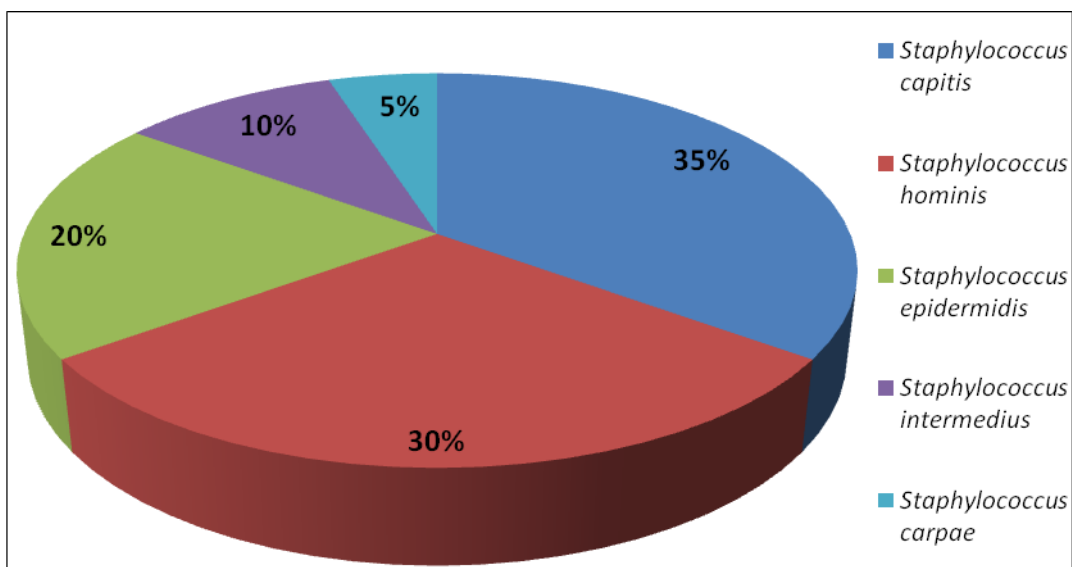
Výsledky epidemiologického šetření promořenosti personálu jsou rozděleny podle tří různých hledisek do tří skupin:

- 1) kultivačně prokázané bakteriální kmeny jsou rozděleny na grampozitivní a gramnegativní bakterie (graf 20 a 22),
- 2) výše uvedené bakteriální kmeny jsou rozděleny podle lokalizace (stěr z nosní sliznice, pravé ruky a vlasů aktuálně přítomného personálu) (graf 23 - 29) a
- 3) promořenost personálu dle profese (lékař, sestry, pracovnice úklidové firmy ISS) (tabulky 12 – 14).

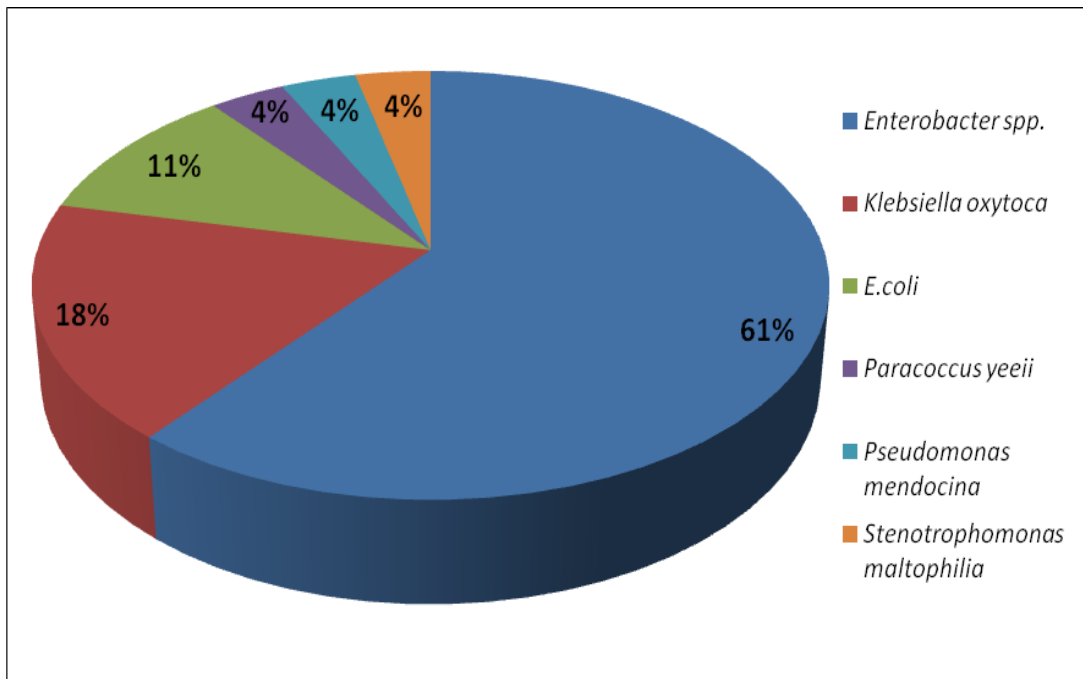
Z grampozitivních kmenů (graf 20) byly nejčastěji zastoupeny koagulázanegativní stafylokoky (59,6 %), následoval *Bacillus subtilis* (24,1 %) a *Staphylococcus aureus* (9,8 %). Ostatní grampozitivní bakteriální kmeny byly izolovány vyjíměčně (např. mikrokoky – 1,6 % a streptokoky – 1,0 %). Procentuální zastoupení identifikovaných koagulázanegativních stafylokoků je zobrazeno v grafu 21. Nejčastějším izolátem byl *Staphylococcus capitis* (35 %), *Staphylococcus hominis* (30 %) a *Staphylococcus epidermidis* (20 %). Z gramnegativních bakterií (graf 22) se jednalo o zástupce rodu *Enterobacter* spp. (61 %), kmen *Klebsiella oxytoca* (18 %) a *E. coli* (11 %), zbylé kmeny byly izolovány ojediněle (např. *Stenotrophomonas maltophilia* – 4 %). Poměrné zastoupení v rámci rodu *Enterobacter* bylo jednoznačně ve prospěch *Enterobacter aerogenes*, jehož zástupci tvořili celých 94 % všech izolovaných enterobakterů z klinického materiálu personálu. Zbylých 6 % tvořil *Enterobacter cloacae* (graf 23).



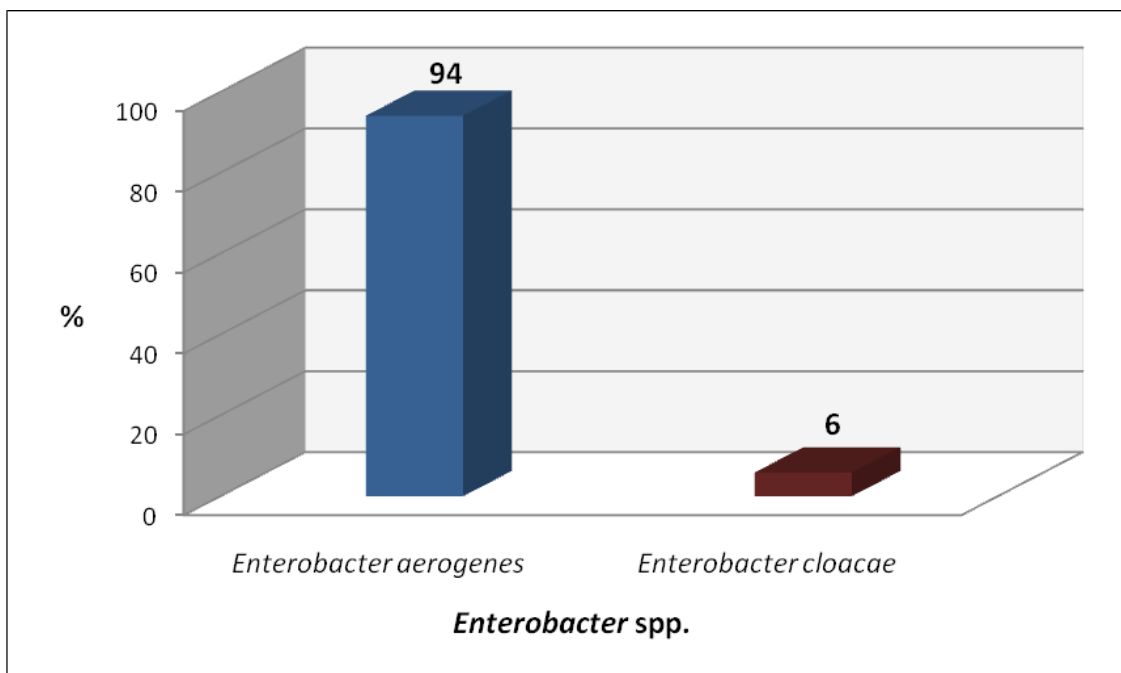
Graf 20: Zastoupení jednotlivých grampozitivních bakteriálních kmenů identifikovaných z personálu.



Graf 21: Zastoupení identifikovaných koagulázanegativních stafylokoků z personálu.

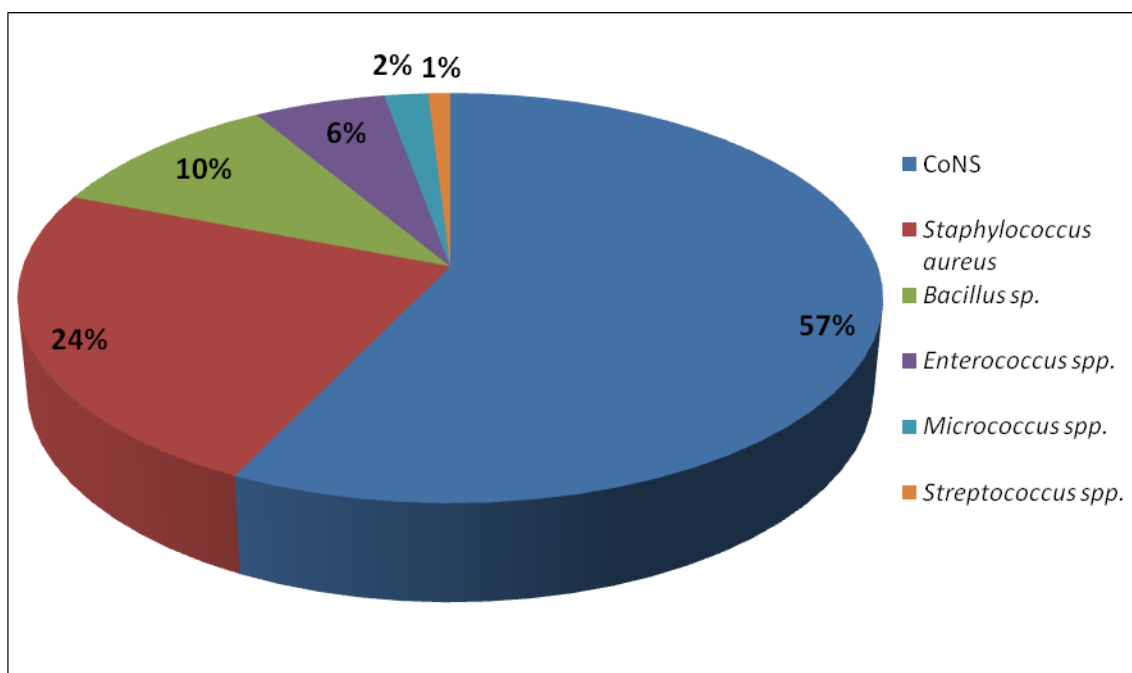


Graf 22: Zastoupení jednotlivých gramnegativních bakteriálních kmenů izolovaných z personálu.

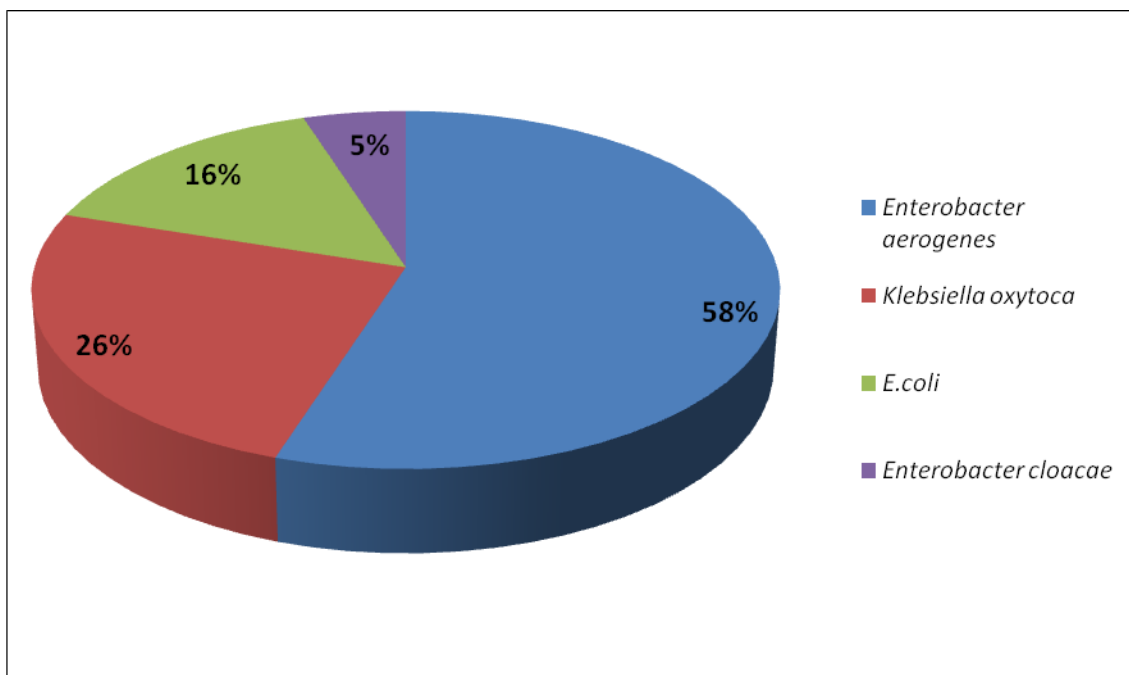


Graf 23: Biochemicky identifikované kmeny *Enterobacter spp.* získané z personálu.

Materiál získaný ze stěru nosní sliznice personálu, byl v grafech rozdělen na grampozitivní a gramnegativní bakterie (graf 24 a 25). V případě grampozitivních kmenů se jednalo nejčastěji o koagulázanegativní stafylokoky (57 %), *Staphylococcus aureus* (24 %) a zástupce rodu *Bacillus* (s výraznou převahou *Bacillus subtilis*). Z dalších izolovaných kmenů se jednalo o enterokoky, mikrokoky, případně streptokoky. V případě gramnegativních kmenů byly identifikovány *Enterobacter aerogenes* (58 %), *Klebsiella oxytoca* (26 %), *E. coli* (16 %) a *Enterobacter cloacea* (5 %).

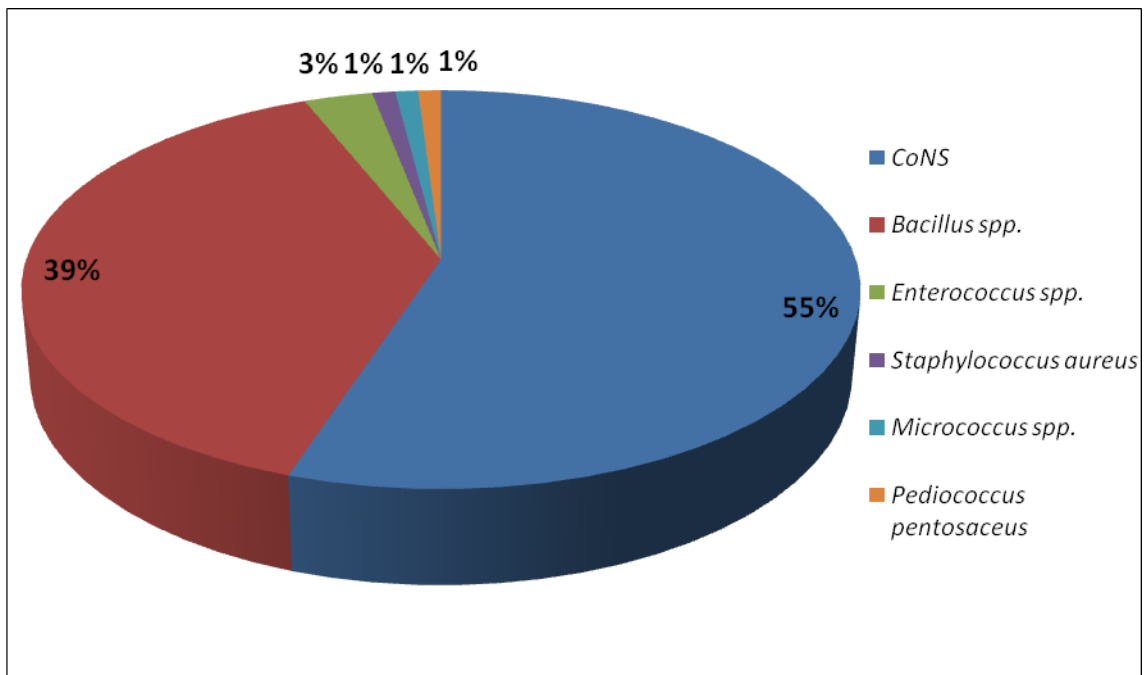


Graf 24: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů; stěr z nosní sliznice personálu.

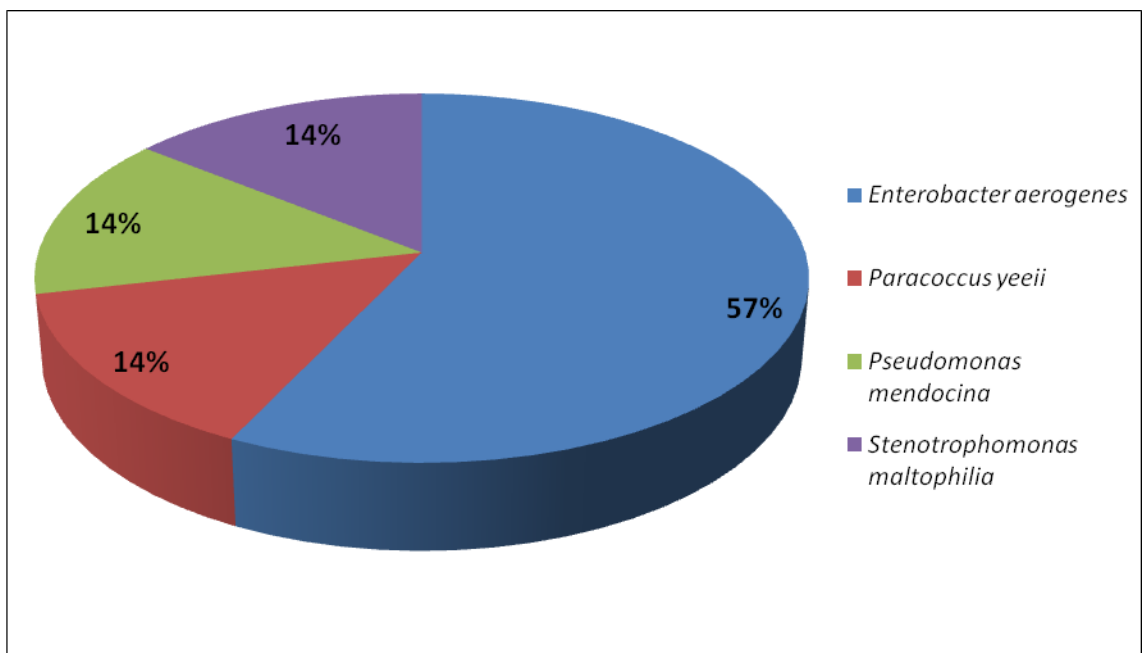


Graf 25: Zastoupení gramnegativních bakteriálních kmenů; stěr z nosní sliznice personálu.

Kmeny získané stěrem pravé ruky personálu, byly v grafech rozděleny na grampozitivní a gramnegativní (graf 26 a 27). V případě grampozitivních kmenů se jednalo nejčastěji o koagulázanegativní stafylokoky (55 %) a *Bacillus subtilis* (39 %). Zbývajících 6 % izolovaných kmenů tvořily enterokoky, *Staphylococcus aureus*, mikrokoky a *Pediococcus pentosaceus*. Gramnegativní bakteriální kmeny byly zastoupeny: *Enterobacter aerogenes* (57 %), *Paracoccus yeii* (14 %), *Pseudomonas mendocina* (14 %) a *Stenotrophomonas maltophilia* (14 %).



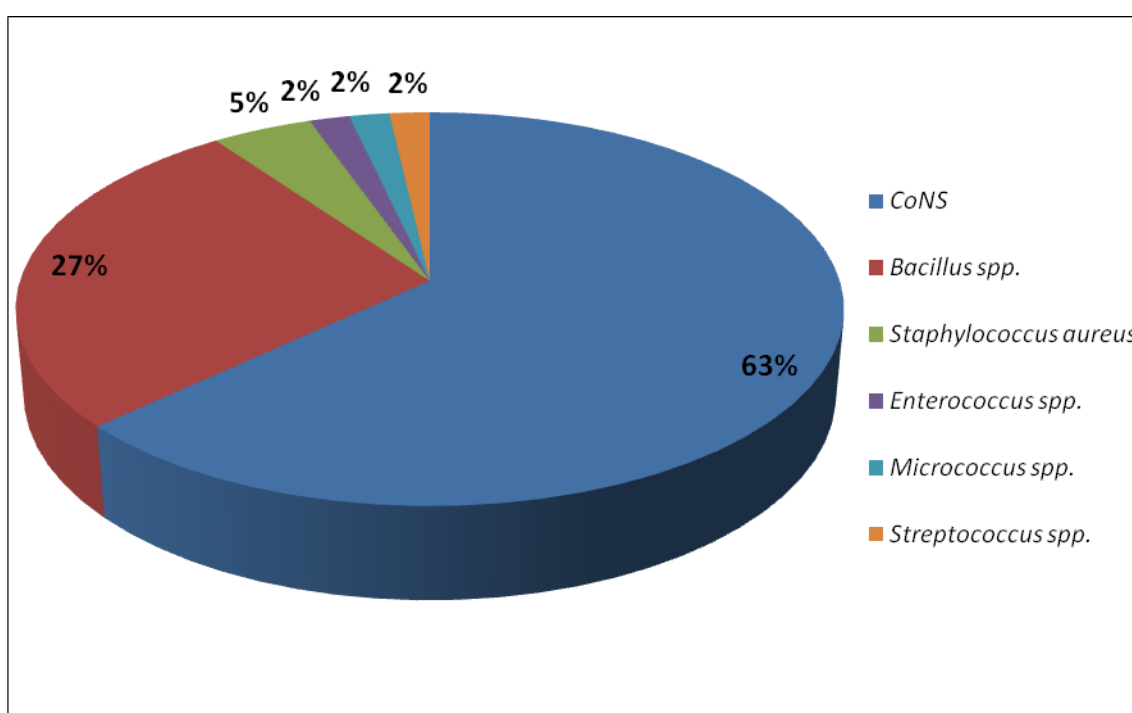
Graf 26: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů v procentech; stěr pravé ruky personálu.



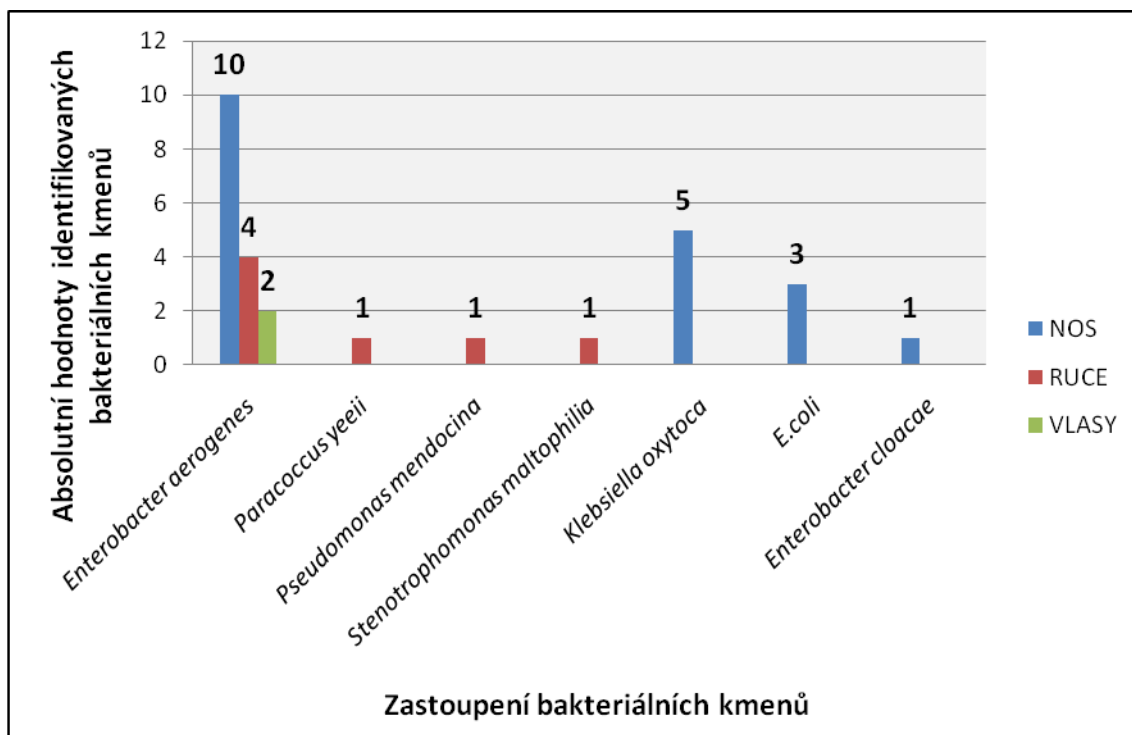
Graf 27: Zastoupení gramnegativních bakteriálních kmenů; stěr z pravé ruky personálu.

Výsledky grampozitivních bakterií, získané stěrem z vlasů, personálu jsou zobrazeny v grafu 28. V případě grampozitivních kmenů, nejčastěji byly identifikovány koagulázanegativní stafylokoky (63 %) a *Bacillus subtilis* (27 %). Zbývajících 11 % identifikovaných kmenů tvořily *Staphylococcus aureus*, enterokoky, mikrokoky a streptokoky. V případě gramnegativních bakterií se jednalo pouze o dva kmeny *Enterobacter aerogenes*.

Z tohoto grafu je zároveň patrné, že nejčastěji izolovaným bakteriálním kmenem celkově z klinického materiálu personálu byl *Enterobacter aerogenes* a nejčastějším místem záchytu gramnegativních kmenů byla nosní sliznice (graf 29).



Graf 28: Zastoupení grampozitivních bakteriálních kmenů; stěr z vlasů personálu.



Graf 29. Absolutní hodnoty identifikovaných gramnegativních bakteriálních kmenů z personálu.

V tabulkách 12 – 14 jsou uvedeny absolutní hodnoty a druhové zastoupení bakteriálních kmenů izolovaných z klinického materiálu (nosní sliznice a pravé ruka) personálu. Dle profese byl personál rozdělen na lékaře (tabulka 12), sestry (tabulka 13) a pracovnice úklidové firmy ISS (tabulka 14). Rozdělení je provedeno na základě rozdílů vykonávaných úkonů, ze kterých vyplývá následně kontakt s pacientem (lékaři, sestry – častý; pracovnice úklidové firmy ISS – žádný) a riziko zkříženého přenosu infekčních agens. V hlavních rysech jsou výsledky velmi podobné a zásadní rozdíly se zde nevyskytují. U všech profesí se z gram pozitivních kmenů nejčastěji vyskytují koagulázanegativní stafylokoky a z gramnegativních to jsou zástupci rodu *Enterobacter*. Častější je výskyt kmene *Staphylococcus aureus* na nosní sliznici u pracovnic úklidové firmy ISS, než u sester a lékařů. Dle výsledků není významný rozdíl v početním zastoupení bakteriálních kmenů na nosní sliznici pro jednotlivé profese (přepočteno na jednoho jedince). U lékařů vychází v průměru výskyt na nosní sliznici pro 6 bakteriálních kmenů, u sester 5,8 a u pracovnic úklidové firmy ISS je to 6,4. Druhové zastoupení je poměrně stálé.

Tabulka 12: Absolutní hodnoty a druhové zastoupení bakteriálních kmenů izolovaných z personálu – lékaři.

Lékaři (4)^a			
		Nos	Ruce
G+	Koagulázanegativní stafylokoky	10	14
	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	
	<i>Enterococcus faecalis</i>		1
	<i>Bacillus subtilis</i>	3	7
G-	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	
	<i>E. coli</i>	3	

^a V závorce uveden počet vyšetřovaných osob během celé doby šetření, tj. 12 měsíců

Tabulka 13: Absolutní hodnoty a druhové zastoupení bakteriálních kmenů izolovaných z personálu – sestry.

Sestry (8)^a			
		Nos	Ruce
G+	Koagulázanegativní stafylokoky	22	16
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	1
	<i>Streptococcus spp.</i>	1	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	5	1
	<i>Bacillus subtilis</i>	4	16
G-	<i>Enterobacter aerogenes</i>	7	1
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	
	<i>Pseudomonas mendocina</i>		1
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		1

^a V závorce uveden počet vyšetřovaných osob během celé doby šetření, tj. 12 měsíců

Tabulka 14: Počty a druhové zastoupení bakteriálních kmenů izolovaných z personálu - pracovnice úklidové firmy ISS.

Pracovnice úklidové firmy ISS (8)^a			
		Nos	Ruce
G+	Koagulázanegativní stafylokoky	27	24
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	
	<i>Micrococcus spp.</i>	2	1
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>		1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1
	<i>Bacillus subtilis</i>	4	14
G-	<i>Enterobacter spp.</i>	2	3
	<i>Paracoccus yeii</i>		1

^a V závorce uveden počet vyšetřovaných osob během celé doby šetření, tj. 12 měsíců

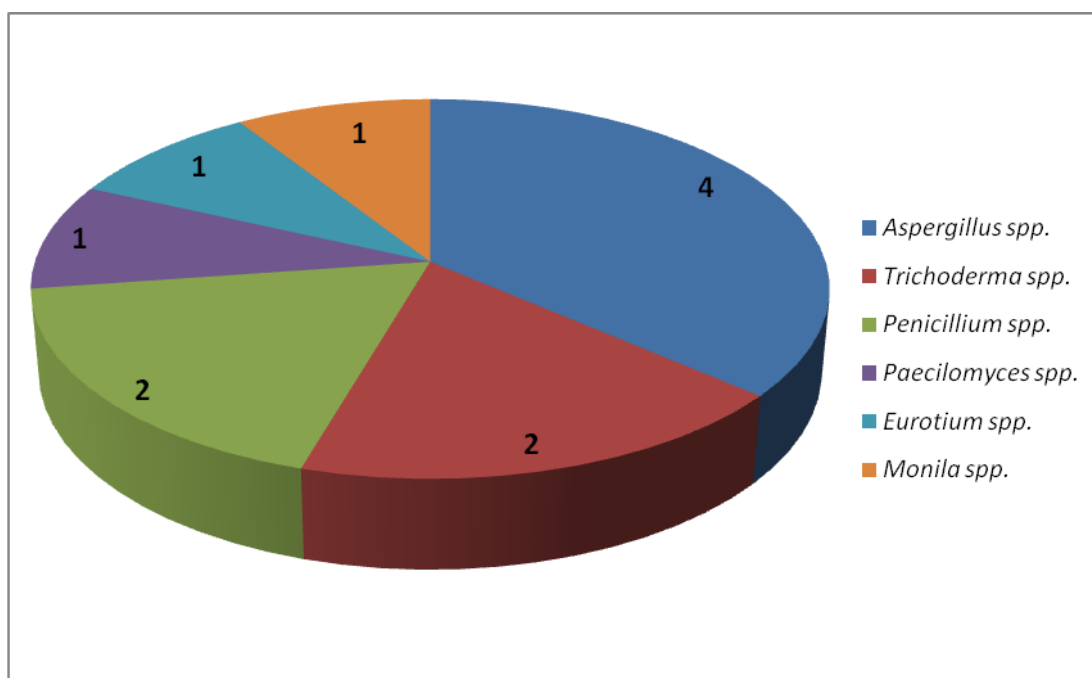
4.2.5 Identifikované mikroskopické vláknité houby ve vnitřním vzduchu

Celkem bylo provedeno 480 odběrů vnitřního vzduchu na Sabouraudův agar s chloramfenikolem, v 13 případech (tj. 2,71 %) byl kultivací prokázán zástupce mikroskopických vláknitých hub. Jen ve dvou případech se jednalo o sociální zařízení izolačního boxu pacienta, ostatní pozitivní nálezy byly ze zázemí transplantační jednotky - odd. 5C, HOK. Nejčastěji byl prokázán zástupce rodu *Aspergillus* spp. (4x), 2x byl zastoupen rod *Trichoderma* spp., 2x byl zastoupen rod *Penicillium* spp. a po jednom zástupci měly kmeny *Paecilomyces* spp., *Euopium* spp. a *Monilia* spp. (tabulka 15 a graf 29). V tabulce 15 jsou uvedeny hodnoty CFU/m³ ve vnitřním vzduchu. V grafu 29 jsou uvedeny absolutní hodnoty izolovaných mikroskopických vláknitých hub a jejich rodové zastoupení.

V době, kdy byla prováděna v přízemí budovy stavební rekonstrukce, nebyl zaznamenán v prostorech transplantační jednotky - odd. 5C, HOK zvýšený výskyt spór mikroskopických vláknitých hub. V žádném ze čtyř izolačních boxů pacientů jsme během celé doby studie neprokázali ve vnitřním vzduchu ani na površích zástupce mikroskopických vláknitých hub. Na sociálním zařízení izolačního boxu č. 2 byl ve vnitřním vzduchu prokázán kmen *Eurotium amstelodami*. Na sociálním zařízení izolačního boxu č. 4 byl prokázán kmen *Paecilomyces* spp. Vzorkování vnitřního vzduchu na sociálním zařízení probíhalo po provedení osobní hygieny pacienta. V pracovně lékaře v průběhu studie ve vnitřním vzduchu byly kultivačně prokázány kmeny *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma citrinoviride* a *Penicillium chrysogenum*. Žádný z těchto kmenů nebyl zjištěn na žádném dalším odběrovém místě vnitřního vzduchu, stěrem povrchů nebo stěrem či výtěrem u aktuálně přítomných osob. Nejčastěji izolovanou mikroskopickou vláknitou houbou byl rod *Aspergillus* spp. (1x na chodbě mezi izolačními boxy a zázemím transplantační jednotky a 3x byl prokázán ve vstupním filtru personálu). V naší studii jsme kultivačně prokázali tři kmeny aspergila. Na chodbě mezi izolačními boxy a sesternou byl prokázán *Aspergillus terreus*. V době vzorkování vnitřního vzduchu na tomto místě byly zde umístěny nové zabalené LCD obrazovky ve vrapovém papíře. Ve vstupním filtru personálu byl prokázán *Aspergillus sydowii* a *Aspergillus versicolor*.

Tabulka 15: Identifikované mikroskopické vláknité houby ve vnitřním vzduchu.

Číslo	Místo odběru	Výsledek	CFU/m ³
1.	pracovna lékaře	<i>Trichoderma harzianum</i> AK91/10	10
2.	pracovna lékaře	<i>Trichoderma citrinoviride</i>	10
3.	chodba u pracovny lékaře	<i>Aspergillus terreus</i>	10
4.	chodba - zadní část	<i>Penicillium chrysogenum</i>	10
5.	personální filtr	<i>Aspergillus sydowii</i>	10
6.	personální filtr	<i>Aspergillus versicolor</i>	10
7.	personální filtr	<i>Aspergillus sydowii</i>	10
8.	pokoj č. 4 - sociální zařízení	<i>Paecilomyces</i> spp.	10
9.	pokoj č. 4 - sociální zařízení	blíže neurčeno	10
10.	pokoj č. 2 - sociální zařízení	<i>Eurotium amstelodami</i>	10
11.	chodba - zadní část	<i>Monilia</i> spp.	10
12.	pokoj č. 4 - sociální zařízení	blíže neurčeno	10
13.	pracovna lékaře	<i>Penicillium chrysogenum</i>	10



Graf 29: Rodové zastoupení identifikovaných mikroskopických vláknitých hub, v absolutních počtech.

5 Diskuze

Nemocniční nákazy jsou dlouhodobě přetrvávajícím problémem ve zdravotnických zařízeních na celém světě více než jedno století. Představují komplex infekcí multifaktoriální etiologie. Mikroorganismy, které vyvolávají nemocniční infekce, jsou dobře známé. Znalosti o průběhu a účinné léčbě nemocničních infekcí se upřesňují v souvislosti s novými odbornými poznatky. Nicméně všechny stupně jejich prevence (úklid, dezinfekce a sterilizace, ventilace, systematické provádění kontrol v rámci prevence nemocničních infekcí, atd.) zatím nevedly k likvidaci tohoto problému (Kowalski, 2012).

Rizikové faktory pro vznik infekčních komplikací lze rozdělit na exogenní a endogenní. Mezi exogenní faktory řadíme např. léčiva, ale i prostředí zdravotnického zařízení, kde je pacient umístěn. Endogenní faktory jsou vázány na příjemce.

Každé prostředí zdravotnického zařízení má své mikrobiální osídlení. Kvalitativní i kvantitativní složení mikroorganismů se odvíjí od skladby pacientů, antibiotické politiky, používání dezinfekčních přípravků, personálního a technického vybavení. V současnosti představuje přístrojové vybavení složité prostředí s řadou míst, kde se mohou vyskytovat nenáročné mikroorganismy, dobře adaptované na specifické prostředí zdravotnického zařízení. Mezi takové adaptace patří rezistence vůči antibiotikům, dezinfekčním přípravkům a schopnost tvorby biofilmu (jak u gramnegativních, tak grampozitivních bakterií).

Ovzduší

Způsob přenosu původců nemocničních infekcí je v současné době definován a v případě přenosu vzduchem je doplněn o teoretické studie na podkladě fyzikálních zákonů o proudění vzduchu v různých typech prostorů. Na základě takto získaných výsledků je zřejmé, že přenos infekčního agens vzduchem hraje roli při vzniku mnoha nemocničních infekcí. Vzduch obsahuje jednak prachové částice a také kapénky různé velikosti. Infekční agens mohou nasedat na prachové částice nebo být obsaženy v kapénkách („kapénkové infekce“), které sedimentují a kontaminují povrchy, a topředeevším povrchy horizontální (La Rosa, 2013). V každém prostoru, kde dochází k proudění vzduchu, musíme předpokládat, že se zde uskutečňuje vzdušný přenos prachových částic a také infekčních agens. Sedimentace se uskutečňuje podle velikosti

částic v různé vzdálenosti od místa původu. Částice o velikosti $< 10 \mu\text{m}$ se poměrně dlouho udržují ve vzduchu a jsou respirabilní pacientem i personálem, pronikají do dolních dýchacích cest. Částice větší velikosti zpravidla sedimentují v blízkosti místa vzniku, kontaminují povrchy a také zdravotnické prostředky volně uložené.

Studie probíhala v prostorech s definovaným počtem částic určité velikosti v objemové jednotce vzduchu, nicméně zde nejsou splněny všechny požadavky na minimální částicovou kontaminaci vnitřního vzduchu (osobní ochranné pracovní prostředky z bavlněného materiálu, bavlněné ložní prádlo atd.). Částicová kontaminace vnitřního vzduchu během studie nebyla zjišťována. Mikroorganismy, které jsou uvolňovány z nekryté pokožky pacientů a personálu se následně dostávají do vnitřního vzduchu a v průběhu sedimentace kontaminují povrchy přímo nebo v souvislosti s prachovými částicemi. Rovněž s mnoha fyziologickými úkony člověka se do ovzduší dostává celá řada mikroorganismů (kašlání, kýchání, mluvení, jakýkoliv pohyb člověka atd.). Rovněž je zde rozhodující časový interval mezi činnostmi osob a prováděným měřením. V odborné literatuře je upozorňováno na falešně vysoké hodnoty detekovaných mikroorganismů v souvislosti s prováděným úklidem nebo z jiných příčin (Krogulski, 2011).

V těch případech, kdy uvažujeme o kultivačně prokázaných mikroorganismech, se jedná o živé bakterie. Všechna naše měření detekovala živé mikroorganismy, které byly prokázány kultivací. V ovzduší kromě toho jsou přítomné také mrtvé mikroorganismy. Zájem odborníků je v současné době zaměřen především na populaci gramnegativních bakterií. Součástí jejich buněčné stěny je endotoxin (lipopolysacharid), jehož přítomnost v ovzduší lze detekovat i kvantifikovat (Milton, 1992). Inhalovaný endotoxin může vyvolat zánětlivou reakci u lidí (Möller, 2012).

Před rokem 2002 se jako původci bakteriální infekcí u neutropenických pacientů uplatňovaly gramnegativní bakterie. V současnosti to jsou grampozitivní kmeny. Jako etiologické agens infekčních komplikací se nejčastěji uvádějí koagulázanegativní stafylokoky a mikroskopické vláknité houby. Jejich incidence stoupá od roku 2005 (Roongpoovapatr, 2010).

V průběhu studie nebyly prokázány ve vnitřním vzduchu transplantační jednotky gramnegativní bakterie. Tato populace byla identifikována pouze na površích a u personálu transplantační jednotky (Matoušková, 2012; Holý, 2012). Nejčastěji izolovanými bakteriálními kmeny z vnitřního vzduchu transplantační jednotky, odd. 5C, HOK byly koagulázanegativní stafylokoky, které tvořili 94,3 % všech zachycených

bakteriálních kmenů. Druhým nejčastěji izolovaným kmenem byl *Micrococcus* spp., který tvořil 67 % všech izolovaných kmenů a *Bacillus subtilis* (11 %). Jak uvádí Bonetta se spolupracovníky, obecně ve vnitřním vzduchu jsou nejčastěji prokázány stafylokoky a mikrokoky. Předpokládá se, že zdrojem je člověk a potom hovoříme o bioaerosolu. Na kůži byly nejčastěji nalezeny *M. lylae*, *M. luteus* a *S. saprophyticus*. *M. luteus* a *S. haemolyticus* byl nalezen ve všech vzorcích vnitřního vzduchu. Některé kmeny – *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri* a *S. hominis* možno řadit mezi podmíněné patogeny (Bonetta, 2010). Třetím nejčastěji kultivací prokázaným bakteriálním kmenem byl *Bacillus subtilis*. Domnívám se, že vehikulem této bakterie mohou být papírové jednorázové ručníky používané k osušení rukou před dezinfekcí. Několikrát byl tento kmen prokázán u personálu okamžitě po dezinfekci alkoholovým dezinfekčním přípravkem. Rovněž byl tento kmen prokázán stěrem jednorázových papírových ručníků (nepublikováno).

Naměřená hodnota mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu ve vstupním filtru personálu úzce souvisí s celkovým provozem transplantační jednotky. Kromě přesunu personálu se zde uskutečňuje i přesun různého materiálu (čisté prádlo, strava, vstup veškerého personálu atd.). Ve vstupním filtru personálu průměrná hodnota činila 1170 CFU/m³. Pro snížení bakteriální kontaminace vnitřního vzduchu v tomto prostoru by bylo vhodné umístění UV zářiče, který může být v provozu i v přítomnosti osob. Na možnost používání zdrojů UVC pro dekontaminaci kritických prostorů upozorňuje aktuálně literatura (Boyce, 2011; Rutala, 2013).

Kromě bakteriálních infekcí se velmi často u imunokompromitovaných pacientů vyskytují infekce mykotické. Invazivní mykotická onemocnění (IFD – invasive fungal diseases) jsou u imunokompromitovaných nemocných, především pacientů po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby (HSCT - Hematopoietic Stem Cell Transplantation), významnou příčinou morbidity a mortality. V profylaxi IFD se používají dva základní postupy: režimová opatření na odděleních a farmakologická profylaxe (Cetkovský, 2011). Prevenci IFD u hemato-onkologických pacientů v době nejvyššího rizika (prolongované neutropenie, imunosupresivní terapie) je možné realizovat speciálním pobytovým režimem v boxech reverzní izolace s pozitivním tlakem, tzv. „cleanroom“ s účinným vzduchotechnickým zařízením a zabudovanými HEPA filtry (VandenBergh, 1999; Nihtinen, 2007; Saravia, 2007). V některých pracích se hovoří o tzv. „Protected Environment (PE)“ = chráněné prostředí, které je určeno především pro pacienty po alogenní transplantaci kmenových buněk (Alangaden, 2011).

Technické parametry izolačních boxů s přetlakem (podtlakem) vybavených HEPA filtry mají legislativou či technickými normami stanovené parametry a zásady pro stanovení biologických kontaminant (HVAC Design Manual, 2003). Přesto je vzájemné porovnání výsledků z různých sdělení o mikrobiální kontaminaci vnitřního vzduchu v těchto prostorech velmi problematické. Na některé příčiny bychom chtěli upozornit: 1/ použití různých typů aeroskopů a odebrání různých objemů vnitřního vzduchu, 2/ měření nikdy nelze provést dle standardních doporučení – denní režim pacientů, výjimečné situace, různý počet přítomného personálu a různé jeho aktivity mohou falešně navyšovat počty kultivací prokázaných mikroorganismů, 3/ nejsou stanoveny limitní počty mikrobiální kontaminace pro tyto prostory a 4/ není přesně známa infekční dávka spor pro vyvolání např. invazivní aspergilózy.

Prezentovaná práce byla zaměřena na ověření funkčnosti třístupňové filtrace vzduchu a některých režimových opatření k minimalizaci vzniku oportunního invazivního mykotického onemocnění u pacientů hospitalizovaných na transplantační jednotce Hemato-onkologické kliniky Fakultní nemocnice Olomouc. Vzduchotechnické zařízení je validované v pravidelných intervalech. V době, kdy byla prováděna v přízemí budovy stavební rekonstrukce, nebyl zaznamenán v prostorech transplantační jednotky zvýšený výskyt spor mikroskopických vláknitých hub. V žádném ze čtyř izolačních boxů jsme během celé doby studie neprokázali ve vnitřním vzduchu ani na površích zástupce mikroskopických vláknitých hub. Na sociálním zařízení izolačního boxu č. 2 byl ve vnitřním vzduchu prokázán kmen *Eurotium amstelodami*. Tento kmen bývá prokazován ve vnitřním vzduchu domácích obydlí nebo farem a je označován za původce respiračních onemocnění, jako je alergická alveolitida a alergická pneumonitis tzv. farmářská plíce a atopické astma (Roussel, 2010; Bellanger, 2011). Způsob přenosu exogenního patogena na hostitele se děje nejčastěji vzduchem z neživého vehikula. Vzhledem k tomu, že místnost sociálního zařízení je vybavena pouze odtahem vnitřního vzduchu, je pravděpodobné, že kmen byl vnesen do tohoto prostředí v souvislosti s provozem. Na sociálním zařízení izolačního boxu č. 4 byl prokázán kmen *Paecilomyces* spp. Warris (2001) se spolupracovníky prokázali kmen *Paecilomyces* spp. ve vodě odebrané z vodovodního kohoutku i sprchy na pediatrické transplantaci jednotce National Hospital University v Oslo. Vzorkování vnitřního vzduchu na sociálním zařízení probíhalo po provedení osobní hygieny pacienta. Je možné uvažovat o vodním aerosolu jako o možném vehikulu *Paecilomyces* spp. Vzhledem k tomu, že rozvody pitné vody ve FN Olomouc nebyly nikdy

kontrolovány na výskyt mikroskopických vláknitých hub, nelze tedy tuto domněnku potvrdit ani vyvrátit. Tento druh je celosvětově rozšířen. Často se objevuje jako kontaminanta sterilních roztoků a je rezistentní k většině používaných sterilizačních technik (Pastor, 2006). Kmen *Paecilomyces lilacinus* rovněž kontaminoval roztok pro ošetření kůže a vyvolal kožní infekci u pacientů po transplantaci kostní dřeně. Za vstupní bránu tohoto infekčního agens je považován dýchací trakt a kůže (Orth, 1996). *Paecilomyces lilacinus* je řazen mezi nastupující oportunní patogeny postihující imunosuprimované i imunokompetentní děti a dospělé (Walsh, 1999).

Kmen *Chrysonilia sitophila* se vyskytuje ubikvitěrně v teplých oblastech Evropy od Španělska až po Švýcarsko. Nachází se na rostlinách a jen zřídka v souvislosti s lidmi. Jsou popsány případy pracovního astmatu u jedinců, kteří se účastní zpracování kávy (Francuz, 2010).

V pracovně lékaře v průběhu studie ve vnitřním vzduchu byly kultivačně prokázány kmeny *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma citrinoviride* a *Penicillium chrysogenum*. Žádný z těchto kmenů nebyl zjištěn na žádném dalším odběrovém místě vnitřního vzduchu, stěrem povrchů nebo stěrem či výtěrem u aktuálně přítomných osob. Rod *Trichoderma* spp. zahrnuje druhy všeobecně rozšířené, vyskytující se v půdě, tlejícím dřevě, kompostu a jiných organických látkách, není patogenní pro zdravé savce. Od druhé poloviny 90. let minulého století se objevují častěji kazuistiky fatálních oportunních infekcí vyvolané zástupci rodu *Trichoderma* spp. především u imunosuprimovaných pacientů (po transplantaci ledvin, pacienti s peritoneální dialýzou, chronickým plicním onemocněním, po transplantaci kostní dřeně atd.) (Guarro, 1999). Kmeny *Trichoderma harzianum* a *Trichoderma citrinoviride* jsou považovány za nastupující původce závažných mykotických infekcí u imunosuprimovaných, zejména hemato-onkologických pacientů. Často vykazující rezistenci vůči antimykotikům (Kviliute, 2008; Kratzer, 2006; Richter, 1999).

Rod *Penicillium* spp. má přibližně 225 druhů, které jsou všudypřítomné, především v půdě, tlející vegetaci a ve vzduchu. Druhy *Penicillium* spp. mají nízkou patogenitu. Infekce způsobené kmenem *Penicillium chrysogenum* jsou popsány u imunosuprimovaných pacientů (D'Antonio, 1997) a zcela ojediněle u jedinců imunokompetentních (Barcus, 2005).

Nejčastěji izolovanou mikroskopickou vláknitou houbou byl rod *Aspergillus* spp. (1x na chodbě mezi izolačními boxy a zázemím transplantační jednotky a 3x byl prokázán ve vstupním filtru). Rod *Aspergillus* spp. patří mezi saprofyty, je ubikvitěrně

rozšířen v prostředí a tvoří až 40 % mykotické flóry jak v domácím, tak v nemocničním prostředí. Je rozšířen celosvětově a infekce, které vyvolává u imunokompromitovaných jedinců jsou popisovány z celého světa (Alangaden, 2011; Bhatti, 2006; Fridkin, 1996). Nachází se zejména v přírodním materiálu, půdě, tlejícím dřevě, ale také ve starém zdivu. Během stavebních rekonstrukcí dochází k uvolnění konidií (asexuálních spor) aspergilů do ovzduší. Pokud toto probíhá ve zdravotnických zařízeních, imunosuprimovaní pacienti jsou pak v riziku vzniku invazivní plicní aspergilózy. Korelace mezi intenzitou kontaminant vnitřního vzduchu a počtem pacientů s invazivní aspergilózou nebyla nalezena všemi autory (Lee, 2012; Berger, 2011; Bergeron, 2011; Chang, 2008; Pini, 2007; Sautour, 2007). Existuje téměř 200 druhů aspergilů, ale pouze 30 z nich vyvolává léze u lidí a zvířat. Jedná se o lokalizované infekce kůže nebo jejich derivátů, ale také vyvolávají IFD s fatálním koncem. Kmen *A. fumigatus* je nejčastější příčinou invazivní plicní aspergilózy (až v 90 %). Průměrná velikost konidií *A. fumigatus* (2-3 μm) je ideální pro hlubokou infiltraci do alveolů. Velikost konidií ostatních aspergilů je podstatně větší. *A. flavus* vyvolává mykotoxikózy a na další místa jsou řazeni *A. terreus*, *A. niger* (Alangaden, 2011; Dagenais, 2009). Hlavním vehikulem, kterým se přenášejí vzdušná konidia (spóry) mikroskopických vláknitých hub je vzduch a v menší míře také voda (Hageskal, 2011; Anaisse, 2003; Warris, 2001). Kromě rezistence na antimykotické preparáty byla také prokázána snížená citlivost až rezistence u patogenních kmenů *Aspergillus* spp. a *Candida albicans* na chlor, který byl použit ve stejné koncentraci, jako je obsažen v pitné vodě. *A. niger* vykázal největší rezistenci ze všech testovaných kmenů (Sisti, 2012). Za primární způsob vzniku lidské infekce se považuje inhalace vzdušných konidií (Alangaden, 2011; Crimi, 2006). Vdechnutí kontaminované vody je sporné (Anaissie, 1998). Jen zřídka se objeví invazivní plicní onemocnění u imunokompetentních osob.

V předkládané práci byly kultivačně prokázány tři kmeny aspergila. Na chodbě mezi izolačními boxy a sesternou byl prokázán *Aspergillus terreus*. V době vzorkování vnitřního vzduchu na tomto místě byly zde umístěny nové zabalené LCD obrazovky ve vrapovém papíře. Dekontaminace porézních materiálů nemusí být vždy dokonalá. Na vyšší výskyt *A. terreus* jak v prostředí, tak v klinickém materiálu je upozorňováno z USA i některých evropských zemí. Je zdůrazňována především jeho rezistence in vitro vůči amfotericinu B (Pemán, 2012; Balajee, 2009; Baddley 2003). Ve vstupním filtru byl prokázán *Aspergillus sydowii* a *Aspergillus versicolor*. Z literatury jsou známé případy onychomykózy nebo peritonitidy v souvislosti s peritoneální dialýzou (Veraldi,

2009; Takahata, 2008; Chiu, 2005). Tyto nálezy by mohly mít souvislost s přezůvkami veškerého personálu, které se zde odkládají. Tři kmeny *Aspergila*, které byly detekované ve vnitřním vzduchu vstupního filtru, považujeme za možné riziko kontaminace prostředí transplantační jednotky. Prostor vstupního filtru považujeme za kritický vzhledem k tomu, že na cca 9 m² se veškerý personál převléká do sterilních osobních ochranných pomůcek. Dochází zde k velmi úzkému kontaktu tzv. „čisté“ a „nečisté“ části této jednotky. Výměna vzduchu se děje jen odtahem a přísun jen během otevírání dveří. Rovněž přes tuto místnost se děje přísun vyhřívaného boxu se stravou pro pacienty i personál. Pro snížení rizika výskytu mikroskopických vláknitých hub v tomto prostoru by bylo vhodné zde umístit u vstupních dveří svislý UV zářič s krytem, který může být v provozu i za přítomnosti osob.

Obecně platí, že alogenní HSCT recipienti jsou ve větším riziku IFD ve srovnání s autologními HSCT recipienty. Neutropenie bývá považována za hlavní rizikový faktor pro vznik mykotické infekce během časně transplantační doby (prvních 30 dnů). Imunosupresivní terapie proti Graft-Versus-Host Disease (GVHD) je hlavní rizikový faktor následné – pozdější transplantační doby (Alangaden, 2011). V literatuře posledních několika roků je věnována velká pozornost genetickému polymorfismu vrozené imunity u transplantovaných. Jsou studovány Toll-like receptory (TLR), některé cytokiny a cytokinové receptory. Tyto prvky pravděpodobně rozhodují o odolnosti pacienta po alogenní transplantaci vůči spórám *Aspergillus fumigatus* (Carvalho, 2012a; Carvalho, 2012b). Ve většině případů se aspergilóza vyskytuje sporadicky, jen zřídka se objeví více případů současně (outbreak) (Ben-Ami, 2009). V případě alogenních transplantací mortalita na aspergilózu může dosáhnout až 90 %. Infekce v 77 % bývá lokalizována v plicích, nejčastěji prokázaným aspergilem byl *A. fumigatus* a *A. flavus*. Pokud je pacient vystaven prostředí, které je kontaminováno sporama aspergilů, pak inhalace spor se považuje za primární způsob vzniku získané invazivní aspergilózy. Wingard (1987) se spolupracovníky uvádějí, že invazivní aspergilóza je považována za endogenní infekci u pacientů po transplantaci kostní dřeně nebo leukemických pacientů, pokud jsou hospitalizováni ve speciálních izolačních boxech, kde zkřížená infekce je minimalizována. Přes veškeré pokroky v urychlení diagnostiky a profylaktické léčbě fungicidními preparáty došlo v posledních třech dekádách k vzestupu invazivních mykotických infekcí. Vzestupný trend těchto infekcí souvisí se zvětšováním se populace rizikových pacientů a také s častější frekvencí rezistence na antimykotické preparáty (Klassen 2012).

Neméně významnou skupinou infekčních agens, které mohou u imunokompromitovaných pacientů vyvolat závažné infekční komplikace, jsou viry. Běžně se ovšem takováto šetření neprovádějí. Jedním z důvodů je ekonomická otázka a zároveň obtížný kultivační průkaz těchto agens. Pokud se týče samotného zachytu virových agens, tak se provádí na základě průkazu nukleových kyselin přítomných v ovzduší případně na površích. Jedna z takových studií zaměřených čistě na výskyt virových agens v prostředí vnitřního vzduchu provedla La Rosa. Výsledky publikovala v roce 2013, kde mimo jiné prokázala velmi snadný přenos rhinovirů, coronavirů a adenovirů ve vnitřním prostředí (La Rosa, 2013).

Povrchy

Povrchy, pokud se týče rizika přenosu a vzniku infekčních komplikací jsou děleny do třech kategorií: kritické, semikritické a nekritické.

Do kategorie kritických povrchů řadíme:

Chirurgické nástroje, katétrů, implantáty. Obecně veškeré plochy, které přicházejí do přímého kontaktu s primárně sterilními tkáněmi, vstupují do krevního řečiště atd.

Semikritické povrchy:

Přicházejí do kontaktu s mukózními sliznicemi, případně neporušenou pokožkou. Řadíme zde např. respirátory, endoskopy, cystoskopy.

Nekritické povrchy:

Jsou takové, které přicházejí do kontaktu s pokožkou, nikoliv však s mukózními sliznicemi. Neporušená pokožka je účinná bariéra proti průniku infekčního agens, a proto sterilita takovýchto povrchů není „kritická“. Do této kategorie se řadí například ložní prádlo pacienta, tonometry, ústní roušky, podnosy na jídlo, ale i podlahové plochy. Mikroorganismy, které jsou uvolňovány z nekryté pokožky pacientů a personálu se dostávají do vnitřního vzduchu a v průběhu sedimentace kontaminují povrchy přímo nebo v souvislosti s prachovými částicemi. Rovněž s mnoha fyziologickými úkony člověka se do ovzduší dostává celá řada mikroorganismů (kašlání, kýčání, mluvení, jakýkoliv pohyb člověka atd.). Rovněž je zde rozhodující časový interval mezi činnostmi osob a prováděným měřením. V odborné literatuře je upozorňováno na falešně vysoké hodnoty detekovaných mikroorganismů v souvislosti s prováděným úklidem nebo z jiných příčin (Krogulski, 2011). V literatuře je potvrzeno, že např. *Staphylococcus epidermidis*, při vhodné vlhkosti, může přežívat na površích až 5 dní (Thompson, 2011).

V těch případech, kdy uvažujeme o kultivačně prokázaných mikroorganismech, se jedná o živé bakterie. Všechna naše měření detekovala živé bakterie, které byly prokázány kultivací.

Studie prováděné v sedmdesátých a osmdesátých letech minulého století nepřikládaly velký význam kontaminovaných povrchům, kterým je v současné době přikládána důležitost v souvislosti s možným šířením nemocničních kmenů. V současné době je názor na problematiku kontaminovaných povrchů zcela jiný. Jedná se především o bakteriální kmeny vankomycin-rezistentní enterokoky, meticilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a některé viry, které v souvislosti s klinickým průběhem onemocnění mohou kontaminovat povrchy v dosti velké vzdálenosti od pacienta a následně rukama personálu mohou být rozšiřovány (Otter, 2011). V odborné literatuře se objevují i názory zcela opačné. Knochen se spolupracovníky uvádí studii, kde bylo ověřeno, že v případě laminárního přísunu upraveného vzduchu, není potřeba dezinfekce podlahy mezi jednotlivými chirurgickými zákroky na operačním sále. Dezinfekci podlahy je nutné provést jen v případě viditelné kontaminace. Ve studii byly sledovány infekční komplikace po chirurgickém zákroku na očích (Knochen, 2010).

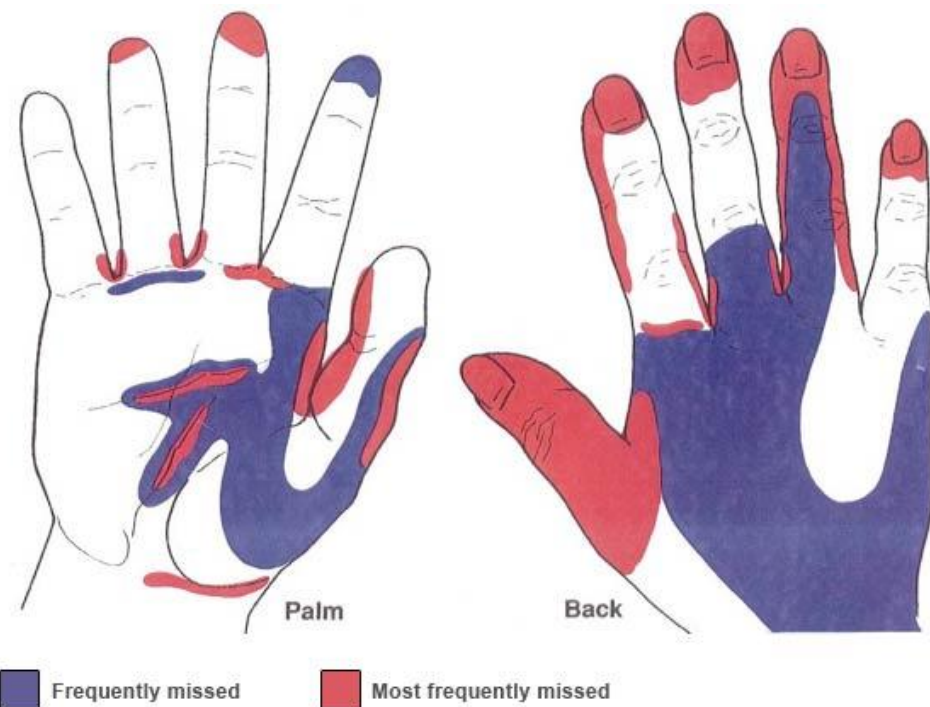
Všechny námi izolované gramnegativní bakteriální kmeny představují pro imunosuprimované pacienty riziko vzniku infekcí s možnými závažnými až fatálními následky (Ram, 2012). Dále je nutné počítat s tím, že pseudomonády jsou odolné vůči dezinfekčním přípravkům na bázi kvarterních amoniových solí, ve kterých se mohou dokonce i množit (Krbková, 2009). Všichni námi izolovaní zástupci z čeledi *Pseudomonaceae* jsou v literatuře popsáni jako kmeny se schopností tvorby biofilmu. Produkce biofilmu je velmi závažným problémem a to jak v souvislosti se zavedenými centrálními venózními katétry tak i s jejich nálezem v prostředí jako jsou výpusti umývadla a sprch. Biofilm zvyšuje rezistenci jednotlivých bakterií vůči antibiotikům a dezinfekčním přípravkům (Morfin-Otero, 2012; Bridier, 2011; Mann, 2012). V této souvislosti je naprosto nezbytná ne jenom důkladná chemická dezinfekce, ale její kombinace s mechanickou očištěním. S tím však souběžně souvisí i náležitá antibiotická terapie pacientů, správná implementace sterilizačních metod a dodržování postupů pro kontrolu a prevenci vzniku nemocničních nákaz. Prostředí těchto oddělení je specifické svým obrovským selekčním tlakem na veškeré mikroorganismy, ať už je vyvolán antibiotiky nebo dezinfekčními přípravky. Během studie byly popsány kmeny jednak dobře citlivé na antibiotika, ale i kmeny multirezistentní

(např. *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*). Jelikož většinou byly tyto kmeny izolovány z vlhkého prostředí, jako např. výpusti sprch a umývadel, lze předpokládat, že ve zvýšené rezistenci na antibiotika se zde výrazně uplatňuje právě role tvorby biofilmu.

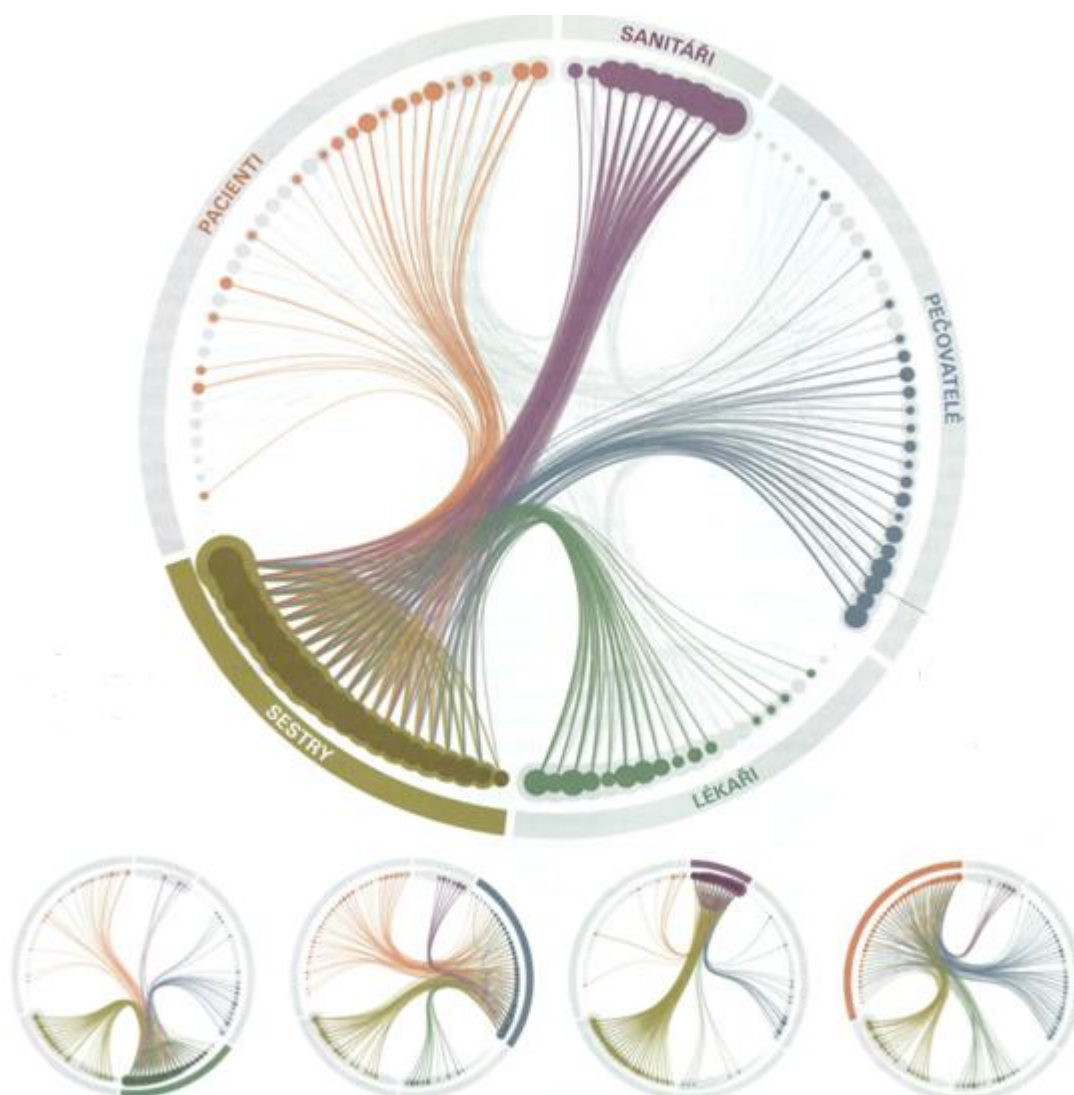
Personál

Personál hraje při přenosu infekčních agens v nemocničním prostředí naprosto kritickou roli. Což je dáno nemožností personál eliminovat z ošetřujícího procesu a naprostou nutností jeho přítomnosti. Zároveň jsou ruce personálu stále považovány za jeden z nejvýznamnějších vektorů pro přenos infekčních agens. Během studie byl personál monitorován v pravidelných měsíčních intervalech. Stěry byly prováděny z nosní sliznice, pravé ruky a z vlasů. Tato místa byla vybrána s ohledem na možnosti přenosu agens na pacienta a tím pádem bylo možné identifikovat případné riziko v ošetrovacím procesu. Přičemž nejzávažnější jsou izoláty z rukou (přímý kontakt s pacientem) a z nosní sliznice (nosičství, zvláště kmen *Staphylococcus aureus*).

O roli rukou personálu, jako klíčovým vektorem pro přenos infekčních agens a vznik nozokomiálních nákaz se ví už delší dobu. Ovšem studií o roli rukou pacientů pro takový to přenos je velmi málo a objevují se až v poslední době. Jednu takovou studii provedl Hedin se spolupracovníky ve Švédsku, kde bylo zjištěno, že ruce pacientů jsou neméně významným vektorem pro přenos infekčního agens (Hedin, 2012). Na obrázku 4 jsou modrou a červenou barvou zvýrazněna místa, která se běžně při mytí rukou vynechávají. Z obrázku 5 je patrné, že nejčastější cestou přenosu infekčních agens je kontakt mezi sestrami a pacientem. Je to dáno nejčastějším kontaktem právě mezi těmito skupinami populace v nemocničním prostředí. Na obrázku 6 je znázorněno pět základních situací pro hygienu rukou zdravotnického personálu právě v souvislosti se zamezením přenosu infekčních agens.



Obrázek 4: Nejčastěji opomíjená místa při mytí rukou. (Zdroj: Witt, 2008)



Obrázek 5: Kontakty a jejich četnost mezi různými profesemi a pacienty v nemocničním prostředí. (Zdroj: Scientific American, 2013)

Interakce

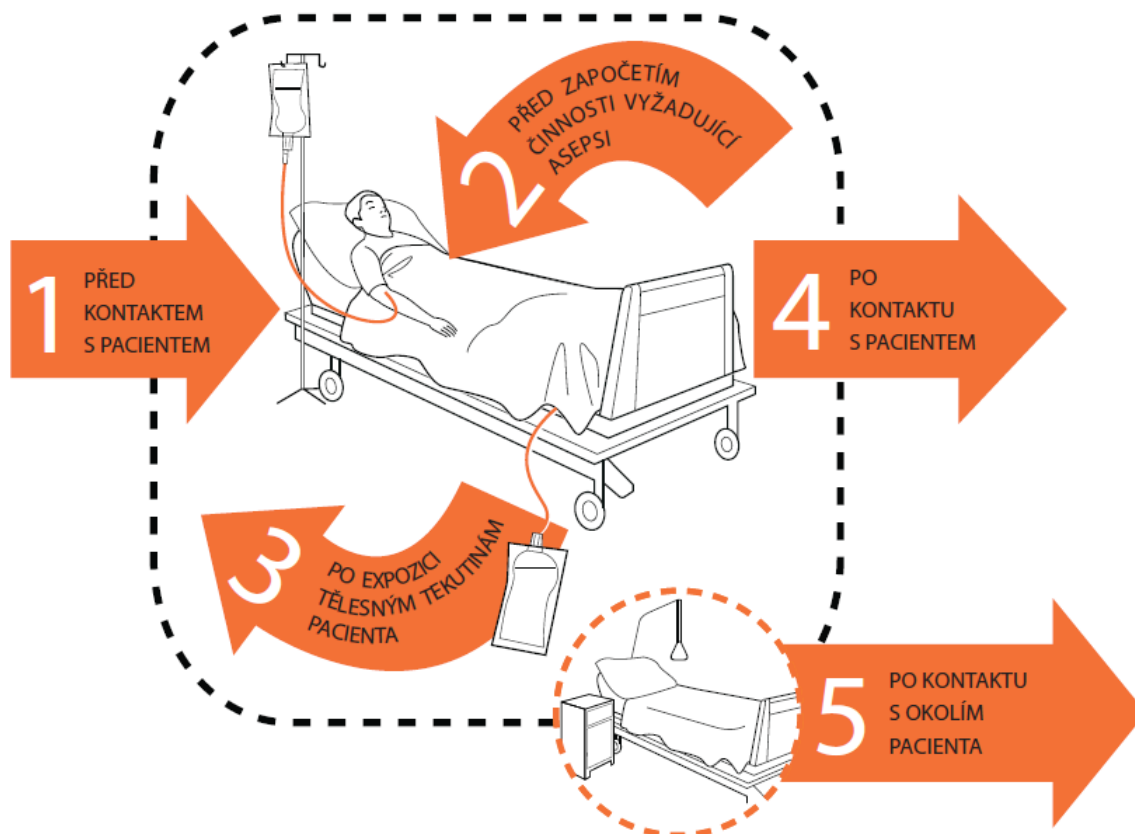
Každá čára představuje nejméně jeden minutový či delší kontakt mezi jedinci na oddělení tvář v tvář na vzdálenost asi 1,5 metru.

Skupiny

Sestry interagují s lidmi po celém oddělení – v případě výskytu nákazy by mohly nemoc šířit. Podobné mapy se zaměřují na (zleva doprava) lékaře, pečovatele, sanitáře a pacienty.

Lidé

Velikost šedého uzlu odráží celkový počet kontaktů dané osoby. Vybarvený vnitřní kroužek představuje pouze kontakty s vybranou skupinou.



Obrázek 6: Pět základních situací pro hygienu rukou. (Zdroj: MZČR, 2009)

6 Závěr

Nemocniční nákazy jsou stále velmi závažným problémem ve zdravotnických zařízeních. Ani v éře stále nových antibiotik, léků a léčebných postupů se nejedná o problém, který by ustupoval do pozadí, případně by měl stát na okraji našeho zájmu. Nemocniční nákazy mohou vyvolávat velmi závažné komplikace, které mohou být u imunosuprimovaných pacientů fatální. Důsledky takovýchto infekcí nejsou pouze zdravotní, ale i ekonomické a personální.

Během doby šetření mikrobiální kontaminace vzduchu, nebylo zjištěno extrémních výkyvů v hodnotách kultivací prokázaných mikroorganismů. Za rizikové místo pro šíření infekčních agens do prostorů transplantační jednotky – odd. 5C HOK, je možné považovat vstupní filtr personálu na toto oddělení. V jednom případě byla naměřena extrémní hodnota (7270 CFU/m³), pro kterou nelze najít dostatečné vysvětlení.

Pro snížení bakteriální kontaminace vnitřního vzduchu v prostoru vstupního filtru personálu by bylo vhodné umístění UV zářiče, který může být v provozu i v přítomnosti osob. Na možnost používání zdrojů UVC pro dekontaminaci kritických prostorů upozorňuje aktuálně literatura, kdy dochází k redukci CFU před a po použití UV zářiče o dva řády (Rutala, 2013).

Závěrem lze konstatovat, že režimová opatření realizovaná na základě provozního řádu toho oddělení, jsou plně účinná a nebylo zjištěno více nedostatků.

7 Literatura

Anaissie EJ. Emerging fungal infections: Don't drink the water (abstr. 640) Abstracts of the 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego. 1998.

Anaissie EJ, Stratton LS, Dignani MC, et al. Pathogenic molds (including *Aspergillus* species) in hospital water distribution systems: a 3-year prospective study and clinical implication for patients with hematologic malignancies. *Blood*. 2003; 101(7):2542-2546.

Aebi C. *Moraxella catarrhalis* - pathogen or commensal? *Adv Exp Med Biol*. 2011; 697: 107-16.

Abdalla J, Saad M, Samnani I, et al. Central nervous system infection caused by *Morganella morganii*. *Am J Med Sci*. 2006; 331:44-7.

Al-Anazi KA, Al-Jasser AM, Al-Zahrani HA, et al. *Klebsiella oxytoca* bacteremia causing septic shock in recipients of hematopoietic stem cell transplant: Two case reports. *Cases J*. 2008; 18:160.

Alangaden GJ. Nosocomial Fungal Epidemiology, Infection Control, and Prevention. *Infect Dis Clin N Am*. 2011; 25: 201-225

Alebouyeh M, Gooran Orimi P, Azimi-Rad M, et al. Fatal sepsis by *Bacillus circulans* in an immunocompromised patient. *Iran J Microbiol*. 2011; 3(3):156-8.

Aumeran C, Paillard C, Robin F, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* outbreak associated with contaminated water outlets in an oncohaematology paediatric unit. *J Hosp Infect*. 2007; 65:47-53.

Baddley JW, Pappas PG, Smith AC, et al. Epidemiology of *Aspergillus terreus* at a University Hospital. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(12): 5525-5529.

Balajee SA, Kano R, Baddley JW, et al. Molecular identification of *Aspergillus* species collected for the Transplant-Associated Infection Surveillance Network. *J Clin Microbiol*. 2009; 47(10): 3138-3141.

Banerjee C, Bustamante CI, Wharton R, et al. *Bacillus* infections in patients with cancer. *Arch Intern Med*. 1988; 148: 1769-74.

Barcus AL, Burdette SD, Herchline TE. Intestinal invasion and disseminated disease associated with *Penicillium chrysogenum*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2005; 21(4): 21.

Ben-Ami R, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Invasive mould infections in the setting of hematopoietic cell transplantation: current trends and new challenges. *Curr Opin Infect Dis*. 2009; 22: 376-384.

- Bernard S, Mailles A, Stahl JP. Epidemiology of infectious encephalitis, differences between a prospective study and hospital discharge data. *Epidemiol Infect.* 2012; 21: 1-13.
- Bednář M, Fraňková V, Schindler J, et al. *Lékařská mikrobiologie*. 1. vyd. Praha, Marvil. 1996.
- Bellanger A-P, Millon L, Rognon B, et al. Variable beta-glucans production by different states of *Eurotium amstelodami* explains different inflammatory responses in airway cells. *APMIS*. 2011; 119: 605-610.
- Berger J, Willinger B, Diab-Elschahawi M, et al. Effectiveness of preventive measures for hemato-oncologic patients undergoing stem cell transplantation during a period of hospital construction. *Am J Infect Control*. 2011; 39(9): 746-751.
- Bergeron V, Chalfine A, Misset B, et al. Supplemental treatment of air in airborne infection isolation rooms using high-throughput in-room air decontamination units. *Am J Infect Control*. 2011; 39: 314-320.
- Bhatti Z, Shaikat A, Almyroudis NG, et al. Review of epidemiology, diagnosis, and treatment of invasive mould infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mycopathologia*. 2006; 162(1): 1-15.
- Bláha M, Měrka V. *Podpůrná léčba útlumů krvetvorby*. 1. vyd. Praha, Naše vojsko. 1986. Kapitola Prevence infekčních komplikací, s. 205-289.
- Bodey GP, Freireich EJ, Frei E III. Studies of patients in a laminar air flow unit. *Cancer*. 1969; 24(5): 972-980.
- Bonetta S, Bonetta S, Mosso S, et al. Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian office building equipped with an HVAC system. *Environ Monit Assess*. 2010; 161: 473-483.
- Boyce JM, Havill NL, Moore BA. Terminal decontamination of patient rooms using an automated mobile UV light unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2011; 32(8): 737-42.
- Bridier A, Briandet R, Thomas V, et al. Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling*. 2011; 27: 1017-1032.
- Carter JE, Evans TN. Clinically significant *Kluyvera* infections. *Am J Clin Pathol*. 2005; 123: 334-338.
- Carvalho A, De Luca A, Bozza S, et al. TLR3 essentially promotes protective class I-restricted memory CD8+ T-cell responses to *Aspergillus fumigatus* in hematopoietic transplanted patients. *Blood*. 2012b; 119(4): 967-77.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for environmental infection control in health-care facilities: recommendations of CDC and the Healthcare

Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR*. 2003; 52(No. RR-10).

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: Listeria illnesses, deaths, and outbreaks--United States, 2009-2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013; 62: 448-52.

Cetkovský P. Profylaxe invazivních mykotických onemocnění u hematologických nemocných. *Farmakoterapie*. 2011; 7(3): 365-366.

Chang CC, Cheng AC, Devitt B, et al. Successful control of an outbreak of invasive aspergillosis in a regional haematology unit during hospital construction works. *J Hosp Infect*. 2008; 69: 33-38.

Chiu XL, Liaw SJ, Wu VC, et al. Peritonitis caused by *Aspergillus sydowii* in a patient undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Infect*. 2005; 51(3): e159-e161.

Chotikanatis K, Bäcker M, Rosas-Garcia G, et al. Recurrent intravascular-catheter-related bacteremia caused by *Delftia acidovorans* in a hemodialysis patient. *J Clin Microbiol*. 2011; 49(9): 3418-21.

Crimi P, Valquisti M, Macrina G, et al. Evaluation of microbial contamination of air in two haematology departments equipped with ventilation systems with different filtration devices. *J Prev Med Hyg*. 2009; 50(1): 33-36.

ČSN EN ISO 14644-1 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Část 1: Klasifikace čistoty vzduchu

ČSN EN ISO 14644-5 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Část 5: Provozování

ČSN EN ISO 14644-6 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Část 6: Slovník

ČSN EN ISO 14698-1 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Regulace biologického znečištění – Část 1: Hlavní principy a metody

ČSN EN ISO 14698-2 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Regulace biologického znečištění – Část 2: Vyhodnocení a výklad údajů o biologickém znečištění

ČSN EN ISO 14698-2 OPRAVA 1 Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Regulace biologického znečištění – Část 2: Vyhodnocení a výklad údajů o biologickém znečištění

D`Antonio D, Violante B, Farina C, et al. Necrotizing pneumonia caused by *Penicillium chrysogenum*. *J Clin Microbiol*. 1997; 35(12): 3335-3337.

Dagenais TR, Keller NP. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* in invasive aspergillosis. *Clin Microbiol Rev*. 2009; 22(3): 447-465.

- Deng Y, Zhang Z, Xie Y et al. A mixed infection of *Leuconostoc lactis* and vancomycin-resistant Enterococcus in a liver transplant recipient. *J Med Microbiol.* 2012; 61: 1621-4.
- DIN 1946 Teil 4 Raumluftechnik, Raumluftechnische Anlagen in Krankenhausern (VDI - Luftungsregeln), Dezember 1989.
- Domann E, Hong G, Imirzalioglu C, et al. Culture-independent identification of pathogenic bacteria and polymicrobial infections in the genitourinary tract of renal transplant recipients. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 5500-10.
- Ezzedine H, Mourad M, Van Ossel C, et al. An outbreak of *Ochrobactrum anthropi* in five organ transplant patients. *J Hosp Infect.* 1994; 27(1): 35-42.
- FED-STD-209E Clean Room and Work Station Requirements, Controlled Environment. Airborne Particulate Cleanliness in Cleanrooms and Clean Zones.
- Francuz B, Yera H, Geraut L, et al. Occupational asthma induced by *Chrysonilia sitophila* in a worker exposed to coffee grounds. *Clin Vaccine Immunol.* 2010; 17(10): 1645-1646.
- Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev.* 1996; 9(4): 499-511.
- Garnica M, Maiolino A, Nucci M. Factors associated with bacteremia due to multidrug-resistant Gram-negative bacilli in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Braz J Med Biol Res.* 2009; 42: 289-293.
- Gaytán-Martínez J, Mateos-García E, Sánchez-Cortés E, et al. Microbiological findings in febrile neutropenia. *Arch Med Res.* 2000; 31: 388-392.
- Gebhart-Mueller Y, Mueller P, Nixon B. Unusual case of postoperative infection caused by *Morganella morganii*. *J Foot Ankle Surg.* 1998; 37(2): 145-7.
- Geshwiler M. HVAC Design Manual for Hospital and Clinics. ASHRAE, Atlanta. 2008; 1-17, 33-38, 129-137, 217-218.
- Gharabaghi MA, Abdollahi SM, Safavi E, et al. Community acquired *Pseudomonas pneumonia* in an immune competent host. *BMJ Case Rep.* 2012; 26.
- Gill SR, Fouts DE, Archer GL, et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *J Bacteriol.* 2005; 187(7): 2426-38.
- Goetz A, Yu VL, Hanchett JE, et al. *Pseudomonas stutzeri* bacteremia associated with hemodialysis. *Arch Intern Med.* 1983; 143: 1909-1912.

- Guarro J, Antolín-Ayala MI, Gené J, et al. Fatal case of *Trichoderma harzianum* infection in a renal transplant recipient. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(11): 3751-3755.
- Hageskal G, Kristensen R, Fristad RF, et al. Emerging pathogen *Aspergillus calidoustus* colonizes water distribution systems. *Med Mycol.* 2011; 49(6): 588-593.
- Hanulík V, Chroma M, Webber, MA, et al. Záchyt kmenů *Burkholderia cepacia* komplex ve Fakultní nemocnici Olomouc. *Klin Mikrobiol Infekc Lek.* 2012; 18, 4-8.
- Hedin G, Blomkvist A, Janson M, et al. Occurrence of potentially pathogenic bacteria on the hands of hospital patients before and after the introduction of patient hand disinfection. *APMIS.* 2012; 120: 802-807.
- Hemerka J. Filtrace atmosférického vzduchu I. <http://www.tzb-info.cz> 2009.
- Héry-Arnaud G, Doloy A, Ansart S, et al. *Globicatella sanguinis* meningitis associated with human carriage. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(4): 1491-3.
- Holý O, Matoušková I, Raida L [The Incidence of Gram-negative Bacteria in the Environment of the Transplant Unit, Department of Hemato-Oncology, University Hospital -Olomouc]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2012; 61(4): 103-9.
- Isenberg HD. Section 1 Collection, Transport, and Manipulation of Clinical Specimens and Initial Laboratory Concerns, s. 1-36. In Isenberg HD (editor-in-chief). *Essential Procedures for Clinical Microbiology* (1998). *ASM Press*, Washington, D.C.
- James KW, Jameson B, Kay HEM, et al. Some practical aspects of intensive cytotoxic therapy. *Lancet.* 1967; 1045-1049.
- Jameson B, Gamble DR, Lynch J, et al. Five-year analysis protective isolation. *Lancet.* 1971; 1034-1040.
- Jefferies JM, Cooper T, Yam T, et al. *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in the neonatal intensive care unit - a systematic review of risk factors and environmental sources. *J Med Microbiol.* 2012; 61(8): 1052-61.
- Jeon YL, Yang JJ, Kim MJ et al. Combined *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* infection in a patient with oesophageal perforation. *J Med Microbiol.* 2012; 61: 1766-9.
- Kawamura I, Yagi T, Hatakeyama K, et al. Recurrent vascular catheter-related bacteremia caused by *Delftia acidovorans* with different antimicrobial susceptibility profiles. *J Infect Chemother.* 2011; 17: 111-3.
- Kern WV, Oethingerm M, Kaufhold A, et al. *Ochrobactrum anthropi* bacteremia: report of four cases and short review. *Infection.* 1993; 21(5): 306-10.
- Kikuchi K, Totsuka K, Shimizu K, et al. [Microbiological and clinical studies of vancomycin resistant *Leuconostoc* spp. and *Pediococcus* spp. isolated from septicemia patients]. *Kansenshogaku Zasshi.* 1994; 68(9): 1084-92.

- Kim YH, Panday V, Reilly C. Isolation of *Kingella denitrificans* a corneal ulcer. *Cornea*. 2011; 30(4) 472-3.
- Klassen CHW, Gibbons JG, Fedorova ND, et al. Evidence for genetic differentiation and variable recombination rates among Dutch populations of the opportunistic human pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Molecular Ecology*. 2012; 21: 57-70.
- Knochen H, Hübner NO, Below H, et al. Influence of floor disinfection on microbial and particulate burden measured under low turbulence air flow in ophthalmological operation theatres. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 2010; 227(11): 871-8.
- Koçak F, Yurtseven N, Aydemir N, et al. A case of osteomyelitis due to *Leuconostoc lactis*. *Scand J Infect Dis.* 2007; 39(3): 278-80.
- Koopmans MM, Brouwer MC, Bijlsma MW, et al. *Listeria monocytogenes* sequence type 6 and increased rate of unfavorable outcome in meningitis: epidemiologic cohort study. *Clin Infect Dis.* 2013; 57: 247-53.
- Kořínek J. Mikrobiologie. 2. vyd. Praha: Universum, 1948. s. 26-33, 306, 348-349.
- Kowalski, W. *Hospital Airborne Infection Control*. 1th Ed. Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2012, p. 349.
- Kratzer C, Tobudic S, Schmoll M, et al. In vitro activity and synergism of amphotericin B, azoles and cationic antimicrobials against the emerging pathogen *Trichoderma* spp. *J Antimicrob Chemotherapy*. 2006; 58: 1058-1061.
- Krbková L. *Pseudomonádové infekce*. In Beneš, J. *Infekční lékařství*. Praha: Galén, 2009, s. 250-252.
- Krogulski, A., Szczotko, M. Microbiological quality of hospital indoor air. Determinant factors for microbial concentration in air of operating theatres. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2011; 62(1): 109-13.
- Kruml J, Miler I. *Život bez mikrobů*. 1. vyd. Praha: Orbis, 1975.
- Kviliute R, Paskevivius A, Gulbinovic J, et al. Nonfatal *Trichoderma citrinoviride* pneumonia in an acute myeloid leukemia patient. *Ann Hematol.* 2008; 87: 501-502.
- La Rosa G, Frattini M, Della Libera S, et al. Viral infections acquired indoors through airborne, droplet or contact transmission. *Ann Ist Super Sanita.* 2013; 49(2): 124-132.
- Lee LD, Hachem RY, Berkheiser M, et al. Hospital environment and invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy. *Am J Infect Control.* 2012; 40(3): 247-249.
- Levitan AA, Perry S. Infectious complications of chemotherapy in a protected environment. *New Eng J Med.* 1967; 276(20): 881-886.

- Linares L, Cervera C, Hoyo I, et al. Klebsiella pneumoniae infection in solid organ transplant recipients: epidemiology and antibiotic resistance. *Transplant Proc.* 2010; 42: 2941-2943.
- Magliano E, Grazioli V, Deflorio L, et al. Gender and age-dependent etiology of community-acquired urinary tract infections. *ScientificWorldJournal.* 2012; 2012: 349597.
- Mann EE, Wozniak, DJ. Pseudomonas biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol Rev.* 2012; 36: 893-916.
- Matoušková I. Čisté prostory ve farmácii a zdravotnických zařízeních. Disertační práce. 2001.
- Matoušková I, Raida L, Holý O. [The incidence of nonfermentative gram-negative bacilli in the environment of the transplant unit, department of hemato-oncology, university hospital olomouc]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2012; 61(4): 110-5.
- Matsunami M, Otsuka Y, Ohkusu K, et al. Urosepsis caused by Globicatella sanguinis and Corynebacterium riegellii in an adult: case report and literature review. *J Infect Chemother.* 2012; 18(4): 552-4.
- McDade JJ, Whitcomb JG, Rypka EW et. al. Microbiological studies conducted in a vertical laminar airflow surgery. *JAMA.* 1968; 203: 125-130.
- Mert A, Yilmaz M, Ozaras R, et al. Native valve endocarditis due to *Pseudomonas mendocina* in a patient with mental retardation and a review of literature. *Scand J Infect Dis.* 2007; 39: 615-616.
- Milnik A, Gazis A, Tammer I, et al. Immunocompetent young man with cerebral abscess and cortical venous infarction mimicking cerebritis caused by *Gemella morbillorum*. *BMJ Case Rep.* 2013; 25: 2013.
- Milton DK, Feldman HA, Neuberger DS, et al. Environmental endotoxin measurement: the Kinetic Limulus Assay with Resistant-parallel-line Estimation. *Environ Res.* 1992; 57: 212-30.
- Morfin-Otero R, Tinoco-Favila J, Sader H, et al. Resistance trends in gram-negative bacteria: surveillance results from two Mexican hospitals, 2005-2010. *BMC Res Notes.* 2012; 5: 277.
- Möller W, Heimbeck I, Hofer TPJ, et al. Differential Inflammatory Response to Inhaled Lipopolysaccharide Targeted Either to the Airways or the Alveoli in Man. *PLoS ONE.* 2012; 7(4): e33505.
- Musil I, Jensen V, Schilling J, et al. *Enterobacter cloacae* infection of an expanded polytetrafluoroethylene femoral-popliteal bypass graft: a case report. *J Med Case Rep.* 2010; 9: 131.
- Musso D, Drancourt M, Bardot J, et al. Human infection due to the CDC group IV c-2 bacterium: case report and review. *Clin Infect Dis.* 1994; 18: 482-484.

MZČR. Pět základních situací pro hygienu rukou. 2009.

NASA Standard for Clean Room and Work Station for the Microbially Controlled Environment. Publication NHB 5340.2 August 1967.

Nihtinen A, Anttila VJ, Richardson M, et al. The utility of intensified environmental surveillance for pathogenic moulds in a stem cell transplantation ward during construction work to monitor the efficacy of HEPA filtration. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 40(5): 457-460.

Nseir W, Taha H, Abid A, et al. *Pseudomonas mendocina* sepsis in a healthy man. *Isr Med Assoc J.* 2011; 13: 375-376.

Orth B, Frei R, Itin PH, et al. Outbreak of invasive mycoses caused by *Paecilomyces lilacinus* from a contaminated skin lotion. *Ann Intern Med.* 1996; 125(10): 799-806.

Otter JA, Yezli S, French GL. The role played by contaminated surface in the transmission of nosocomial pathogens. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2011; 32(7): 687-99.

Pastor FJ, Guarro J. Clinical manifestations, treatment and outcome of *Paecilomyces lilacinus* infections. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12(10): 948-60.

Pathom-Aree W, Nogi Y, Ward AC, et al. *Dermacoccus barathri* sp. nov. and *Dermacoccus profundi* sp. nov., novel actinomycetes isolated from deep-sea mud of the Mariana Trench. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2006; 56: 2303-7.

Pemán J, Salavert M. General epidemiology of invasive fungal disease. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012; 30(2): 90-98.

Perz JF, Craig AS, Stratton CW, et al. *Pseudomonas putida* septicemia in a special care nursery due to contaminated flush solutions prepared in a hospital pharmacy. *J Clin Microbiol.* 2005; 43: 5316-5318.

Pini G, Faggi E, Donato R, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients and the influence of hospital renovation. *Mycoses.* 2007; 51(2): 117-122.

Playford EG, Craig JC, Iredell JR. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit patients: risk factors for acquisition, infection and their consequences. *J Hosp Infect.* 2007; 65: 204-211.

Potvliege C, Jonckheer J, Lenclud C, et al. *Pseudomonas stutzeri* pneumonia and septicemia in a patient with multiple myeloma. *J Clin Microbiol.* 1987; 25: 458-459.

Preisler HD, Goldstein IM, Henderson ES. Gastrointestinal „sterilization“ in the treatment of patients with acute leukemia. *Cancer.* 1970; 26: 1076-1081.

Rajanna DM, Manickavasagam J, Jewes L, et al. Retropharyngeal abscess from an unusual organism-*Kingella denitrificans*-in a patient on low-dose methotrexate. *Ear Nose Throat J.* 2011; 90(7): E15-17.

- Ram R, Farbman L, Leibovici L, et al. Characteristics of initial compared with subsequent bacterial infections among hospitalised haemato-oncological patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 40(2): 123–126.
- Rau MH, Marvig RL, Ehrlich GD, et al. Deletion and acquisition of genomic content during early stage adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to a human host environment. *Environ Microbiol*. 2012; 14(8): 2200-11.
- Ray M, Lim DK. A rare polymicrobial keratitis involving *Chryseobacterium meningosepticum* and *Delftia acidovorans* in a cosmetic contact lens wearer. *Eye Contact Lens*. 2012; 39(2): 192-3.
- Richter S, Cormican MG, Pfaller MA, et al. Fatal disseminated *Trichoderma longibrachiatum* infection in an adult bone marrow transplant patient: species identification and review of the literature. *J Clin Microbiol*. 1999; 37(4): 1154-60.
- Roig P, Orti A, Navarro V. Meningitis due to *Pseudomonas stutzeri* in a patient infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 1996; 22: 587-588.
- Roongpoovapatr P, Suankratay C. Causative pathogens of fever in neutropenic patients at King Chulalongkorn Memorial Hospital. *J Med AssocThai*. 2010; 93(7): 776-83.
- Rosenberg I, Leibovici L, Mor F, et al. *Pseudomonas stutzeri* causing late prosthetic valve endocarditis. *J R Soc Med*. 1987; 80: 457-459.
- Roussel S, Reboux G, Rognon B, et al. Comparison of three antigenic extracts of *Eurotium amstelodami* in serological diagnosis of farmer's lung disease. *Clin Vaccine Immunol*. 2010; 17(1): 160-167.
- Ruckmani A, Kaur I, Schumann P, et al. *Calidifontibacter indicus* gen. nov., sp. nov., a member of the family Dermacoccaceae isolated from a hot spring, and emended description of the family Dermacoccaceae. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2011; 61: 2419-24.
- Rutala WA, Gergen MF, Tande BM, et al. Rapid hospital room decontamination using ultraviolet (UV) light with a nanostructured UV- reflective wall coating. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013; 34(5): 527-9.
- Sachdeva LD, Bardhan PN. Bacteriological study of an *Alcaligenes faecalis* strain: a food poisoning epidemic. *Indian J Pathol Bacteriol*. 1963; 37: 513-514.
- Saravia SA, Raynor PC, Streifel AJ. A performance assessment of airborne infection isolation rooms. *Am J Infect Control*. 2007; 35: 324-331.
- Sautour M, Sixt N, Dalle F, et al. Prospective survey of indoor fungal contamination in hospital during a period of building construction. *J Hosp Infect*. 2007; 67(4): 367-373.
- Schicht H. One-day course program „Essentials of Cleanroom Technology“. Exhibition Center Brno, Brno, Czech Republic 2006; 19-30.

Schneider M, Schwarzenberg L, Amiel JL, et al. Pathogen-free Isolation Unit-Three Years' Experience. *Brit med J*. 1969; 1: 836-839.

Schwartz SA, Perry S. Patient Protection in Cancer Chemoterapy. *JAMA*. 1966; 197: 105-109.

Shin J, Her M, Moon C, et al. Leuconostoc bacteremia in a patient with amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis and tuberculosis arthritis. *Mod Rheumatol*. 2011; 21(6): 691-5.

Sisti M, Brandi G, De Santi M, et al. Disinfection efficacy of chlorine and peracetic acid alone or in combination against *Aspergillus* spp. and *Candida albicans* in drinking water. *J Water Health*. 2012; 10(1): 11-19.

Skovgaard S, Nielsen LN, Larsen MH, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Skov%20RL%5BAuthor%5D&cauthor=tr ue&cauthor_uid=23614034 et al. *Staphylococcus epidermidis* isolated in 1965 are more susceptible to triclosan than current isolates. *PLoS One*. 2013; 16; 8(4):e62197.

Spencer RC. The emergence of epidemic, multiple-antibiotic-resistant *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* and *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. *J Hosp Infect*. 1995; 30: 453-464.

Stan RJ, Lim EW, Sakazaki R. Unusual cause of urinary tract infection by *Pseudomonas stutzeri* in Singapore. *Jpn J Exp Med*. 1977; 47: 311-313.

Suel P, Martin P, Berthelot G, et al. [A case of *Pseudomonas mendocina* endocarditis]. *Med Mal Infect*. 2011; 41: 109-110.

Szczerba I. [Occurrence and number of bacteria from the *Micrococcus*, *Kocuria*, *Nesterenkonia*, *Kytococcus* and *Dermacoccus* genera on skin and mucous membranes in humans]. *Med Dosw Mikrobiol*. 2003; 55(1): 67-74.

Tada K, Kurosawa S, Hiramoto N, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* infection in hematopoietic SCT recipients: high mortality due to pulmonary hemorrhage. *Bone Marrow Transplant*. 2012; 48(1):74-9.

Tai TY, Chin WT, Wang F, et al. *Bacillus Alcaligenes* infections. A clinical analysis of 33 cases. *Chin Med J (Engl)*. 1963; 82: 423-31.

Takahata Y, Hiruma M, Sugita T, et al. A case of onychomycosis due to *Aspergillus sydowii* diagnosed using DNA sequence analysis. *Mycoses*. 2008; 51(2): 170-173.

Takeshita S, Matsumoto T, Nishio E et al. [A case suspected to be the bacteremia due to opportunistic infection by *Bacillus coagulans*, which was difficult to identify, at the time of isolation (author's transl)]. *Rinsho Byori*. 1980; 28(3): 277-80.

Tasbakan MS, Yamazhan T, Aydemir S, et al. A case of ventilator-associated pneumonia caused by *Cupriavidus pauculus*. *Mikrobiyol Bul*. 2010; 44(1): 127-31.

Technická zpráva - Projekt stavby (transfuzní stanice, hematologie a rehabilitace). PS 01 - Strojovny a rozvody vzduchotechniky. Zařízení VZT. IDOP Olomouc. 1994. 124 s.

Technická zpráva - Úprava vody pro JIP. Dokumentace PS 107. IDOP Olomouc. 1994. 5 s.

Typizační směrnice pro projektování zdravotnických staveb - nemocnice s poliklinikou I. a II. typu. Dílčí směrnice, část VI. – Vzduchotechnická zařízení, Zdravoprojekt Praha 1986.

Thompson KA, Bennett AM, Walker JT. Aerosol survival of *Staphylococcus epidermidis*. *J. Hosp. Infect.* 2011; 78: 216-220.

Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. *Bone Marrow Transplantation.* 2009; 44: 453–455.

Trexler PC, Reynolds LI. Flexible Film Apparatus for the Rearing and Use of Germfree Animals. *Applied Microbiology.* 1957; 5: 406.

Tölgyessy J, aj. Chémia, biológia a toxikológia vody a ovzdušia. 2. nezmenené vyd. Bratislava: Veda, 1989. Kapitola 7, Biológia ovzdušia, s.483-486.

Uvizl R, Hanulík V, Husicková V, et al. Hospital-acquired pneumonia in ICU patients. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2011; 155: 373-378.

Vacek L. Protokol o zaregulování vzduchotechnických jednotek (celkové množství vzduchu), 1995. 5 s.

Vagnerová I, Sauer P, Kolar M, et al. Sources and pathways of spread of vancomycin-resistant enterococci in hemato-oncological patients. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006; 150: 117-20.

VandenBergh MFQ, Verweij PE, Voss A. Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections: Invasive Aspergillosis and the Environment. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999; 34: 221-227.

Veraldi S, Chiaratti A, Harak H. Onychomycosis caused by *Aspergillus versicolor*. *Mycoses.* 2009; 53: 363-365.

Vossen MG, Gattlinger KB, Khalifeh N, et al. *Gemella morbillorum* bacteremia after anti-tumor necrosis factor alpha as acne inversa therapy. *J Clin Microbiol.* 2012; 50(3): 1109-12.

Votava, M. a kolektiv. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: 2003. Neptun.

Walsh TJ, Groll AH. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. *Transpl Infect Dis.* 1999; 1: 247-261.

Warris A, Gaustad P, Meis JFGM, et al. Recovery of filamentous fungi from water in a paediatric bone marrow transplantation unit. *J Hosp Infect.* 2001; 47: 143-148.

Wingard JR, Beals SU, Santos GW, et al. Aspergillus infections in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 1987; 2: 175-181.

Witt H. Effective use of Alcohol hand Sanitizers. *Controlled Environments.* 2008.

Zhuang L, Zhou S, Yuan Y, et al. Development of *Enterobacter aerogenes* fuel cells: from in situ biohydrogen oxidization to direct electroactive biofilm. *Bioresour Technol.* 2011; 102: 284-289.

Zuberbuhler, B., Carifi, G. *Pseudomonas putida* infection of the conjunctiva. *Infection.* 2012; 40(5): 579-80.

8 Přílohy

Publikace související s dizertační prací

Holý O., Matoušková I. The Importance of Cleanrooms for the Treatment of Haemato-Oncological Patients. *Wspolczesna Onkol* 2012; 16(3): 266-272. (IF 0,104)

Holý O., Matoušková I., Raida L. Výskyt gramnegativních bakterií v prostředí transplantační jednotky Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc [The Incidence of Gram-negative Bacteria in the Environment of the Transplant Unit, Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2012;61(4):103-9. Czech. (IF 0,306)

Matoušková I., Raida L., **Holý O.** Výskyt gramnegativních nefermentujících bakterií v prostředí transplantační jednotky Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc [The Incidence of Nonfermentative Gram-negative Bacilli in the Environment of the Transplant Unit, Department of Hemato-oncology, University Hospital Olomouc]. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2012; 61(4):110-5. Czech. (IF 0,306)

Holý O., Matoušková I., Jurásková E. Risk of Hospital-Acquired Legionellosis from Microbial Contamination of Potable Water at a Bone Marrow Transplant Unit in a Czech University Hospital. *Journal of Water Chemistry and Technology.* Přijato do tisku. (IF 0,139)

The main purpose of cleanrooms in health care centres is to prevent hospital infections or leakage of a highly infectious agent (the source of haemorrhagic fevers, SARS, etc.) into the ambient environment and subsequently possibly threatening other individuals.

Patients with haematological malignancies or after autologous or allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) rank among immunosuppressed individuals. Prolonged and deep neutropenia is considered a key risk factor of the occurrence of an exogenous infection. One of the possibilities of preventing an exogenous infection in these patients is to place them in a “cleanroom” for the crucial period of time. Cleanrooms are intensive care units with reverse isolation.

The final part of the general article below provides an overview of the technology and types of cleanrooms for immunosuppressed patients in compliance with the current recommendations and technical standards.

Key words: cleanroom, haemato-oncological patients, exogenous infection risk.

The importance of cleanrooms for the treatment of haemato-oncological patients

Ondřej Holý, Ivanka Matoušková

Department of Preventive Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Olomouc, Czech Republic

Introduction

Patients with haematological malignancies or after autologous or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) rank among immunosuppressed individuals. Prolonged and deep neutropenia is considered a key risk factor of the occurrence of an exogenous infection. One of the possibilities of preventing an exogenous infection in these patients is to place them in a “cleanroom” for the crucial period of time. Cleanrooms are intensive care units with reverse isolation.

Due to their composition and especially due to the presence of microorganisms, some factors of the environment (air and water) represent dangerous, even life-threatening vehicles for these patients.

Chemically, the outside air is a mix of gasses of more or less stable composition. This applies, above all, to oxygen (21% by volume) and nitrogen (78% by volume). The remaining 1% is composed of carbon dioxide, hydrogen, and inert gasses. The first of the above is sometimes labelled as the indicator of the quality of the air in enclosed rooms. Airborne contaminants consist of inanimate particles forming aerosols (solid or liquid particles from 1 nm to 100 µm large) and animate particles, i.e. microorganisms (bacteria, viruses, microscopic filamentous fungi, and yeast). These are termed bioaerosols. While the above applies to the air outside, in enclosed rooms the conditions are different, partly due to human activities. Certain curative and work procedures in health care centres require supply air be treated. The inside environment (aired room) must be maintained within specific, clearly pre-defined parameters that guarantee the most suitable microclimatic conditions. Air is treated by an air-conditioning device ensuring a controlled exchange, temperature, and relative humidity of the air in the particular room.

The requirements always ensue from the purpose of the device. The air of the inside environment is called *interior air*, polluted by the presence of people and operating technology. Substances released into the air are called contaminants. They have a negative impact on living organisms, buildings, and their equipment. In certain industries (automobile industry, microelectronics, precision mechanics, optics, and the pharmaceutical industry) or in health care centres, these interior rooms have the air cleanliness classes, stabilized temperature, and relative air humidity defined. They are labelled as follows: *cleanrooms*, *cleanroom*, *clean desk*, *clean wall* (*clean ceiling*), and *clean worktop*.

Cleanrooms are rooms defined predominantly by the number and size of the particles present in the air in uplift. In health care and pharmaceutical centres the rooms must also be protected from microorganisms.

The main purpose of cleanrooms in health care centres is to prevent hospital infections or leakage of a highly infectious agent (the source of hemorrhagic fevers, SARS, etc.) into the ambient environment and subsequently possibly threatening other individuals.

Výskyt gramnegativních bakterií v prostředí transplantační jednotky Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc

Holý Ondřej¹, Matoušková Ivanka¹, Raida Luděk²

¹Ústav preventivního lékařství, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

²Hemato-onkologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

SOUHRN

Studie s názvem „Surveillance of Infectious Complications in Hemato-Oncological Patients“ probíhala na oddělení 5C Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc. Byla zahájena 1. července 2010 s dobou ukončení k 31. srpnu 2011. V tomto období bylo na oddělení hospitalizováno celkem 96 pacientů, z toho bylo 63 pacientů transplantovaných. V 43 případech se jednalo o transplantaci autologní, ve zbývajících případech o transplantaci alogenní. V uvedeném období bylo prováděno monitorování mikrobiální kontaminace prostředí u vybraných povrchů a ovzduší na výše uvedeném oddělení. Současně byla monitorována mikrobiální kontaminace aktuálně přítomného personálu (stěr pravé ruky a vlasů, výtěr z nosu). Z kultivačně prokázaných mikrobiálních agens, byly vybrány gramnegativní oportunně patogenní bakteriální kmeny.

Klíčová slova: gramnegativní bakterie – imunosuprese – rezistence – biofilm

SUMMARY

Holý Ondřej, Matoušková Ivanka, Raida Luděk: The Incidence of Gram-negative Bacteria in the Environment of the Transplant Unit, Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc

A study entitled „Surveillance of Infectious Complications in Hemato-oncological Patients“, was conducted at the Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc from 1 July 2010 to 31 August 2011. During the study period, a total of 96 patients were hospitalized at that department and 63 stem cell transplants were performed, 43 autologous and 23 allogeneic. Microbial contamination was monitored in indoor air, on selected surfaces, and in health care providers (right hand smear, left and right nostril swabs and scalp hair smear). Opportunistic Gram-negative bacterial strains were selected from the cultures.

Key words: Gram-negative bacteria – immunosuppression – resistance – biofilm

ÚVOD

Problematika gramnegativních bakterií jako původců nemocničních infekcí nabývá poslední dobou na významu. Zvláště u imunosuprimovaných pacientů, u nichž právě díky kompromitovanému imunitnímu systému mohou být tyto infekce velmi závažné až fatální. Dalším velmi významným faktorem je nutnost použití centrálních venózních katétrů u těchto pacientů, kdy hrozí zavlečení infekčního agens z povrchu kůže a zároveň zde hraje velmi významnou roli schopnost tvorby biofilmu. Z tohoto vyplývá nutnost neustálého monitorování jak prostředí, ve kterém se pacient nachází, tak i personálu, který pacienta ošetřuje. Infekce se podílejí na úmrtí pacientů po alogenní transplantaci kostní dřeně 17%, respektive 21% u autologních transplantací kostní dřeně [1].

Cílem studie bylo zjištění mikrobiální kontaminace prostředí a personálu na oddělení 5C Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc pomocí pravidelného měsíčního monitorování. Toto oddělení je koncipováno jako reverzní izolace se 4 izolačními boxy pro pacienty po autologní, alogenní příbuzenské nebo nepříbuzenské transplantaci periferních kmenových buněk nebo kostní dřeně. Základní podmínkou zajištění stanovených parametrů boxů pro reverzní izolaci je fungující vzduchotechnika, která zajišťuje centrálně regulovaný přísun upraveného vzduchu. Popis stavebního rozložení oddělení 5C vychází z technické zprávy; oddělení je označeno jako JIP (4 izolační boxy pacientů a příslušející sociální zařízení) a vše ostatní včetně filtrů před jednotlivými pokoji je označeno jako zázemí JIP, které zahrnuje následující prostory: filtr u každého z pokojů, předsín (filtr při vstupu na toto oddělení), čisticí místnost,

Výskyt gramnegativních nefermentujících bakterií v prostředí transplantační jednotky Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc

Matoušková Ivanka¹, Raida Luděk², Holý Ondřej¹

Ústav preventivního lékařství, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Hemato-onkologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

SOUHRN

V době od 1. srpna 2010 do 31. července 2011 probíhala v prostorách oddělení 5C Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc epidemiologická studie s názvem „Surveillance of Infectious Complications in Hemato-Oncological Patients“. V této době bylo na oddělení hospitalizováno celkem 63 pacientů, z toho byla u 33 pacientů provedena transplantace kmenových buněk. Ve 21 případech se jednalo o autologní transplantaci, u 12 pacientů byla provedena alogenní transplantace. Během této doby na výše uvedeném oddělení byla sledována mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu, vybraných povrchů a mikrobiální osídlení aktuálně přítomného zdravotnického personálu (stěr pravé ruky, výtěr z obou nosních dírek a stěr vlasové kštice). Kultivací prokázané gramnegativní bakterie byly biochemicky identifikovány. Zvýšená pozornost byla věnována gramnegativním nefermentujícím bakteriím, které podle současné literatury je nutné považovat za nastupující původce nemocničních infekcí.

Klíčová slova: gramnegativní nefermentující bakterie – hemato-onkologický pacient – rezistence na antibiotika a biocidy

SUMMARY

Matoušková Ivanka, Raida Luděk, Holý Ondřej: The Incidence of Nonfermentative Gram-Negative Bacilli in the Environment of the Transplant Unit, Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc

A study entitled „Surveillance of Infectious Complications in Hemato-oncological Patients“ was conducted at the Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc from 1 July 2010 to 31 August 2011. During the study period, a total of 63 patients were hospitalized at that department and 33 stem cell transplants were performed, 21 autologous and 12 allogeneic.

Microbial contamination was monitored in indoor air, on selected surfaces, and in health care providers (right hand smear, left and right nostril swabs and scalp hair smear). Gram-negative bacteria detected by culture were identified biochemically. Special attention was paid to nonfermentative Gram-negative bacilli which, based on the recent literature, should be considered as emerging causative agents of hospital infections.

Key words: nonfermentative Gram-negative bacilli – hemato-oncology patient – resistance to antibiotics and biocides

ÚVOD

Transplantace dřeně nebo kmenových buněk je život zachraňující léčba u mnohých zhoubných nádorů a geneticky podmíněných nebo hematologických onemocnění. V roce 2009 bylo na celém světě uskutečněno více než 25 000 alogenních a 30 000 autologních transplantací kmenových buněk [1]. Všechny podpůrné postupy stavebně-technického i léčebného charakteru zatím nedokáží eliminovat vznik infekčních komplikací u pacientů po transplantaci dřeně nebo kmenových buněk. V současné době se objevují odborná sdělení, která jsou na pomezí klinicko-epidemiologicko-mikrobiální surveillance, která je zaměřena

na bakteriální infekce vyvolané aerobními gramnegativními nefermentujícími bakteriemi se zvýšenou rezistencí vůči antibiotikům a rezistencí na dezinfekční prostředky [2, 3, 4, 5].

V roce 1973 Palleoni et al. upozornili na taxonomickou heterogenitu rodu *Pseudomonas* a následně jej rozdělili do pěti hlavních druhových seskupení, kdy se odkazovali na rRNA homologní skupiny. Hybridizace DNA-rRNA přispěla k dalšímu rozdělení během následujících let. Nové nomenklaturní uspořádání vedlo k vytvoření nových bakteriálních druhů. Poslední přesné rozdělení bylo realizováno srovnávací 16S rRNA genetickou sekvencí a byly popsány nové bakteriální rody jako *Burholderia*, *Steno-*



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ ТА ХІМІЇ
ВОДИ ім. А.В. ДУМАНСЬКОГО

Булвар Акад. Вернадського, 42
м. Київ, МСПЛ 03680
тел: (044) 424 01 96
факс (044) 423 82 24
E-mail: honch@icwckiev.ua
ЄДРПОУ 05417348

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF
UKRAINE A.V. DUMANSKY INSTITUTE
OF COLLOID CHEMISTRY AND WATER
CHEMISTRY

42, Vernadsky blvd.
03680, Kyiv-142, Ukraine
Tel: 38 044 424 01 96,
Fax: 38 044 423 82 24
E-mail: honch@icwckiev.ua

01.07.13 № 99/398

Dear Dr. A.Holy

Your manuscript **“Risk of hospital-acquired legionellosis from microbial contamination of potable water at a bone marrow transplant unit in a Czech University Hospita”** (JWCT ref. no. **902**) has been accepted for publication in Journal of Water Chemistry and Technology.

Executive secretary,
Journal of Water Chemistry
and Technology

Alina Kavitskaya

Abstrakta a přednášky

P31 / 2053.

**Výskyt kmenů *Staphylococcus epidermidis*
se schopností tvorby biofilmu na oddělení 5C**

Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc

Matoušková Ivanka, Sauer Pavel, Kolář Milan, Raida Lu-
děk, Holý Ondřej

(*Ústav preventivního lékařství, LF UP, Olomouc; Ústav
mikrobiologie, LF UP a FN, Olomouc; Hemato-onkolo-
gická klinika, FN, Olomouc*)

Studie s názvem „Surveillance of Infectious Complications in Hemato-Oncological Patients“ probíhá na oddělení „5C“ Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc. Byla zahájena 1. srpna 2010 s předpokládanou dobou ukončení k 31. červenci 2011. V období od 1. srpna 2010 do 31. března 2011 bylo na tomto oddělení hospitalizováno celkem 63 pacientů, z toho bylo 33 pacientů transplantovaných. Ve 21 případech se jednalo o transplantaci autologní, ve zbývajících případech (12) o transplantaci alogenní. V uvedeném období byla sledována mikrobiální kontaminace vybraných povrchů a ovzduší na výše uvedeném oddělení. Současně byla monitorována mikrobiální kontaminace aktuálně přítomného personálu (stěr pravé ruky a vlasů, výtěr z nosu). Z kultivačně prokázaných mikrobiálních agens, jsme se soustředili na výskyt kmenů *Staphylococcus epidermidis*, u nichž byla testována schopnost formace biofilmu fenotypizační metodou. Získané výsledky z prostředí a od personálu byly porovnány s výskytem kmenů *Staphylococcus epidermidis*, které byly izolovány z hemokultur pacientů oddělení 5C a rovněž testovány na schopnost tvorby biofilmu. Práce byla podpořena grantem „Surveillance of Infectious Complication in Hemato-Oncological Patients“ – Research Support Foundation, Vaduz (801100021/39).

0053

Risk of Hospital-Acquired Infections from Microbiological Contamination of Drinking Water of the Bone Marrow Transplant Unit in a Czech University Hospital

Status: Pending

Category: Infection control and hospital epidemiology

Author's preference: Poster

Ivanka Matouskova¹, Vladimir Drasar², Ondrej Holy¹, Jarmila Kohoutova³

¹Department of Preventive Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Olomouc, Czech Republic, ²National Legionella Reference Laboratory - Vyškov, Public Health Institute Ostrava, Ostrava, Czech Republic, ³Department of Hospital Hygiene, University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic

In the first half of 2011 an investigation for the microbial contamination of drinking water was conducted at the Transplant Unit, Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc. The investigation encompassed the drinking water treatment room, the social facilities of patient boxes (1-4) and patient rooms No.5-6, which are not connected to the treated drinking water system. The drinking water treatment room had three collection points (ball valves). In the social facilities, drinking water was collected from the tap, shower, and the flush tank. In addition, a smear was taken from the wall of the flush tank. The collected samples of treated drinking water were investigated for possible microbial contamination including a Legionella. The water taps and showers were equipped with membrane filters with 0.22µm pore size. Of Gram-positive bacteria the most frequently identified were CoN staphylococci. Of Gram-negative bacteria Burkholderia cepacia, Pseudomonas sp. and Achromobacter spp. were detected. The samples and smears of the flush tank water demonstrated the presence of Legionella pneumophila sg.1 (1 instance) and Legionella pneumophila sg.6A (3 instances). The above bacterial strains pose a risk of a hospital-acquired infection for immunosuppressed patients. A remedial measure of disinfecting flush tanks with chlorine agents was recommended.



Abstrakta přednášek a posterů

EGFR ($p < 0,001$), medián OS při léčbě EGFR-TKI u pacientů s mutací EGFR činil 14,5 měsíců vs. 7,5 měsíců u pacientů s wild-type EGFR ($p = 0,019$).

Závěr

Výskyt mutací genu EGFR u NSCLC v naší populaci i jejich zvýšený výskyt u pacientů s adenokarcinomem, žen a nekuřáků koreluje s daty, která byla publikována v literatuře. Byl zaznamenán vyšší výskyt EGFR mutací u pacientů s epidermoidním karcinomem, než jaký je popisován v literatuře. Výsledky analýzy potvrzují vysoký potenciál aktivačních mutací EGFR pro predikci dobrého efektu léčby EGFR-TKI.

e-mail: fiala.o@centrum.cz

ROČNÍ MONITOROVÁNÍ MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE VNITŘNÍHO VZDUCHU NA TRANSPLANTAČNÍ JEDNOTCE HEMATO-ONKOLOGICKÉ KLINIKY FN OLOMOUC

96

HOLÝ O,¹ KUBÁTOVÁ A,² MATOUŠKOVÁ I,¹ SVOBODOVÁ L.³

¹Ústav preventivního lékařství, Lékařská fakulta UP, Olomouc

²Sbírka kultur hub, Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta UK, Praha

³Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta UP, Olomouc

Některé druhy mikroskopických vláknitých hub mohou u pacientů po auto- i alogenní transplantaci kmenových buněk vyvolat až smrtelné infekční komplikace. Jedná se především o nejčastěji uváděného zástupce, kmen *Aspergillus* spp., jehož spóry se mohou nacházet ve venkovním i vnitřním vzduchu.

Po dobu jednoho roku (srpen 2010 – červenec 2011) bylo na transplantační jednotce Hemato-onkologické kliniky Fakultní nemocnice Olomouc prováděno měsíční monitorování mikrobiální kontaminace vnitřního vzduchu. Transplantační jednotka je vybavena třístupňovou filtrací vzduchu, ve třetím stupni jsou umístěné HEPA-filtry. Jednalo se

o aktivní nasávání 100 litrů vzduchu po dobu 60 vteřin pomocí aeroskopu MAS-100. Pro záchyt mikroskopických vláknitých hub a kvasinek byl použit Sabouraudův agar. Na jednotce bylo vytipováno 20 odběrových míst (pokoj pacienta, příslušející sociální zařízení a filtr před pokojem, 2 místa v prostoru mezi sesternou a jednotlivými pokoji, sesterna, pokoj lékaře, sklad materiálů, čistící místnost, kuchyňka a vstupní filtr). Na každém místě bylo v průběhu studie provedeno celkem 12 odběrů vzorků vnitřního vzduchu a na místě samém byla měřena teplota a relativní vlhkost vnitřního vzduchu. V průběhu roční studie byla prováděna v březnu 2011 v přízemí budovy stavební rekonstrukce. Celkem bylo provedeno 480 odběrů vnitřního vzduchu na Sabouraudův agar, v 11 případech (tj. 2,29%) byl kultivací prokázán zástupce mikroskopických vláknitých hub. Jen ve dvou případech se jednalo o sociální zařízení izolačního pokoje pacienta, ostatní pozitivní nálezy byly z provozních míst transplantační jednotky. Nejčastěji byl prokázán kmen *Aspergillus* spp. (5x), 2x byl zastoupen kmen *Trichoderma* spp. a po jednom zástupci měly kmeny *Penicillium* spp., *Paccilomyces* spp., *Euopium* spp. a *Monilia* spp. Ve sdělení jsou diskutovány možné zdroje či vehikula uvedených zástupců mikroskopických vláknitých hub a jejich možné riziko pro imunosuprimované pacienty, protože systémové (invazivní) mykózy jsou u výše uvedených pacientů asociovány s vysokou morbiditou a mortalitou.

Práce byla podpořena grantovým projektem č. 801100021/39 - Surveillance of Infectious Complications in Hemato-Oncological Patients.

e-mail: holy.ondrej@seznam.cz

CIRKULUJÍCÍ NÁDOROVÉ BUŇKY A JEJICH MÍSTO V PERSONALIZOVANÉ LÉČBĚ U METASTATICKÉHO ONEMOCNĚNÍ MELANOMU

HRONCOVÁ E,¹ LIBERKO M,¹ KOLOŠTOVÁ K,¹ HOFFMAN R,² ARENBERGEROVÁ M,³ ROSSMEISLOVÁ L,⁴ BOBEK V.^{1,5}

¹Odd. nádorové biologie, 3. LF, UK, Praha



PŘEDNÁŠKOVÝ VEČER SPOLKU LÉKAŘŮ V OLOMOUCI

Středa 3. 4. 2013 – 16.00 hodin

Ústav preventivního lékařství LF UP v Olomouci

Koordinátor: Doc. MUDr. Helena Kollárová, Ph.D.

Epidemiologie infekčních a významných neinfekčních onemocnění

- 1. Multivariabilní analýza rizikových faktorů karcinomu pankreatu**
Mgr. Kateřina Azeem, Ph.D.
- 2. Epidemiologie kardiovaskulárních onemocnění**
MUDr. Vladimír Horák
- 3. Screening nádorových onemocnění v ordinaci praktického lékaře**
MUDr. Jarmila Ševčíková
- 4. Očkování před cestou do zahraničí**
MUDr. Jana Vlčková
- 5. Surveillance infekčních komplikací u hematoonkologických pacientů**
RNDr. Ondřej Holý

Sponzorem večera je firma **Sanofi Pasteur**

Přednáškový večer se bude konat na Teoretických ústavech LF UP v Olomouci, Hněvotínská 3.

Prof. MUDr. Pavel Horák, CSc.
vědecký sekretář Spolku lékařů

Prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.
předseda Spolku lékařů