

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
LÉKAŘSKÁ FAKULTA



DISERTAČNÍ PRÁCE

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Ústav veřejného zdravotnictví

Mgr. Lukáš Fedor, MPH

**Význam monitoringu čistoty prostředí v prevenci infekcí
spojených se zdravotní péčí**

Doktorská disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Marie Nakládalová, Ph.D.

Olomouc 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci napsal samostatně s využitím pouze uvedených a řádně citovaných pramenů a literatury a že práce nebyla využita v rámci jiného vysokoškolského studia či k získání jiného nebo stejného titulu.

V Olomouci dne 31. března 2023

podpis

Poděkování

Děkuji své školitelce doc. MUDr. Marii Nakládalové, Ph.D. za veškerou pomoc během doktorského studia a za rady při realizaci doktorské disertační práce. Děkuji též celému kolektivu Ústavu veřejného zdravotnictví LF UP v Olomouci za cenné rady a podporu. Za pomoc se statistickým zpracováním dat děkuji Mgr. Kateřině Grusové, MBA.

SOUHRN

Úvod: Udržení kvality čistoty prostředí v čistých prostorech a na operačních sálech je ve zdravotnickém zařízení klíčovou součástí prevence infekcí spojených se zdravotní péčí. Infekce spojené se zdravotní péčí představují aktuální problém nejen pro zdravotnické zařízení samotné, ale zejména pro pacienta. Jedná se totiž o důležitý indikátor kvality poskytované zdravotní péče, který odráží epidemickou situaci nemocničního prostředí. Cílem výzkumu bylo zhodnotit prováděný monitoring čistoty prostředí v jednom zdravotnickém zařízení terciárního typu za šestileté období a zjistit, zda přispívá ke zvýšení kvality ovzduší čistých prostor. Dílčím cílem bylo zjistit, zda jsou v případě nevyhovujících výsledků přijímána relevantní nápravná opatření a pokud ano, zhodnotit míru jejich účinnosti. Práce rovněž přibližuje i stav vnitřního ovzduší operačních sálů v dalších třech zdravotnických zařízeních v České republice. Práce dále poukazuje na úskalí, se kterými se hygienici během své práce při zajišťování aseptických podmínek setkali.

Metodika: Pro monitoring čistoty vnitřního ovzduší bylo zvoleno měření počtu částic ve vznosu a mikrobiologická kontrola aktivní metodou aeroskopem. Postupy vycházejí z doporučení Státního ústavu pro kontrolu léčiv, z české a slovenské legislativy a evropských normativů. Celkově bylo odebráno pro stanovení prachových částic ve vznosu 940 vzorků a pro mikrobiologickou kontrolu 559 vzorků. V návaznosti na výsledky byla aplikována nápravná opatření s následným hodnocením sledovaných parametrů.

Výsledky: Výsledky prokázaly 21 nevyhovujících nálezů při stanovení prachových částic a 44 nevyhovujících nálezů u mikrobiologické kontroly. Je doloženo snížení počtu částic ve vznosu, počtu kolonií a také eliminaci vláknitých hub a podmíněných patogenů přijetím účinných protiepidemických opatření. V druhé části výsledky demonstrují aktuální stav čistých prostorů zdravotnických zařízení, u kterých se zmiňovaný monitoring běžně neprováděl.

Závěr: Shrnutí zkušeností z šestiletého monitoringu ovzduší ve zdravotnickém zařízení může sloužit pro zavádění i zefektivňování monitoringu ovzduší čistých prostor ve zdravotnických zařízeních.

Klíčová slova: čisté prostory, operační sály, monitoring vnitřního ovzduší, infekce spojené se zdravotní péčí, prachové částice ve vznosu, mikrobiální flóra

SUMMARY

Introduction: Maintenance of the environment's quality in clean areas and operating theatres is a key element in the prevention of healthcare-associated infections in healthcare facilities. Healthcare-associated infections represent current problem not only for the healthcare facility itself, but more critically for the patient. In fact, it is an important indicator of healthcare's quality which reflects the epidemic level of the hospital environment. The aim of the research was to evaluate executed monitoring of environmental cleanliness conducted in one health care facilities of tertiary type over a 6year period, and determine if it contributes to the improvement of clean area's air quality. Part of an objective was to determine if relevant corrective measures are taken in case of unsatisfactory results, and if so, evaluate their effectiveness. The final objective was to develop an improvement proposal for the clean area air's effectiveness monitoring in health care facilities. Thesis also presents the state of operating theatres' internal air in three other healthcare facilities in the Czech Republic. Thesis also demonstrates the problems which hygienists encountered in their work to ensure aseptic conditions.

Methods: For indoor air cleanliness monitoring, the measurement of the number of particles in the air and microbiological control of the air by active aeroscopic method was chosen. The sampling procedures are based on the recommendations of the State Institute for Drug Control, from Czech and Slovak's legislation and European standards. A total of 940 samples were taken for the dust particles determination in the air and 559 samples for microbiological control. Based on results, corrective measures were applied with subsequent evaluation of the monitored parameters.

RESULTS: The results showed 21 unsatisfactory findings for dust particles and 44 unsatisfactory findings in microbiological control. They also demonstrate a reduction in the number of particles in the air, the number of colonies and also elimination of the filamentous fungi and conditional pathogens by taking effective anti-epidemic measures. In the second part, results demonstrated current condition of cleanrooms in healthcare facilities where the above-mentioned monitoring is not routinely performed.

Conclusion: Summary of 6 year's air monitoring experience in a healthcare facility can be useful for the other health care facilities, in implementing and streamlining clean areas and operating room's air monitoring.

Keywords: cleanrooms, operating rooms, indoor air monitoring, healthcare associated infections, airborne dust particles, microbial flora

OBSAH

ÚVOD	9
1 INFEKCE SPOJENÉ SE ZDRAVOTNÍ PÉČÍ	11
1.1 Definice HAI	11
1.2 Rizika vyplývající z HAI	11
1.3 Klasifikace HAI	13
1.4 Etiopatogeneze HAI	14
1.5 Legislativa HAI	18
2 ČISTÉ PROSTORY A OPERAČNÍ SÁLY	19
2.1 Čisté prostory	19
2.2 Operační sály	21
2.3 Hygienické požadavky na monitoring v čistých prostorech	23
2.3.1 Čisté prostory	23
2.3.2 Operační sály	27
3 ZAJIŠTĚNÍ PROTIEPIDEMICKÉHO REŽIMU	29
3.1 Technologické postupy	29
3.2 Rizikové oblasti	31
3.2.1 Hygiena rukou	31
3.2.2 Osobní předměty	32
3.2.3 Ochranné osobní pracovní pomůcky	32
3.3 Dodržování protiepidemického režimu v čistých prostorech	34
4 VLASTNÍ MONITORING ČISTOTY VNITŘNÍHO OVZDUŠÍ	37
4.1 Praktická východiska práce	37
4.2 Monitorování pracovišť	37
4.2.1 Zdravotnické zařízení terciárního typu	37
4.2.2 Vybraná zdravotnická zařízení ČR	39
4.3 Metodika monitoringu	40
4.3.1 Zdravotnické zařízení terciárního typu	42
4.3.2 Vybraná zdravotnická zařízení ČR	42
4.3.3 Postup odběru vzorků	43

5	VÝSLEDKY.....	50
5.1	Výsledky monitoringu ve ZZTT	50
5.1.1	Prachové částice ve vznosu – čisté prostory.....	50
5.1.2	Prachové částice ve vznosu – operační sály	51
5.1.3	Mikrobiální kontaminace – čisté prostory	53
5.1.4	Mikrobiální kontaminace – operační sály.....	60
5.2	Výsledky monitoringu vybraných zdravotnických zařízení v ČR	63
6	PROTIEPIDEMICKÁ OPATŘENÍ ZZTT	67
7	DISKUSE	72
	ZÁVĚR	78
	SEZNAM ZKRATEK	79
	SEZNAM LITERATURY	80
	SEZNAM TABULEK	92
	SEZNAM OBRÁZKŮ	93
	SEZNAM PŘÍLOH.....	94

ÚVOD

Ve vnitřních prostorech se vyskytuje celá řada mikroorganismů, na které je zdravý jedinec adaptován a žije s nimi v symbióze. Existují však i prostory, na které jsou kladeny vysoké nároky na čistotu z důvodu prevence vzniku infekcí spojených se zdravotní péčí, tzv. Healthcare-Associated Infections (dále jen HAI). Tyto prostory se označují termínem „čisté prostory“ a jsou součástí zdravotnických a farmaceutických zařízení (1). Čisté prostory slouží k přípravě farmaceutických přípravků, kdy je nutné zaručit zdravotně nezávadné výrobky, které nejsou kontaminovány mikroorganismy přítomnými ve vzduchu. Mezi čisté prostory můžeme zařadit i operační sály, které představují složité systémy vyžadující čisté prostředí s co nejmenším počtem mikroorganismů, jenž mohou způsobit vznik infekčních onemocnění.

K důležitým faktorům, které mohou mít vliv na čistotu prostředí patří strukturální charakteristika zařízení, stav pacienta, typ prováděného procesu či výkonu, chování personálu (i chirurgického týmu) a v neposlední řadě účinnost vzduchotechnického systému (dále jen VZT) (2, 3). Tyto vnitřní podmínky mohou ovlivnit kvalitu léčivého produktu, výsledek operace i bezpečnost pacientů a zdravotnického personálu.

Většina mikroorganismů způsobujících HAI má endogenní původ v mikrobiomu pacienta. Příležitostně mohou být příčinou vývoje HAI i mikroorganismy získané z exogenního zdroje, nevyjímaje ani zdravotnický personál. Lidské tělo je holobiont představující domov pro miliardy mikroorganismů a může emitovat až $3,7 \times 10^7$ bakteriální a $7,3 \times 10^6$ mykotické flóry za hodinu. Tyto mikroorganismy mohou být pro náš život a zdraví prospěšné, avšak za určitých podmínek mohou mít na zdraví negativní vliv a pacientům způsobit až fatální následky (4).

Nejzávažnější problém představuje kontaminace vnitřního ovzduší prostor různými potenciálně patogenními a patogenními mikroorganismy, především aerobní flórou, stafylokoky a streptokoky (5, 6). Tyto mikroorganismy mohou být uvolňovány kůží (zejména, když je suchá), respiračním aerosolem, prachovými částicemi a textilními vlákny (4). Právě z těchto důvodů má kontrola prašnosti a mikrobiální kontaminace vnitřního ovzduší v čistých prostorech a na operačních sálech opodstatnění (7).

V prostředí čistých prostorů je přítomnost mikroorganismů spojená s potenciální kontaminací připravovaného léčivého produktu, proto je potřeba klást důraz na správnou výrobní praxi a dodržování aseptických procesů při přípravě parenterální výživy a léčivých

přípravků (8). V případě operačních sálů je přítomnost mikroorganismů spojená s výskytem infekcí vzniklých v místě chirurgického výkonu (Surgical Site Infection – dále jen SSI). Celosvětově představují SSI 14–20 % všech HAI, které se podílí na zvyšování mortality a morbidit. Tyto infekce dále způsobují prodloužení hospitalizace pacientů v nemocnici, v důsledku čehož rostou náklady na zdravotní péči a dochází k zatěžování celého zdravotnického systému (4). V závislosti na typu operace se SSI vyskytují až u 9,5 % chirurgických výkonů a přibližně u 500 případů na 100 000 pacientů přispívají ke vzniku zdravotního postižení (7). Ročně se objeví až 2 600 000 nových případů HAI, z nichž je 800 000 typu SSI s odhadovanou denní mortalitou 58 případů na 100 000 pacientů (9).

Studie se zabývala hodnocením stavu vnitřního ovzduší čistých prostor a odběrových operačních sálů ve zdravotnickém zařízení terciárního typu (dále jen ZZTT) a v dalších třech vybraných zdravotnických zařízeních terciárního typu v České republice. Sledování spočívalo ve stanovení počtu prachových částic ve vznosu a v hodnocení mikrobiální kontaminace vnitřního ovzduší.

1 INFEKCE SPOJENÉ SE ZDRAVOTNÍ PÉČÍ

1.1 Definice HAI

Infekci spojenou se zdravotní péčí můžeme na základě doporučení rady Evropské unie o bezpečnosti pacientů definovat jako onemocnění či patologický stav spojený s přítomností infekčního agens nebo jeho produktu za současné expozice ve zdravotnických zařízeních nebo při zdravotnických postupech či léčbě (10).

Dle *Zákona č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví* je infekce spojená se zdravotní péčí definována jako nemoc či patologický stav vzniklý v souvislosti s přítomností původce infekce nebo jeho produktů v souvislosti s pobytem nebo výkonem prováděnými osobou poskytující péči ve zdravotnickém zařízení, v týdenním stacionáři, domově pro osoby se zdravotním postižením, domově pro seniory nebo v domově se zvláštním režimem, v příslušné inkubační době (11).

1.2 Rizika vyplývající z HAI

Infekce spojené se zdravotní péčí mohou mít vážné následky pro pacienty i pro poskytovatele zdravotní péče, které se týkají zejména prodloužení hospitalizace a ošetřování pacientů, vzniku rezistence mikroorganismů vůči antimikrobiálním přípravkům, nárůstu morbidit a mortality a významné finanční zátěže pro poskytovatele zdravotní péče (12).

Mezi nejvýznamnější rizika vyplývající z HAI patří antibiotická rezistence, ovlivnění kvality života pacientů, ovlivnění prognózy a mortality a také epidemiologických trendů.

Antibiotická rezistence

Stoupající rezistence k antibiotikům patří k významným problémům současného zdravotnictví. V posledních letech přibývají rezistentní kmeny bakterií způsobující závažnější průběh onemocnění s obtížnou léčbou. V současnosti se stále častěji objevují také panrezistentní kmeny bakterií, na které žádná známá antibiotika již neúčinkují. Ztráta účinnosti antiinfekční léčby se stala realitou dnešní doby a dosavadní trendy jsou vesměs nepříznivé.

Kvalita života pacientů

HAI vzniklá při poskytování zdravotní péče může zkomplikovat průběh hospitalizace nebo přinejmenším zhorší kvalitu života postiženého pacienta. Nelze přehlédnout skutečnost, že

infekce mohou způsobit i trvalé poškození zdraví se závažnými následky vedoucími k invaliditě pacienta (13).

Prognóza a mortalita

Nejzávažnějším důsledkem HAI je smrt pacienta. Infekce krevního řečiště mají nejvyšší úmrtnost, pokud vyústí v těžkou sepsi nebo septický šok. Případy způsobené bakteriálním kmenem *Staphylococcus aureus* mají úmrtnost kolem 20 až 30 % (10). To znamená, že až třetina pacientů s touto infekcí umírá v přímé souvislosti s ní. Průměrná úmrtnost na katérové infekce krevního řečiště je 15 % a stejný údaj se uvádí u pneumonií spojených s ventilátorem. Naproti tomu infekce močových cest vedou k úmrtí jen zřídka, pokud nejsou komplikovány sekundární infekcí krevního řečiště a sepsí. U SSI je významná atributivní mortalita hlášena v kategorii infekcí orgánů a tělních dutin (peritonitida) (10).

Epidemiologické trendy

V akutní lůžkové péči je v posledních desetiletích patrný trend výrazného zkracování průměrné délky hospitalizace. Řada zákroků byla přenesena do ambulantní sféry, zejména díky moderním technologiím (endoskopická chirurgie, jednodenní chirurgie). Na první pohled by se riziko HAI mělo snižovat, ale skutečnost je někdy jiná, výskyt těchto infekcí stagnuje nebo dokonce stoupá. Jedním z důvodů je poskytování zdravotní péče rizikovým skupinám pacientů (věk, chronicita). Dalším faktorem je široká škála možností léčby stavů, které byly dříve neslučitelné se životem, a to díky pokroku v intenzivní medicíně, která používá zákroky náchylné k infekcím (umělá plicní ventilace, cévní katetrizace). Riziko se zvyšuje také při používání různých umělých implantátů. Také léčba vyvolávající imunosupresi (transplantace, léčba rakoviny) zvyšuje pravděpodobnost specifických infekčních komplikací a používá se stále častěji. Vysoká spotřeba antibiotik zvyšuje riziko invazivních mykotických infekcí, jejichž prognóza je vždy závažná. Péče o tyto pacienty je velmi nákladná a odčerpává značnou část finančních prostředků, přičemž určitá část hospitalizovaných pacientů může spotřebovat až desítky procent rozpočtu zdravotnického zařízení (10).

1.3 Klasifikace HAI

Důležitou charakteristikou HAI je, že pacient není při příchodu do zdravotnického zařízení v inkubační době infekčního onemocnění (HAI propuknou po 48 hodinách od přijetí k hospitalizaci). Pokud je již v inkubační době, jedná se o komunitní infekci. Pokud k infekci došlo v jiném zdravotnickém zařízení, ze kterého byl pacient přeložen nebo předtím propuštěn do domácího ošetření, jedná se o HAI původního zdravotnického zařízení. Projevy HAI se mohou objevit i po delší době po propuštění pacienta ze zdravotnického zařízení, u onemocnění s delší inkubační dobou (např. virová hepatitida B) i po několika měsících a po operaci s implantáty až po jednom roce (13, 14).

Z hlediska epidemiologie, prevence a terapie se HAI dělí na nespecifické, specifické, endogenní a exogenní.

Nespecifické HAI

Jedná se o infekce, které obecně odrážejí epidemiologickou situaci v místě zdravotnického zařízení (např. respirační infekce) nebo jsou ukazatelem hygienické úrovně zdravotnického zařízení (alimentární infekce). Šíření infekcí probíhá ve zdravotnickém zařízení stejně jako v kolektivech. Důležitým preventivním opatřením je zde pečlivá osobní a epidemiologická anamnéza při přijetí pacienta a přísné dodržování protiepidemického režimu ve zdravotnickém zařízení. Mikroorganismus jako původce těchto infekcí má obvykle charakter komunitních kmenů, které jsou dobře citlivé na antibiotika.

Specifické HAI

Specifické HAI vznikají v důsledku diagnostických a terapeutických postupů prováděných na pacientovi. Původci těchto infekcí se do těla dostávají přes tři velké (kůže, dýchací a trávicí ústrojí) a dva malé (spojivky a urogenitální ústrojí) epitelové povrchy. Zásadní je porušení integrity povrchu vstupní brány, ke kterému dochází při invazivních zákrocích. Infekční agens je vázáno na zdravotnický prostředek. Kromě patogenních původců existují také mikroorganismy, které jsou podmíněně patogenní (střevní flóra) a v běžném prostředí nepatogenní. Výskyt tohoto typu HAI ovlivňuje úroveň aseptiky, sterilizace, dezinfekce a úroveň dodržování protiepidemického režimu.

Endogenní HAI

Endogenní HAI jsou způsobeny vlastním infekčním agens, které je přeneseno z kolonizovaného místa do jiného systému, do rány apod. K přenosu dochází krví, nejčastěji při

chirurgických nebo instrumentálních zákrocích. Tento typ infekce se může vyskytnout zejména u imunosuprimovaných jedinců, např. při ozařování, chemoterapii apod. Etiologickým agens jsou mikroorganismy vlastního mikrobiomu již přítomné v těle, obvykle nepatogenní. Endogenním infekcím lze předcházet jen v omezené míře. Ty tvoří naprostou většinu případů HAI, v průměru se jedná asi o 70 % (15).

Exogenní HAI

Exogenní HAI vznikají přenosem infekčního agens do organismu z vnějšího prostředí. Jedná se především o přenos původců z jiných nemocných, méně často z prostředí, a to většinou kontaktem, nejčastěji prostřednictvím kontaminovaných rukou nebo zdravotnických pomůcek. Exogenní HAI se objevují v pozdější fázi hospitalizace (od 5. dne). Často jsou způsobeny multirezistentními kmeny, tzv. nemocničními (15).

1.4 Etiopatogeneze HAI

Riziko infekce se zvyšuje invazivními, klinicky nezbytnými postupy (jako je zavádění katétrů), ale také architektonickými vlastnostmi nemocničního prostředí (jako jsou ventilační systémy), nebo nedostatečnými hygienickými postupy (16).

K přenosu mikrobiálních agens při HAI dochází přímým přenosem (přímý kontakt, kontaminovaný aerosol – kapénky) a nepřímým přenosem (zdravotnické prostředky a vybavení), přičemž prokazatelně nejčastějšími cestami jsou ruce zdravotnického personálu (17). Předpokládá se, že většina HAI se přenáší přímo z pacienta na pacienta, avšak čím dál více důkazů ukazuje na fakt, že zdrojem infekce bývá zdravotnický personál, stejně jako klinické prostředí (tj. povrchy a vybavení). Jedním z hlavních vektorů kontaminace jsou ruce zdravotnického personálu, které přispívají k přibližně 20–40 % HAI (18, 19, 20, 21, 22).

Jak již bylo zmíněno, nejvýznamnějším rizikovým faktorem v přenosu infekcí jsou ruce zdravotnického personálu, především u nejčastěji se vyskytujících HAI s nejzávažnějšími důsledky, ke kterým patří katérové infekce krevního řečiště, ventilátorová pneumonie, infekce močových cest a SSI.

Katérové infekce krevního řečiště

Katérové infekce krevního řečiště jsou způsobeny kolonizací cévního katétru, k nimž dojde v důsledku jeho kontaminace mikroorganismy (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burgholderia cepacia*, *Acinetobacter baumani*).

K exogenním faktorům vzniku těchto infekcí patří nedodržení aseptické techniky zavádění katétru, nedostatky v hygieně rukou při ošetřování a manipulaci se zaváděným katétre a také chybné krytí katétru.

Ventilátorová pneumonie

Ventilátorová pneumonie vzniká postupnou kolonizací sliznic horních a dolních dýchacích cest podmíněnými patogeny (enterobakterie, *Pseudomonas aeruginosa*). Exogenními faktory zapříčiňujícími vznik ventilátorové pneumonie jsou kontaminace ventilačních okruhů a rovněž ruce zdravotnického personálu.

Infekce močového ústrojí

Infekce močového ústrojí vznikají při mikrobiální kontaminaci a kolonizaci katetrizačních pomůcek (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp*¹, *Proteus spp.*, enterokoky). Exogenní faktory jsou v tomto případě ruce zdravotnického personálu a kontaminované pomůcky.

Infekce v místě chirurgického výkonu (SSI)

Mikrobiální kontaminace operačního pole může vzniknout v průběhu operace a následného ošetřování operační rány. K nejčastějším původcům těchto infekcí patří *Staphylococcus aureus*, koaguláza-negativní stafylokoky, enterobakterie a enterokoky. Exogenními faktory vzniku SSI jsou kontaminované pomůcky, nezabezpečení operačního pole a ruce zdravotnického personálu.

Riziko vzniku SSI je spojeno prakticky s jakýmkoliv chirurgickým výkonem. Tyto infekce představují jednu z hlavních komplikací u chirurgických pacientů (23). V Evropě a Spojených státech jsou SSI druhým nejčastějším typem HAI (24).

V prostředí operačních sálů je přítomnost mikroorganismů úzce spojena se zvýšeným výskytem získaných SSI. Přibližně 14–20 % všech infekcí získaných v nemocnici jsou SSI, což má za následek vyšší nemocnost i úmrtnost. V důsledku prodloužení hospitalizace pacienta s SSI také dochází k růstu nákladů na zdravotní péči a tím další zátěži celého zdravotnického systému (25). Většina mikrobů způsobujících SSI má endogenní zdroj – pacientovu mikroflóru. Příležitostně mohou být příčinou rozvoje SSI mikroorganismy získané z exogenního zdroje, jako je prostředí operačního sálu nebo zdravotnický personál (6).

¹ spp. (species) = druh

Faktory, které mohou vést k rozvoji SSI, jsou rozmanité a lze je rozdělit do 3 hlavních kategorií:

- charakteristiky související s pacientem (např. věk, obezita, diabetes mellitus a další onemocnění),
- charakteristiky chirurgických postupů (např. délka operace, typ výkonu, dovednosti chirurga, kontrola hypotermie, antibiotická terapie, chování a vybavení chirurgického personálu),
- prostředí operačního sálu (6, 26).

Ve většině studií byl vztah mezi těmito faktory a rozvojem SSI zkoumán především na základě stanovení počtu částic ve vzduchu na operačním sále za různých podmínek. Počet částic ve vzduchu se během chirurgického zákroku mění – na začátku je vyšší z důvodu přípravy pacienta a chirurgického lůžka a také kvůli zvýšenému pohybu zdravotnického personálu (27). Celkový počet částic ve vzduchu se na operačních sálech zvyšuje i z dalších důvodů. Chirurgický personál a pacienti totiž uvolňují částice kůže (zejména, když je kůže suchá), respirační aerosoly, prachové částice a textilní vlákna obsahující životaschopné mikroorganismy. Navíc Cristina a spol. (2012) prokázali, že použití určitých nástrojů (např. ultrazvukový skalpel, laserová koagulace), které produkují chirurgický kouř, zvyšuje počet prachových částic ve vzduchu na operačním sále během chirurgických zákroků, avšak v tomto případě zvyšující se počet částic nekoreluje s mikrobiální zátěží (26).

Výskyt infekcí operační rány je silně ovlivněn celkovou kvalitou provedení operačního sálu, která je dána strukturálními vlastnostmi zařízení a jeho systémů, a také chováním zdravotnického personálu (26, 28). Kromě přítomnosti chirurgického personálu může právě způsob jejich chování vést ke zvýšenému počtu mikrobiologických částic. Několik studií prokázalo, že počet osob přítomných během chirurgického zákroku do značné míry ovlivňuje počet polétavých částic, jejich pohyb vede k resuspenzi případných usazených prachových částic a rychlost otevírání dveří způsobuje nárůst počtu bakterií, které mohou vniknout do prostoru operačního sálu (29, 30). Aby se snížilo množství částic uvolňovaných zdravotnickým personálem a eliminoval se výskyt SSI, je směrnicemi doporučováno používání alkoholových dezinfekčních prostředků na ruce, dále nošení dvojích rukavic, obličejových masek a čepic pro zakrytí vlasů. Během chirurgických zákroků je rovněž doporučováno používat jednorázové nepropustné oděvy vyrobené z netkaných textilií (4). Některé studie prokázaly, že výskyt SSI

se zvýšil, když zdravotnický personál navštěvoval v operačním oděvu a obuvi okolní prostory mimo operační sály (31, 32).

Je známo, že až 30 % všech SSI je způsobeno bakterií *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), zejména kmeny rezistentními na meticilin (MRSA) (33). *Staphylococcus aureus* je jedním z nejčastěji izolovaných mikroorganismů z prostředí operačního sálu a typickým mikroobem asociovaným s kůží, což naznačuje, že na operačním sále dominuje lidská mikroflóra (34).

Ve dvou různých studiích byl zkoumán počet *S. aureus* v různých zónách operačních sálů. Počet byl zvýšen v kritické zóně (v těsné blízkosti pacienta) ve srovnání se střední a periferní zónou operačního sálu (35). Kromě *S. aureus* a *Staphylococcus spp.* byly z operačního sálu izolovány další mikroorganismy jako: *Enterobacter spp.*, *Micrococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Brevibacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Bacillus spp.* a *Escherichia coli* (30, 32, 33, 36, 37).

Obvykle se mikroflóra spojená s SSI zkoumá metodami závislými na kultuře a zahrnuje dobře známé oportunní patogeny (např. *S. aureus*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* a *Escherichia coli*). Nicméně studie provedená Wolcottem a spol. ukazuje, že naprostá většina mikroorganismů vázaných na SSI je neidentifikovatelná pomocí standardních kultivačních metod a skládá se převážně z anaerobů, přičemž většina patří do rodu *Bacteroides* (38).

Přímý přenos mikrobiálních agens zdravotnickým personálem na pacienty probíhá v pěti krocích:

1. krok: mikrobiální agens se nachází na kůži pacienta nebo bylo přeneseno do jeho okolí objekty v jeho bezprostřední blízkosti (patientská zóna);
2. krok: mikrobiální agens pacienta se přeneso na ruce nemocničního personálu;
3. krok: mikrobiální agens má schopnost přežít na ruce nemocničního personálu – od několika minut až po několik hodin (viz tabulka 1);
4. krok: absence hygienické dezinfekce rukou, kdy není dodržena stanovená expozice dezinfekčního prostředku nebo použití nevhodných prostředků pro hygienu rukou;
5. krok: přímý kontakt kontaminovaných rukou nemocničního personálu s jiným pacientem.

Tabulka 1: Přežívání mikroorganismů na živých a neživých plochách

Patogen	Četnost výskytu na rukách	Přežívání na rukách	Přežívání na neživých površích
<i>Acinetobacter spp.</i>	3–15 %	≥ 150 min.	3 dny až 5 měsíců
<i>Clostridium difficile</i>	14–59 %	není známo	vegetativní buňky >24 hod. spory až 5 měsíců
<i>Escherichia coli</i>	není známo	6–90 min.	2 hodiny až 16 měsíců
<i>Pseudomonas spp.</i>	1,3–25 %	30–180 min.	6 hodin až 16 měsíců
MRSA	až 16,9 %	není známo	4 týdny až 7 měsíců
<i>S. marcescens</i>	15,4–24 %	> 30 min.	3 dny až 2 měsíce
<i>S. aureus</i>	10,5–78,3 %	> 150 min.	4 týdny až 7 měsíců
VRE	až 41 %	až 60 min.	5 dnů až 4 měsíce

Zdroj: www.bode-science-center.com

1.5 Legislativa HAI

Dle *zákona č. 372/2011 Sb.* je poskytovatel zdravotní péče povinen v rámci prevence a kontroly infekcí zpracovat program pro prevenci a kontrolu infekcí spojených se zdravotní péčí a zajistit jeho činnost tak, aby pacientovi byla poskytována zdravotní péče v co nejméně omezujícím prostředí při zajištění kvality a bezpečí poskytovaných zdravotních služeb (39).

Z pohledu prevence vzniku a šíření infekcí spojených se zdravotní péčí ukládá poskytovateli *zákon č. 258/2000 Sb.* v § 15 povinnost činit hygienická a protiepidemická opatření k předcházení vzniku a šíření infekce spojené se zdravotní péčí, a v § 16 při jejím výskytu neprodleně zjistit její příčiny a zdroje, způsob přenosu původce a provést odpovídající protiepidemická opatření k zamezení jejího dalšího šíření (11).

2 ČISTÉ PROSTORY A OPERAČNÍ SÁLY

2.1 Čisté prostory

Čisté prostory jsou zařízení sloužící k zajištění kvality a bezpečnosti mnoha výrobních procesů, zejména ve farmaceutickém průmyslu (40). Cílem čistého prostoru je nejprve zajistit čisté prostředí podle mezinárodně uznávaných norem a poté zajistit a kontrolovat všechny druhy podmínek, které vyžaduje technologické prostředí související s procesem (41).

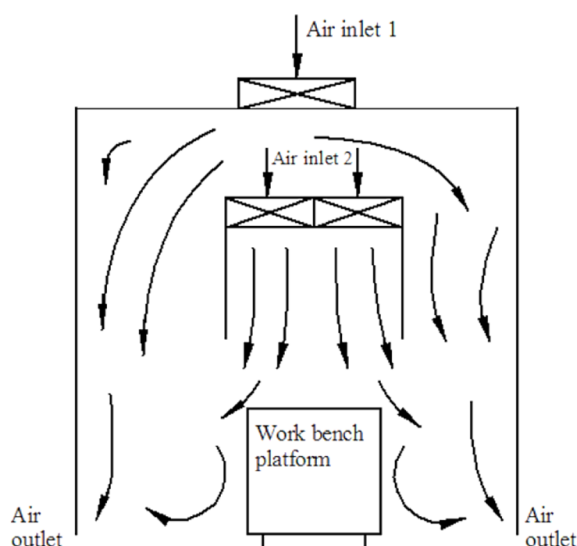
Čistý prostor je definován jako prostor, v němž je řízena koncentrace částic ve vznosu, a který je konstruován a využíván takovým způsobem, aby to minimalizovalo zanesení, generování a zadržování částic uvnitř prostoru, a v němž jsou řízeny ostatní relevantní parametry, např. teplota, vlhkost a tlak vzduchu (17).

Z důvodu minimalizace tvorby částic a mikrobiologické kontaminace musí mít čisté prostory zajištěny systémy kontroly prostředí. Tato kontrolní opatření jsou rovněž nutná k zabránění přenosu jakékoli kontaminace do kritické oblasti a k ochraně farmaceutických přípravků. Primárním nebezpečím v čistých prostorech jsou částice o průměru menším než 0,5 μm , které mohou zůstat ve vzduchu po celé hodiny, protože jsou dvakrát lehčí než vzduch, a také mikroorganismy, z nichž se většina nachází v ovzduší. Tyto částice obsahující různé druhy bakterií, které mohou zvýšit riziko infekce tím, že v ovzduší místnosti přetrvávají po dlouhou dobu. Mohou kontaminovat produkt buď vzdušnými proudy (volně polétavé v ovzduší) nebo sedimentací vlivem gravitace. Nejvíce se ale mikroorganismy vážou na „částice nesoucí mikroby“, jako je prach nebo kožní šupinky (17). Ačkoliv některé mikroorganismy přenášené vzduchem mohou být pro zdravé lidi neškodné, mohou mít dopad na zranitelnou skupinu imunosuprimovaných pacientů a způsobit tak vážné ohrožení zdraví (42). Tyto mikroorganismy, které způsobují infekce, se při pohybu ve vzduchu většinou drží na částicích zvaných KTJ (kolonie tvořící jednotky), které mají velikost přibližně 15 mikrometrů. Proto je velmi důležité udržovat počet KTJ během provozu v čistých prostorech pod stanovenými limity. Z tohoto důvodu je VZT systém ve farmaceutickém průmyslu jedním z nejdůležitějších prvků ve výrobním procesu. Pracovní prostor je citlivý na znečištění vzduchem, proto je nutné zajistit odpovídající ochranu před vniknutím kontaminujících látek (43, 44).

Myšlenku používat čisté prostředí s kontrolovanou biokontaminací ke zvýšení hygienických standardů poprvé realizovali dva lékaři, Semmelweis a Lister

v 19. století. Uvědomili si přítomnost „neviditelné hrozby“, kterou dnes identifikujeme jako přítomnost (oportunních) patogenních mikroorganismů nebo virů. Svými vyvinutými protipatřeními byli schopni významně snížit úmrtnost v nemocnicích (45). Byl to však Willis Whitfield, kdo v roce 1960 vytvořil základ moderní čisté místnosti a vyřešil problém kontaminujících částic a nepředvídatelných proudů vzduchu aplikací konstantního proudění vysoce filtrovaného vzduchu k vyplavení nečistot ze vzduchu (46). Výsledkem „čistého“ výrobního procesu je produkt, který neobsahuje znečišťující látky. Takovými kontaminanty mohou být samotné mikroorganismy a jejich zbytky, biomolekuly obecně, stejně jako jakékoli (anorganické) částice, které by mohly ovlivnit výrobní proces a kvalitu konečného produktu.

Instalace čisté výrobní linky vyžaduje řádné plánování před vlastním provozem, včetně zvážení specifických požadavků na produkt (47). Je třeba přijmout konkrétní rozhodnutí s ohledem na provoz (tj. výměnu materiálů (produktů) a personálu), údržbu a monitorování (tj. měření stavu vzduchu, prachových částic, dynamiky proudění, akustiky, elektrostatiky, elektromagnetického záření, zdrojů kontaminace, rizik a jejich posouzení, koncepce zařízení pro proudění vzduchu, skříně s laminárním prouděním, filtrační ventilátorové jednotky), výpočty spotřeby energie a médií, jakož i hygienické protokoly a vyhodnocení (tj. dezinfekce, dekontaminace).



Obrázek 1: Schématické znázornění proudění vzduchu v čistém prostoru

Zdroj: Scheaua, 2017

2.2 Operační sály

Operační sály jsou technicky vzato čisté prostory. Jedná se o hygienické prostředí s teplotou, vlhkostí, tlakem, hladinou hluku a pohybem vzduchu v určitých mezích, které chrání před anorganickými částicemi, jako je prach, odpadní anestetický plyn a nepříjemný zápach, nebo organickými částicemi, jako jsou mikroorganismy (48). Operační sály vyžadují čisté prostředí s co nejmenším počtem mikroorganismů, které mohou způsobit vznik infekčních onemocnění. K důležitým faktorům, které mohou mít vliv na čistotu prostředí patří strukturální charakteristika zařízení, stav pacienta, typ prováděného výkonu, chování chirurgického týmu a v neposlední řadě účinnost VZT systému (3, 2). Tyto podmínky, jak již bylo uvedeno, mohou ovlivnit výsledek operace, bezpečnost pacientů a pohodlí operačního týmu. Nejzávažnější problém představuje kontaminace vnitřního ovzduší různými potenciálně patogenními a patogenními mikroorganismy, především aerobní flórou, stafylokoky a streptokoky (4, 6).

Nelze opomenout skutečnost, že operační sály neslouží pouze pro aseptickou a superseptickou intervenci. Operační sály jsou také součástí transplantačního programu a slouží jako odběrové sály. Odběr a transplantace tkání se mohou pohybovat od léčby zachraňující život (např. katastrofálních popálenin) až po zlepšení kvality života. V USA se ročně provede více než 1,5 milionu tkáňových štěpů a přibližně 38 000 ročně ve Francii, ve srovnání s Českou republikou, která jich provede ročně do 900 (49, 50, 51). Neustálé zlepšování a aktualizace mezinárodních doporučení vedlo v posledních 20 letech ke zvýšení kvality a bezpečnosti tkáňového štěpu (52). Většina (80 %) tkáňových aloštěpů jsou kostní femorální hlavice získané od žijících dárců během operace kyčle (50). Operace kyčle je vysoce sterilní chirurgický zákrok, který omezuje riziko mikrobiální kontaminace. Hlavní mikroorganismy izolované na vzorcích tkání získaných od zemřelých dárců jsou *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium*, *Clostridium*, *Escherichia coli* a mikroskopické vláknité houby, zejména z rodu *Candida* (53, 54). Standardní operační sál teoreticky představuje nejlepší místo pro provedení odběru tkáně z hlediska infekčního rizika.

V prostředí operačních sálů je přítomnost mikroorganismů spojená především s výskytem SSI (4). Právě to jsou důvody, proč má kontrola prašnosti a mikrobiální kontaminace vnitřního ovzduší na operačních sálech opodstatnění (7). Ačkoli nebyla prokázána žádná přímá souvislost mezi mikrobiální kontaminací ve vzduchu a infekcí operační rány (55), obecně se uznává, že vyšší úroveň mikrobiální kontaminace přenášené vzduchem by zvýšily míru výskytu SSI (56).

Jednotlivé operační sály jsou součástí komplexů operačních sálů, které jsou architektonicky rozděleny do čtyř různých zón podle úrovně čistoty s klesající bakteriální zátěží z vnější do vnitřní zóny. Tyto zóny jsou udržovány diferenciací klesajícím přetlakem, aby se zabránilo proudění nefiltrovaného vzduchu směrem dovnitř operačních sálů (6, 57). Tyto čtyři zóny lze rozdělit na:

- a) aseptickou zónu – operační sál;
- b) čistý prostor, který spojuje ochranný prostor s aseptickou zónou – spojovací chodby;
- c) ochranný prostor, který zahrnuje personální filtr, pracovny personálu, příjmové místnosti (překlad) a skladové prostory;
- d) sklady odpadů (58).

Kontrola infekcí je na operačních sálech dosažena kombinací technologických a osobních ochranných metod. Technologické postupy, které jsou obvykle zajišťovány VZT systémem, fungují tak, aby zabránily šíření vzduchem přenášených infekčních patogenů filtrováním a odsáváním kontaminovaného vzduchu z místnosti, a tím kontrolují směr proudění vzduchu v budově (59, 60). K redukci a odvětrávání kontaminovaného vzduchu se používají dva typy ventilačních systémů, a to jednosměrné (laminární), které může být jednorůchodové nebo s recirkulací vzduchu a konvenční turbulentní. Popis laminárního a turbulentního proudění vzduchu demonstruje obrázek v příloze č. 1. Místnosti s jednosměrným prouděním jsou nákladnější na vybudování než místnosti s turbulentním prouděním a obvykle se pro čisté prostory ve farmaceutické výrobě nepreferují (8). Vzduchotechnické systémy (např. s vertikálním prouděním, exponenciálním laminárním prouděním) jsou vybaveny různými filtry podle prováděných chirurgických výkonů. Většina operačních sálů (zejména zákrokové sály) má konvenční ventilační systém s filtry, které mají účinnost 80–95 % při odstraňování částic $\geq 5,0 \mu\text{m}$ (61). Na operačních sálech používaných pro ortopedické, traumatologické a jiné implantační operace je vzduch filtrován přes HEPA filtry (61, 62, 63, 6).

2.3 Hygienické požadavky na monitoring v čistých prostorech

2.3.1 Čisté prostory

Požadavky pro čisté prostory vycházejí z evropského doporučení pro správnou výrobní praxi EU GMP (Good Manufacturing Practice European Union, dále jen SVP) a z evropské technické normy EN ISO 14644 (harmonizovaná pro ČR jako ČSN EN ISO 14644), která ve své první části stanovuje obecnou normu pro klasifikaci čistoty vzduchu a v části druhé specifikuje testování.

Pro monitorování čistých prostor v České republice se využívají metodiky, které vytvořil Státní ústav pro kontrolu léčiv (dále jen SÚKL). Jedná se o metodický pokyn VYR-32 *Výroba sterilních léčivých přípravků* a metodický pokyn LEK-17 *Příprava sterilních léčivých přípravků v lékárně a zdravotnických zařízeních*. Tyto metodiky vychází z výše uvedeného doporučení SVP a normy EN ISO 14644, a společně s Vyhláškou č. 84/2008 Sb., *o správné lékařské praxi* určují požadavky na čisté prostory pro výrobu sterilních léčivých přípravků a také pro tkáňové banky (64, 65, 66, 68, 69). Mikrobiální monitorování v čistých prostorech se často provádí podle standardních přístupů založených na bázi kultivací mikroorganismů (použití agarových kultivačních misek) za účelem zjištění kontaminace prostředí a zjišťování hodnot prachových částic ve vznosu (67).

Metodický pokyn VYR-32 je překladem revidovaného Annexu 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products k EU GMP, který stanovuje zásady výroby sterilních léčivých přípravků za účelem minimalizace rizika mikrobiální a částicové kontaminace a kontaminace pyrogenními látkami (64). Obecně stanovuje:

- výrobu, která musí probíhat v čistých prostorech, přístupných pouze propustmi pro zaměstnance a/nebo pro zařízení a materiály;
- standardizaci čistoty prostředí, tzn., že do čistých prostorů musí být přiváděn vzduch, který prošel filtry přiměřené účinnosti;
- aseptické podmínky, jejich dodržování při přípravě výchozích látek a primárních obalových materiálů, vlastního přípravku a plnění, které musí probíhat v některých/všech stupních výroby v oddělených prostorech v rámci čistých prostor.

Čisté prostory jsou klasifikovány podle požadovaných charakteristik prostředí, tzn., že každá výrobní činnost vyžaduje přiměřenou úroveň čistoty prostředí za provozu, aby se minimalizovalo riziko mikrobiální nebo částicové kontaminace produktu či zpracovávaného materiálu. Pro dosažení žádoucích podmínek ve stavu „za provozu“, musí být tyto prostory

navrženy tak, aby bylo dosaženo definované úrovně čistoty vzduchu ve stavu „za klidu“. Stavem „za klidu“ se rozumí stav, ve kterém jsou výrobní zařízení zcela nainstalována a jsou v provozu bez přítomnosti zpracovávaného produktu/ obalového materiálu a nejsou zde přítomní pracovníci. Probíhá nejdříve po 15–20 minutách trvající regeneraci ovzduší (doporučená hodnota) následující po ukončení pracovní činnosti. Stav „za provozu“ je stav, kdy výrobní zařízení jsou v běžném provozu s předepsaným počtem pracovníků. Čisté prostory a zařízení by měly být pravidelně monitorovány za provozu a výběr monitorovacích míst by měl být založen na analýze rizik a výsledcích získaných během klasifikace prostor a zařízení. Aby se zamezilo kontaminaci produktu, lze provádět monitoraci i během simulací aseptických procesů.

V čistém prostoru jsou stanovené 4 třídy čistoty – A, B, C a D. Třída A je určená pro pracovní prostor vysoce rizikové činnosti, např. plnicí místo, zásobník pro zátky, otevřené ampule a lahvičky, provádění aseptického propojení. Běžně jsou tyto podmínky zajišťovány VZT systémy s laminárním prouděním vzduchu. Systémy laminárního proudění vzduchu mají zajišťovat homogenní rychlost proudění vzduchu v rozsahu 0,36–0,54 m/s (doporučená hodnota) v pracovním místě v případě otevřeného pracovního prostředí. Zachování laminarity proudění má být prokázáno a validováno. Stejnoseměrné proudění a nižší rychlosti proudění jsou přípustné v uzavřených izolátorech nebo rukávcových boxech. Třída B je určená pro aseptickou přípravu a plnění, jedná se o prostor obklopující prostředí třídy A. Třída C a D je stanovená pro čisté prostory, kde jsou prováděny méně kritické činnosti při výrobě sterilních přípravků (68).

Hlavními kritérii pro klasifikaci čistých prostor jsou průměry částic (0,5 μm a 5,0 μm), jejich koncentrace a počty mikroorganismů (tvořící KTJ) v okolním vzduchu (43). Maximálně přípustný počet částic pro každou třídu čistoty je dán v následující tabulce 2, kterou zohledňuje i Vyhláška č. 84/2008 Sb. *o správné lékárenské praxi*, která vychází z normy EN ISO 14644-1 (65, 66). V roce 2015 došlo k aktualizaci normy EN ISO 14644-1. V souvislosti s tím došlo u třídy čistoty A k zásadní změně – ke zrušení limitů u velikosti částic $\geq 5,0 \mu\text{m}$. Metodický pokyn SÚKL VYR-32 *Výroba sterilních léčivých přípravků*, který využívá maximální přípustné limity prachových částic ze zmíněné normy (konkrétně z její verze z roku 1999), je stále aktuální a doposud nebyl novější verzí revidován. Stejně tak využívá maximálních přípustných limitů prachových částic i metodický pokyn LEK-17 a Vyhláška č. 84/2008 Sb. I když aktualizovaná verze normy EN ISO 14644-1 (z roku 2015) již nezohledňuje prachové částice o velikosti $\geq 5,0 \mu\text{m}$ u třídy čistoty ISO 5 (ekvivalent třída čistota A), jsou stále důležitým limitem ve výrobní farmaceutické praxi.

Tabulka 2: Maximálně přípustný počet částic dle Vyhlášky o správné lékařské praxi

Třída čistoty	Maximální přípustný počet částic/m ³			
	za klidu		za provozu	
	≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm	≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm
A	3 520	20	3 520	29
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	nedefinováno	nedefinováno

Zdroj: Vyhláška č. 84/2008 Sb.

Pro klasifikaci prostor třídy čistoty A je požadován odběr vzorku o objemu 1 m³ pro každé vzorkované místo. Pro třídu čistoty A je předepsán limit pro částice ≥ 5,0 μm podle ISO 4.8. Pro třídu čistoty B (za klidu) je pro obě velikosti částic určen limit podle ISO 5. Pro třídu C (za klidu a za provozu) jsou limity stanoveny podle ISO 7 a ISO 8. Pro třídu D (za klidu) je limit stanoven podle ISO 8.

Minimální počet vzorkovacích míst a velikost vzorků na základě limitů pro největší velikost částic pro danou třídu čistoty a metody vyhodnocení získaných dat definuje norma EN ISO 14644-1 (68). Při určování třídy čistoty musí být průměr koncentrací částic naměřených v každé zóně roven nebo nižší než limit třídy čistoty (43).

Pro třídu čistoty A a B má monitorování částic ≥ 5,0 μm velký význam a je důležitým nástrojem pro včasné odhalení selhání systému. Příležitostný nález částic ≥ 5,0 μm může být způsoben elektronickým šumem, rozptýleným světlem, koincencí apod.

V čistých prostorech je nastaven monitoring čistoty individuálně. Harmonogram testování primárně vychází z VYR-32, který odkazuje na normu EN ISO 14644-2 *Čisté prostory a příslušné řízené prostředí – Část 2* (viz tabulka 3) a dle provozních řádů schválených SÚKL (68, 70). Tabulka 4 uvádí třídy čistoty pro jednotlivé činnosti, které se v nich provádějí (68).

Tabulka 3: Harmonogram testování

Klasifikace	Maximální časový interval	Testovací metoda
<ISO třída 5	6 měsíců	Příloha B v ISO 14644-1
>ISO třída 5	12 měsíců	Příloha B v ISO 14644-1

POZNÁMKA: zkouška měření počtu částic se může standardně provádět ve stavu za provozu, ale může být také provedena ve stavu za klidu podle určené klasifikace ISO.

Zdroj: EN ISO 14644-2

Při aseptických postupech v čistých prostorech je nevyhnutelné kontrolovat a zohledňovat mikrobiální kontaminaci pracoviště. Abychom dosáhli v prostředí čistého prostoru vhodné mikrobiologické kvality, je nutné disponovat znalostí o mikrobiologickém stavu daného prostoru, tzn. zavést vhodné nástroje k jeho zjištění a posouzení – systém monitorování. Vzhledem k tomu, že se standardně neprovádí zkoušky na mikrobiologickou čistotu konečného léčivého přípravku, nebo že se léčivý přípravek používá ještě dříve, než jsou známy výsledky zkoušek, je mimořádně důležité provádět mikrobiologický monitoring. Jde o potvrzení, že léčivý přípravek pravděpodobně není kontaminován (69). Příklady činností prováděných v různých třídách čistoty jsou uvedeny v následující tabulce 4.

Tabulka 4: Příklady činností prováděných v různých třídách čistoty

Třída čistoty	Příklady činností pro přípravky sterilizované v konečných obalech
A	plnění přípravků s vysokém rizikem kontaminace
C	příprava roztoků s vysokým rizikem kontaminace, plnění přípravků
D	příprava roztoků a komponent pro následné plnění
Třída čistoty	Příklady činností pro aseptické operace
A	aseptická příprava a plnění
C	příprava roztoků následně filtrovaných
D	manipulace s komponenty po jejich umytí

Zdroj: VYR-32, SÚKL

Monitoring by měl být připraven na základě kvalifikačních testů prováděných v souladu s příslušnými doporučeními, normami a posouzením rizik (71). Při mikrobiologickém monitorování se doporučuje využití metod, jakými jsou odběr vzorků ovzduší aktivní metodou (využití aeroskopu) a ověřování kontaminace povrchů pomocí stěrů a otisků. Doporučené limity pro mikrobiologickou kontaminaci jsou uvedené v tabulce 5 (68).

V případě odběrů vzorků v prostorech, které používají oběhový vzduch, tzn. prostory vybavené VZT systémem s turbulentním či laminárním prouděním vzduchu je vždy doporučeno používat metodu aktivního nasávání vzduchu, nikoliv sedimentační metodu. Důvodem je pak získání falešně negativního výsledku (mikroorganismy se v takovém prostoru pohybují se vzduchem a nesedimentují) (72).

Tabulka 5: Doporučené limity pro mikrobiologickou kontaminaci čistých prostor ve stavu "za provozu"

Třída	Vzorkování vzduchu KTJ*/m ³	Petriho miska (průměr 90 mm) KTJ /4 hod	Kontaktní desky (průměr 55 mm) KTJ /deska	Otisk rukavice 5 prstů KTJ /rukavice
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

KTJ* = kolonie tvořící jednotku

Zdroj: VYR-32, SÚKL

2.3.2 Operační sály

Výměna vzduchu na operačním sále se měří ve výměnách vzduchu za hodinu (dále jen ACH – air changes per hour). V České republice není pro ACH stanoveno žádné univerzální minimální referenční číslo (73). V některých zemích, jako je Itálie, je minimum ACH stanoveno na 15 (74). Ve Spojených státech se pohybuje od 15 do 20 ACH v závislosti na typu operačního sálu (75).

Monitorování kvality vzduchu se doporučuje pro každý operační sál a často se kontroluje pomocí počtu částic, což je metoda, která vychází z normy EN ISO 14644. Tato metoda byla navržena ke stanovení jak účinnosti filtrů ve ventilačním systému, tak ke stanovení úrovně možné biologické kontaminace (76, 77).

K dnešnímu dni v ČR neexistuje pro operační sály a tvorbu jejich mikroklimatu žádná platná norma, natož závazná legislativa (65). Vzhledem ke klasifikaci třídy čistoty operačních sálů je možné pro jejich návrh a provoz využít Vyhlášku č. 84/2008 Sb. a VYR-32 (66, 68).

Stejně jako u čistých prostorů je funkcí VZT systému na operačních sálech redukce koncentrace prachových částic a patogenů ve vnitřním ovzduší a odvádění kontaminovaného vzduchu z místnosti ven, včetně řízení směru proudění vzduchu (60).

Určité parametry, jakými jsou tlakový gradient mezi operačním sálem a okolními místnostmi, množství prachových částic ve vznosu, mikrobiologická kontaminace povrchů a vnitřního ovzduší (KTJ/m³), výměna vzduchu a typ proudění vzduchu (laminární nebo turbulentní) jsou regulovány směrnici vymežujícími limity a referenční hodnoty.

Většina zemí má své vlastní normy a limity. Například ve Francii se mikrobiologické limity pohybují mezi 5 a 20 KTJ/m³ – v porovnání s limity pro Spojené království (35 KTJ/m³) a Švýcarsko (25 KTJ/m³) jsou francouzské limity nejnižší (78, 26). Avšak vzhledem k rostoucímu používání počtu částic oproti mikrobiologickému odběru vzorků zavedlo mnoho zemí své standardy v souladu s ISO 14644 – *Čisté prostory a související kontrolovaná prostředí* (65). Navrhuje se, aby operační sály splňovaly požadavky na čisté prostory ISO 6 nebo 7 (vysvětlení viz také část o čistých prostorech v kapitole 2.3.1). Naproti tomu v operačních sálech vybavených HEPA filtry by mělo být dosaženo úrovně třídy ISO 5 (29, 79).

3 ZAJIŠTĚNÍ PROTIEPIDEMICKÉHO REŽIMU

3.1 Technologické postupy

Až do konce 70. let byla věnována malá pozornost vlivu ventilačních systémů na kvalitu ovzduší. Teprve v důsledku systematického zkoumání patogenních kmenů v příčinné souvislosti se „syndromem nemocných budov“ došlo k jejich poměrně rychlému rozvoji (80).

Po staletí byl vzduch považován za hlavní cestu přenosu infekčních chorob. Během 50. let 20. století byly hlavními rezervoáry patogenů pro SSI považovány nasofaryngeální oblast chirurgického týmu a vzduch na operačním sále (81). V 60. letech 20. století byly provedeny první izolované studie o hygienickém dopadu ventilačních konceptů (82). V 80. letech Lidwell a spol. (2019) publikovali různé studie uvádějící přibližně dvojnásobné snížení hlubokých SSI po totální náhradě kyčelního nebo kolenního kloubu, kdy byl použit systém laminárního proudění ve srovnání s konvenční ventilací (83). Míra infekce se dále snížila, když byly navíc nošeny ochranné obleky (asi 4,5krát). Snížení bylo tři až čtyřnásobné, když byla podávána perioperační antibiotika. Podle Lidwell a spol. (1987) byly účinky podání kyslíku a antibiotik aditivní a na sobě nezávislé (84). Podobně během 80. let Rūden a spol. (2001) prokázali, že septické operace nebyly spojeny se zvýšeným počtem mikrobiálních bakterií ve vzduchu (81).

V roce 2001 Kappstein uvedl, že vzduchem přenášené patogeny přítomné v kapénkách mohou pocházet pouze z nasofaryngeální oblasti a odumřelé kůže chirurgického personálu. Při použití VZT systémů s turbulentním smíšeným prouděním vzduchu by se bakterie mohly šířit z osob na periferii operačního sálu do rány. Vzduchotechnické systémy by proto musely zásobovat oblast kolem chirurgického pole a instrumentačního stolu vzduchem pouze s nízkým počtem mikrobů (81).

Podstatný vliv na kvalitu čistoty prostorů nemá jen VZT systém samotný, ale i jeho provoz, servis a údržba (85). Moderní technologické postupy, které jsou obvykle zajišťovány systémem VZT fungují tak, aby zabránily šíření vzduchem přenášených infekčních patogenů filtrováním a odsáváním kontaminovaného vzduchu z místnosti, a tím kontrolovaly směr proudění vzduchu v prostorech (60, 86, 87).

Kardinálním technologickým zařízením je vzduchový filtr, který je hlavním zařízením v oblasti technologie čištění vzduchu a je nepostradatelný pro vytvoření prostředí čistého vzduchu. Zde rozlišujeme tři stupně filtrace:

První stupeň filtrace tvoří „hrubý vzduchový filtr“. Používá se především jako předfiltr pro zachycení velkých částic a zabránění jejich vstupu do systému, zejména těchto polétavých částic o průměru větším než 5 μm , usazujících se částic větších než 10 μm a různých cizích materiálů.

Druhý stupeň filtrace pozůstává z jemné filtrace, kterou tvoří středně účinný filtr, známý též jako „před filtr“ (tzv. Medium-Efficiency Air Filter). Vzhledem k tomu, že hrubý vzduchový filtr byl umístěn pro filtrování velkých částic, lze středně účinný vzduchový filtr použít jako konečný filtr v obecném ventilačním systému anebo předfiltr pro HEPA filtr (HEPA je zkratkou z prvních písmen slov „high efficiency particulate arrestance“). Používá se především k zachycení polétavých částic o průměru mezi 1 a 10 μm .

Třetí stupeň filtrace tvoří koncový filtr – HEPA filtr. Používá se především jako koncový filtr v čistých prostorech. Účelem je dosáhnout třídy čistoty odpovídající limitům s průměrem částic 0,5 μm , přičemž jeho účinnost se obvykle testuje s průměrem částic 0,3 μm . Pokud je potřeba dosáhnout třídy čistoty odpovídající 0,1 μm , měla by být její účinnost testována s průměrem částic 0,1 μm . Pro tento účel se používá ULPA filtr (ULPA je zkratkou z prvních písmen slov Ultra Low Penetration Air). Obvykle se používá jako konečný filtr a představuje tak základní technologický element v prevenci šíření částic do čistých prostorů. Jedná se o velmi jemné filtry (třídy H13 až U17), u kterých je nutné zabezpečit stoprocentní čistotu už při jejich montáži (kontrola zaměřena na těsnosti jednotek a potrubí VZT systému) (88, 89).

Několik studií se zaměřuje na vztah mezi laminárním nebo turbulentním prouděním a mikrobiální kontaminací vzduchu a operačních ran. Podle Fischera (2019), i když stojí ventilační systém s laminárním prouděním o 24 % více než varianta s turbulentním prouděním, rapidně snižuje bakteriální kontaminaci přenášenou vzduchem (7).

HEPA filtr je standardizován na minimální účinnost 99,97 % pro odstraňování částic o průměru $\geq 0,3 \mu\text{m}$. To znamená, že na každých 10 000 částic o průměru 0,3 μm projdou filtrem 3 částice a zbytek bude filtrem zachycen. Aby byl filtrační systém HEPA plně účinný, musí být nepropustný. Náklady na údržbu spojené s HEPA filtry jsou vyšší ve srovnání s jinými typy filtrů, ale použití jednorázových předfiltrů v řadě může prodloužit životnost HEPA filtrů asi o 25 %. Skutečná účinnost HEPA filtru se ověřuje testem na částice dioktylfthalátu, který napadá filtr pomocí částic o průměru 0,3 μm (60).

HEPA filtry lze naistalovat do potrubí VZT systému nebo do přívodních VZT koncovek přivádějících vzduch do operačních sálů. Vzduchotechnický systém s HEPA filtrem pracujícím

rychlostí přibližně 12 m³ za minutu dokáže vyčistit 90 % částic ve vzduchu o průměru $\geq 0,3 \mu\text{m}$ během 5 až 8 minut, ve srovnání s čističkami vzduchu bez HEPA filtru, kterým stejná operace zabere 12 až 16 minut (60, 90).

Vzduchotechnický systém přispívá k ochraně pacienta, a proto by měl zajistit vzduch nejvyšší hygienické kvality (pouze s nízkým počtem mikrobů nebo dokonce bez přítomnosti jakékoliv mikrobiální flóry) a dále by měl zajistit tepelnou pohodu personálu operačního sálu. Alarm v jednotce VZT systému by měl být naprogramován tak, aby signalizoval vypnutý nebo odpojený VZT systém. Vzduchotechnická jednotka by měla mít viditelné výstražné značky, aby se zabránilo ucpání sacího nebo výfukového potrubí. HEPA filtry ve VZT jednotce by měly být individuálně testovány a certifikovány. Kolem filtru by neměly být žádné netěsnosti a výměna filtru by měla být jasně vyznačena na jednotce. Údržba filtru musí být snadno proveditelná a také prováděna ve stanovených časových horizontech dle pokynů v návodu výrobce. Výfukové ventilátory se umísťují za HEPA filtr, aby se minimalizovala možnost expozice infekčními částicemi. Údržba by měla být prováděna pouze zaškoleným personálem, poučeným o údržbě VZT zařízení a o protiepidemických opatřeních, které je třeba dodržovat při servisu zařízení. HEPA filtr musí být v čističi vzduchu v místnosti náležitě utěsněn a pravidelně kontrolován, zda není poškozen (91, 92).

3.2 Rizikové oblasti

Prostředí čistých prostor má mnoho potenciálních zdrojů kontaminace, včetně pracovníků, samotného zařízení a jakéhokoliv povrchu, který může emitovat částice a být možným zdrojem kontaminace. Několik studií prokázalo, že hlavními zdroji kontaminace, zejména při čistých chirurgických zákrocích, jsou kůže pacienta a částice vnitřního ovzduší produkované personálem operačního sálu (26, 93).

Hlavním zdrojem kontaminace jsou samotní pracovníci čistého prostoru, protože při každé činnosti emitují miliony částic, včetně flóry svého mikrobiomu.

3.2.1 Hygiena rukou

Jedním z nevýznamnějších faktorů v procesu šíření HAI ve zdravotnickém zařízení jsou ruce personálu, které do značné míry ovlivňují epidemiologický řetězec mezi nemocničním prostředím, personálem a pacientem. Proto se v prevenci HAI zdůrazňuje význam hygieny rukou jako nejúčinnějšího opatření ke snížení kontaminace rukou (94, 95).

Ke všeobecným rizikovým faktorům ovlivňujícím nedodržování postupů hygieny rukou patří postavení lékaře (je více než sestra), mužské pohlaví, práce během týdne (je jí více oproti víkendů), také nošení rukavic, činnosti spojené s vysokým rizikem přenosu infekce a vysoký počet provedení hygieny rukou za hodinu/směnu při aseptickém postupu (96). Existují však i osobní důvody pro nedodržování správných postupů hygieny rukou, ke kterým patří zejména to, že prostředky pro hygienu rukou mohou způsobovat podráždění a suchost pokožky. Umyvadla mohou být nedostupně umístěna nebo jich není dostatek, také málo mýdla a papírových ručníků mohou být důvodem pro nedodržování správných postupů hygieny rukou. Personál zdravotnických zařízení bývá často příliš zaneprázdněn, především z důvodu nedostatku zaměstnanců či přeplnění oddělení. Ve zdravotnictví existují také situace, kdy pacient musí mít přednost, což často vede k nedostatečné hygieně rukou. Zdravotnický personál může být navíc přesvědčen o tom, že používání rukavic nahrazuje hygienu rukou, a že od pacientů příliš nehrozí riziko nákazy. Důvodem k nedodržování správných postupů hygieny rukou bývá i nedostatek znalostí v oblasti hygieny, skeptický pohled na význam hygieny rukou a nedostatek vědeckých informací o vlivu hygieny rukou na přenos HAI (96).

3.2.2 Osobní předměty

Dalším významným faktorem, který souvisí s hygienou rukou, je používání osobních předmětů v čistých prostorech nebo na operačních sálech, zejména se jedná o používání mobilních telefonů. Personál intenzivně využívá mobilní telefony jako jeden z komunikačních nástrojů, a to pro diagnostiku, léčbu a sledování pacientů díky technologickým aplikacím, které se nabízejí (96, 97). Tento nástroj komunikace se při nedodržování režimových opatření, především pak hygieny rukou, může stát zdrojem kontaminace (97, 99, 100). Během studií byla zjištěna míra mikrobiální kontaminace mobilních telefonů u personálu v rozmezí 60–100 % (101, 102). Uvádí se, že 5–25 % z těchto bakterií způsobujících kontaminaci jsou známe jako původci HAI (97, 103, 104, 105, 106).

3.2.3 Ochranné osobní pracovní pomůcky

V čistém prostoru klesají migrující částice shora dolů (8). Bylo prokázáno, že z částí hlavy, které mohly zůstat během operace nezakryté, byly uši zodpovědné za většinu bakterií, tj. třikrát více než čelo nebo obočí (107). Kromě toho je třeba poznamenat, že při mnoha operacích je hlava chirurga velmi blízko místa operace, často po dlouhou dobu. Dřívější studie upozornila na důležitost nošení správné pokrývky hlavy a prokázala masivní nárůst vylučování bakterií při vynechání pokrývky hlavy (108). Podle *KRINKO* (zkratka Komise pro nemocniční hygienu

a prevenci infekcí – Institut Roberta Kocha) má ochranná pokrývka hlavy zakrývat všechny vlasy na hlavě a rouška musí zcela zakrývat všechny vousy, stejně jako ústa a nos (109). Tohle lze splnit pouze nošením ochranného obličejového štítu, který spolu se správně nasazenou rouškou zakryje i rozsáhlé vousy. Je však třeba zajistit, aby ochranný obličejový štít měl vysoký standard s ohledem na zadržování částic (109).

Dalším zdrojem kontaminace je vlastní mikroflóra personálu přítomná na vlasech (nejvýznamnější počet částic je ale emitován právě z vlasů lidí), rukou a nohou a také vylučovaná kožními buňkami.

Zdravý člověk při chůzi emituje 5 000 šupin kůže za minutu ve velikosti 5 až 60 μm , kdy je průměrně 5 bakterií na každé šupině (110). Postupy v čistých prostorech zahrnují zakrytí těchto částí těla, aby se zabránilo kontaminaci v souladu s přísným postupem, včetně odstranění veškerého make-upu a šperků, ponechání všech osobních věcí venku, návleků na boty, zakrytí celého těla oblečením pro čisté prostory, aby se zabránilo narušení proudění vzduchu (8). Zdrojem kontaminace na pracovním oděvu mohou být póry ve tkanině, otvor u krku apod., také roztržená místa nebo částice z povrchu oděvu. Specializované oděvy určené pro čisté prostory se používají již mnoho let – potřeba tohoto typu tkaniny vzrostla především kvůli potřebě chránit kritické operace v čistých prostorech a vytvořit pohodlí pro operatéry a další personál (111).

Dalšími možnými příčinami kontaminace, které podněcující vznik SSI jsou mezery v předoperační kožní antisepsi, např. bakterie ve vlasových folikulech (nejsou účinně inaktivovány), bakteriální vylučování z mrtvé kůže a vlasů z hlav chirurgického personálu, dále aerosoly z nasofaryngeální oblasti – zásadní roli tedy hraje kvalita a správné usazení chirurgických ústenek a kontaminované nástroje, např. ty, vystavené mimo oblast ochrany laminárního stropu, kde se mohou kontaminovat. Ruce chirurga, pokud jsou rukavice poškozené nebo mají výrobní vady mohou být rovněž zdrojem kontaminace. K dalším možným příčinám kontaminace patří i vzdušné patogeny (ulpívající na částicích), jejichž zvýšená koncentrace je zapříčiněná častým otevíráním dveří na operačním sále (61).

3.3 Dodržování protiepidemického režimu v čistých prostorech

Všichni pracovníci mají absolvovat školení o zásadách SVP, které se jich týkají, a také úvodní zaškolení a pravidelná školení relevantní pro jejich úkoly. Všichni pracovníci pracující v čistých prostorech mají absolvovat specifické školení v aseptické výrobě, včetně základních aspektů mikrobiologie. Dále by měli být pracovníci zajišťující čištění a údržbu VZT systému vyškoleni v oblasti prováděných úkolů, především v opatřeních bránících vzniku rizik ohrožujících přípravky, prostředí a zdraví. Ve výrobních a skladových prostorech i v oddělení kontroly jakosti má být zakázáno jíst, pít, žvýkat a kouřit, nemají zde být uloženy potraviny nebo léky k osobní potřebě. Také se má zabránit přímému kontaktu rukou operátora s nechráněným přípravkem i s veškerými částmi zařízení, které se dostávají do styku s přípravky. Každá osoba vstupující do výrobních prostor má být oděna v čistém oděvu vhodném pro výrobní činnost, kterou tato osoba vykonává, přičemž tento oděv se v případě potřeby převléká. Je-li to nutné, použijí se další OOPP vhodné pro operace, které mají být provedeny (např. pokrývka hlavy, obličej, rukou a/nebo paží). Oděv a jeho kvalita mají odpovídat procesu a třídě čistoty pracovních prostor, má se nosit tak, aby operátora i přípravky chránil před rizikem kontaminace.

Ve třídě čistoty D mají být vlasy a případné vousy či knír zakryté. Nosí se běžný ochranný oblek a vhodné boty nebo návleky. Mají být přijata vhodná opatření k zabránění jakékoliv kontaminace pocházející z vnějšku čistých prostorů. Ve třídě C mají být vlasy, a kde je to potřebné i vousy či knír zakryty. Oblečení sestává z krátkého kabátku a kalhot, nebo z kombinézy, rukávy mají být na zápěstí staženy, kabátek má mít vysoký límec, a na nohou mají být vhodné boty nebo návleky. Z oblečení se nemají uvolňovat prakticky žádná vlákna nebo částice. U třídy A/B má sterilní pokrývka hlavy dokonale zakrývat vlasy a kde je to potřebné i vousy nebo knír a má být zasunuta pod límec kombinézy; nosí se sterilní obličejová maska a sterilní oční kryty, aby se zabránilo uvolňování kapek a částic. Na rukou mají mít pracovníci vysterilizované, nepráškové gumové nebo plastové rukavice, a na nohou vysterilizovanou nebo vydezinfikovanou obuv. Nohavice mají být zasunuty do obuvi a rukávy kombinézy mají být zasunuty do rukavic. Ochranný oblek nemá prakticky uvolňovat žádná vlákna a částice a má zachycovat částice odloučené z povrchu těla.

Venkovní oděv nemá být přinášěn do personálních propustí vedoucích do prostor třídy B a C. Pro každého pracovníka v prostorech třídy A/B se má při každém vstupu do čistých prostor zajistit čistý (sterilizovaný) ochranný oděv (včetně obličejových masek a krytů očí); potřeba odcházet z čistých prostor a znovu do nich vstupovat za účelem různých výrobních kroků má

být dána rizikem aktivity. Rukavice se mají v průběhu operací pravidelně dezinfikovat. Při odchodu z čistých prostor má proběhnout optická kontrola celistvosti oděvu. Oděv určený pro čisté prostory se má čistit a nakládat s ním tak, aby se na něm nehromadily další znečišťující látky, které by se později mohly uvolňovat. Při práci v uzavřených prostorech se má ochranný oděv odložit před odchodem z uzavřeného prostoru. Náramkové hodinky, make-up ani šperky se v čistých prostorech nenosí. Tam, kde je to potřebné pro minimalizaci rizika kontaminace, se uplatní omezení pohybu všech pracovníků. Obecně platí, že pracovníci (ani jiné osoby) nemají přecházet přímo z prostor s expozicí živým mikroorganismům, toxinům nebo zvířatům do prostor, kde se manipuluje s jinými produkty, inaktivovanými produkty nebo jinými organismy. Je-li takovýto přechod nevyhnutelný, mají být zavedena vhodná kontrolní opatření (s ohledem na daná rizika). Přechází-li osoba z jedné čisté místnosti do druhé čisté místnosti (z vyšší třídy do nižší nebo z nižší třídy do vyšší), mají se uplatnit patřičná dezinfekční opatření. Mají se respektovat požadavky na oděv nutný pro danou třídu. Aktivity v čistých prostorech, především probíhají-li aseptické operace, se mají minimalizovat. Je nutno vyhnout se nadměrnému spádu částic a organismů vzniklému vlivem příliš energické činnosti. V čistých prostorech má být přítomen pouze minimální počet zaměstnanců. Inspekce a kontroly mají v maximální možné míře probíhat vně čistých prostor. Mají se provést kroky zajišťující deklaraci zdravotního stavu pracovníků, který by mohl být relevantní pro jakost léčivých přípravků a dále to, že na výrobě léčivých přípravků se nebude podílet žádná osoba trpící infekčním onemocněním, které by mohlo nepříznivě ovlivnit jakost přípravku. Monitoring zdravotního stavu pracovníků má být úměrný rizikům. Může vzniknout potřeba zavést další opatření na ochranu pracovníků podle známých rizik přípravku a materiálů používaných při jeho výrobě. Kritické čisté prostory jsou čisté prostory, kde je přípravek vystaven působení podmínek prostředí, a proto mají být projektovány tak, aby se zajistily aseptické podmínky. Také vzduch v bezprostředním okolí kritických čistých prostor se má adekvátně kontrolovat (pozadí čistých prostor). Do čistých prostor se má dodávat vzduch, který prošel filtry odpovídající účinnosti. Má být stanovena vhodná úroveň klasifikace vzduchu s ohledem na specifická rizika, povahu přípravku a výrobní proces, především s ohledem na to, zda zpracování probíhá v otevřeném nebo v uzavřeném systému. Šatny mají být koncipovány jako propusti a používány pro fyzické oddělení různých fází převlékání a pro minimalizaci mikrobiální a částicové kontaminace ochranných oděvů. Mají být účinně vymývány filtrovaným vzduchem. Někdy je žádoucí použití oddělených šaten pro vstup do čistých prostor a pro odchod z čistých prostor. Obecně platí, že zařízení pro mytí rukou má být k dispozici

pouze v prvním stupni propusti. Přítomnost obalů a/nebo materiálů s pravděpodobností vzniku částic se má v čistých prostorech minimalizovat.

Zásadní význam má patřičné čištění/sanitace čistých prostor, a to včetně odstraňování zbytkových čisticích/dezinfekčních prostředků. Pro snížení mikrobiologické kontaminace na nepřístupných místech lze využít vykuřování. Používají-li se dezinfekční prostředky, má se kontrolovat jejich účinnost. Dále se doporučuje používat několik typů, aby se zabránilo vzniku rezistentních kmenů a dosáhlo širšího rozsahu biodekontaminační aktivity (112).

4 VLASTNÍ MONITORING ČISTOTY VNITŘNÍHO OVZDUŠÍ

4.1 Praktická východiska práce

Monitoring čistých prostor se řídí metodickými pokyny vycházejícími z evropských doporučení a norem, které byly harmonizovány pro potřeby zdravotnických zařízení v České republice. Jeho dominantní opodstatnění spočívá v prevenci vzniku a šíření HAI, které mohou do značné míry ovlivňovat jak výsledný farmakologický produkt, tak i zdraví pacienta. Pravidelné monitorování čistých prostor umožňuje verifikovat dodržování aseptických postupů ve správné výrobní praxi a při manipulaci a zpracovávání tkání. Dokáže také odhalit nežádoucí vlivy, které mohou vzniknout jak technologickým, tak lidským zapříčiněním během procesů, tzn. výhledově umožňují předejít nežádoucí kontaminaci.

Analytická část práce uvádí výsledky z monitoringu čistých prostor, které spadají pod dozorovou činnost SÚKL-u a kde je čistota prostředí vyžadována i dle mezinárodních doporučení. Sledování probíhalo ve ZZTT, kde se v letech 2014 až 2019 prováděl periodický monitoring na vybraných pracovištích. Dále byly do monitoringu zapojeny tři české nemocnice za účelem získání objektivních informací o stavu čistoty vnitřního ovzduší ve vybraných provozech. Jednalo se o projekt Ministerstva zdravotnictví ČR, který proběhl jednorázově v roce 2015.

4.2 Monitorování pracovišť

4.2.1 Zdravotnické zařízení terciárního typu

Periodický monitoring čistoty prostředí ve ZZTT probíhal na vybraných pracovištích zařízení, které jsou uvedeny níže.

Lékárna (LEK)

- Laboratorní příprava léčiv na oddělení přípravy sterilních léků a přípravy cytostatik
- Oddělení přípravy sterilních lékových forem (OPSL): 3x laminární box Scanlaf fortuna (třída čistoty A) / aseptický box (třída čistoty C)
- Ředění cytostatik (CYTO): aseptický box (třída čistoty C)

Pracoviště nukleární medicíny (PNM)

- Laboratorní přípravu radiofarmak pro diagnostickou a terapeutickou část PNM včetně pracoviště PET/CT

- Laboratoř příprava radiofarmak (RADFARM): 2x laminární box SafeFlow (třída čistoty A) / laboratoř přípravy radiofarmak (třída čistoty C)
- Laboratoř PET/CT: manipulační box NMC 1/50 (třída čistoty A) / laboratoř PET/CT (třída čistoty C)

Ústav mikrobiologie (MIKRO)

- Laboratorní příprava autovakcín v laboratoři pro přípravu vakcín: laminární box HeraSafe KS (třída čistoty A) / laboratoř pro přípravu vakcín (třída čistoty C)

Centrum asistované reprodukce (CAR)

- Zpracování lidských gamet a embryí, které je nutné zajistit dle zákona č. 296/2008 Sb. v čistém prostoru
- Embryologická laboratoř: laminární box IVFtech (třída čistoty A) / laminární zóna GEA (třída čistoty A) / laboratoř IVF (třída čistoty D)

Hemato-onkologická klinika (HOK)

- Tkáňové zařízení pro zpracování, vyšetření kvality, zamražení, skladování a expedici štěpů periferních krvetvorných buněk, kostní dřeně, dárcovských lymfocytů a modifikovaných buněčných produktů
- Laboratoř tkáňových kultur: 2x laminární box HeraSafe (třída čistoty A) / laboratoř (třída čistoty D)

Transfuzní oddělení (TO)

- Příprava a zpracování krevních derivátů k jejich dalšímu zpracování nebo pro terapii pacienta
- Bakteriologická laboratoř: laminární box Jouan MSC 12 Standard (třída čistoty A) / aseptický box (třída čistoty C)

Centrální operační sály (COS)

- Odběrové sály určené k odběru orgánů a tkání v transplantačním programu
- Operační sál č. 3, č. 4, č. 6 a č. 10: operační pole (třída čistoty B) / prostor sálu (třída čistoty C)

Na vybraných pracovištích čistých prostorů byla výměna ovzduší v aseptických boxech a laboratořích standardně zajišťována samostatnou klimatizační jednotkou vybavenou

deskovou rekuperací. Jednotka zajišťuje úpravu vzduchu chlazením, topením a dvoustupňovou filtrací typu EU5 a EU9 (případně u starších typů klimatizační jednotky typu EU4 a EU7). Třetí stupeň filtrace je zajištěný na přívodu vzduchu HEPA filtrem typu H13 a H14. Přívody vzduchu jsou umístěny ve stropu a odsávání vzduchu je realizováno přes odsávací mřížky, které jsou umístěny u podlah. Větrání zajišťuje kaskádový přetlak dle požadované čistoty místnosti.

Výměna ovzduší na operačních sálech byla zajišťovaná pomocí klimatizační jednotky GEA. Systém sálu je kontinuálně nastavený v režimu přetlaku (aseptický režim) s provozní teplotou 20 °C a relativní vlhkostí 50–70 %. Celkové množství přiváděného vzduchu je 4200 m³/h a odtah vzduchu 3800 m³/h. Filtrace vzduchu je třístupňová, tzn. filtr typu G4 (první stupeň pro zachyt hrubých nečistot), filtr F8 (druhý stupeň) v jednotce VZT a ve vyústkách laminizátoru jako distribuční element HEPA filtr typu H13 (třetí stupeň).

4.2.2 Vybraná zdravotnická zařízení ČR

V rámci této studie byla vybrána tři zdravotnická zařízení z České republiky, která pocházela z Jihomoravského, Královehradeckého a Olomouckého kraje. Z důvodu uvádění konkrétních reálných výsledků nejsou názvy zdravotnických zařízení uvedeny.

Cílem bylo získat aktuální data o stavu vnitřního ovzduší ve vybraných čistých prostorech zmíněných zdravotnických zařízení. Jednalo se o:

- superseptický operační sál:
 - operační pole (třída čistoty ISO 5),
 - prostor sálu (třída čistoty ISO 6),
- aseptický operační sál:
 - operační pole (třída čistoty ISO 6),
 - prostor sálu (třída čistoty ISO 7).

Výměna ovzduší na superseptických operačních sálech byla zajištěná u všech zařízení centrální klimatizační jednotkou s třístupňovou filtrací (tzn. první stupeň pro zachyt hrubých nečistot – filtr typu G4; druhý stupeň – filtr typu F8 v jednotce VZT; třetí stupeň ve vyústkách laminizátoru jako distribuční element HEPA – filtr typu H13). Na aseptických operačních sálech byla výměna ovzduší zajištěná analogicky, kromě zdravotnického zařízení Olomouckého kraje, tam byly na koncových elementech pouze stropní vyústky s HEPA filtrem typu H13 (absence laminizátoru).

4.3 Metodika monitoringu

Pro monitoring čistoty prostředí vnitřního ovzduší byly zvoleny dva testy: měření počtu částic ve vznosu a mikrobiologická kontrola ovzduší.

Tabulka 6: Stanovení doby měření pro laserový čítač částic o průtoku 28,3 l/min

Objem průtoku vzduchu (m ³ /min)	Třída čistoty	Minimální čas měření (min)	
		za klidu	za provozu
28,3 x 10 ⁻³	A	36	36
	B	25	1
	C	1	1
	D	1	-

Zdroj: Vlastní zpracování

Stanovení počtu částic ve vznosu bylo provedeno prostřednictvím laserového čítače částic APC SmartTouch (Merck KGaA, Německo) (viz příloha č. 2). Pro stanovení počtu měřících bodů v daném prostoru a při stanovení doby měření pro jednotlivá místa měření dle třídy čistoty se vycházelo z normy EN ISO 14644. Stanovení doby měření bylo odvozené od objemu průtoku vzduchu laserového čítače částic. V tomto případě se jednalo o průtok 28,3 l/min (viz tabulka 6).

Výsledek byl stanoven na místě po skončení měření prostřednictvím výpočtu horní meze spolehlivosti 95 % softwarovou aplikací, která je integrovaná v laserovém čítači částic. Závěrem byl výsledek porovnán s limity pro maximálně přípustný počet částic/m³ vzduchu dle vyhlášky o správné lékařské praxi, která vychází z EN ISO 14644 (viz tabulka 7).

Tabulka 7: Klasifikace pro jednotlivé třídy čistoty vzduchu podle počtu částic

Třída čistoty	Maximální přípustný počet částic/m ³			
	za klidu		za provozu	
	≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm	≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm
A	3 520	20	3 520	29
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	nedefinováno	nedefinováno

Zdroj: Vyhláška č. 84/2008 Sb.

Pro mikrobiologickou kontrolu byla zvolena metoda aktivního nasávání ovzduší za použití aeroskopu Airsampler MAS-100 ECO (Merck KGaA, Německo) (viz příloha č. 3) a Petriho misek s kultivační půdou (Trios, Praha, Česká republika). Na každém odběrovém místě se prováděly minimálně 2 odběry na Columbia krevní agar a Sabouraudův agar, tzn. pro laminární boxy/zóny (třída čistoty A) a operační pole (třída čistoty B) byly stanoveny 2 odběrné body, pro okolní prostory (třída čistoty C/D) 2 a více bodů (podle plochy čistého prostoru dle doporučeného postupu) (72). Pro každý jednotlivý odběr byl odebrán vzorek o objemu 1 m³. Příkladová technika byla umístěná na pracovní ploše technologického/ zdravotnického vybavení (přibližně 110 až 150 cm nad podlahou) nebo v inhalační zóně ve středu místnosti (přibližně 150 až 160 cm nad podlahou).

Bakteriologická kultivace vzorků ovzduší na krevním agaru probíhala v termostatu při teplotě 30 ± 1 °C po dobu 48–72 hodin. Odebrané vzorky ovzduší na mykologickou kultivaci nanášené na Sabouraudův agar se kultivovaly při teplotě 25 ± 1 °C po dobu 3–5 dnů. Stanovení KTJ bylo provedené nejprve přepočtením KTJ odečtených ze standardní Petriho misky dle Fellerovy statistické konverzní tabulky (viz příloha č. 4) a následně byl přepočítán počet organismů na 1 m³. Závěrem byl výsledek kultivačního vyšetření porovnán s doporučenými limity pro mikrobiologickou kontaminaci čistých prostor „za provozu“ (viz tabulka č. 8).

Provedení odběrů dle jednotlivých standardních operačních postupů, zpracování a vyhodnocení výsledků bylo provedeno pracovníky nezávislé akreditované zkušební laboratoře akreditované dle normy EN ISO/IEC 17025 (113).

Tabulka 8: Doporučené limity pro mikrobiologickou kontaminaci čistých prostor ve stavu „za provozu“

Třída	Vzorkování vzduchu KTJ*/m³	Petriho miska (průměr 90 mm) KTJ /4 hod	Kontaktní desky (průměr 55 mm) KTJ /deska	Otisk rukavice 5 prstů KTJ /rukavice
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

KTJ*- kolonie tvořící jednotku

Zdroj: VYR-32, SÚKL

4.3.1 Zdravotnické zařízení terciárního typu

Monitoring čistých prostorů byl ve ZZTT prováděn u třídy čistoty A, C a D. Monitoring vnitřního ovzduší probíhal ve stavu za „provozu“ (případně za simulovaného provozu – u citlivých úkonů) pro ověření spolehlivosti VZT systému během procesů. Monitorování ve stavu „za klidu“ probíhalo pouze v embryologické laboratoři (CAR) za účelem ověření parametrů VZT zařízení.

Monitoring operačních odběrových sálů byl prováděn u třídy čistoty B a C. Monitoring mikrobiální kontaminace probíhal za stavu za „provozu“ a u stanovení počtu částic za poloprovozu (tzn. za přítomnosti operačního týmu provádějícího pooperační činnosti po odvezení pacienta ze sálu) (114).

4.3.2 Vybraná zdravotnická zařízení ČR

Cílem této studie bylo také získání objektivních informací o stavu čistoty ovzduší ve vnitřních prostorech tří vybraných zdravotnických zařízeních ČR, tzn. stanovení prachových částic ve vznosu a mikrobiální kontaminace vnitřního ovzduší. Stanovení prachových částic ve vznosu bylo provedeno akreditovanou zkušební laboratoří a odběr vzorků ovzduší zajišťoval personál tamního zdravotnického zařízení s následným kultivačním vyhodnocením akreditovanou mikrobiologickou laboratoří. Měření prachových částic ve vznosu proběhlo v roce 2015 v období od října do prosince a odběry vzorků ovzduší k mikrobiologickému vyšetření, včetně jejich kultivace a identifikace probíhaly od listopadu do prosince téhož roku.

Pro stanovení počtu částic pro operační sály (superseptické/ aseptické) byla použita norma EN ISO 14644. Vzhledem k tomu, že v České republice nejsou pro zdravotnická pracoviště stanoveny přípustné hodnoty prachových částic, vycházelo hodnocení pouze z této obecné technické normy. Odběr vzorků ovzduší k mikrobiologickému vyšetření byl proveden dle požadavků *Vyhlášky č. 6/2003 Sb., AHEM č 1/2002* (114, 115, 72).

Pro hodnocení mikrobiální kontaminace byla použita vyhláška Ministerstva zdravotnictví Slovenské republiky: *Vyhláška č. 553/2007 Zb., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o požiadavkách na prevádzku zdravotníckych zariadení z hľadiska ochrany zdravia* (viz příloha č. 5) (114, 116). Pro ustanovení limitů byla provedená konverze ISO tříd normy EN ISO 14644:1 a tříd M Vyhlášky č. 553/2007 Zb. Konverzi jednotlivých tříd čistoty uvádí tabulka 9. Samotná měření a odběry byly provedeny za poloprovozu, tzn. bezprostředně po ukončení

operačního výkonu, proto je potřeba vzít v úvahu, že hodnoty mohou být o 1 třídu nižší, než při měření „za klidu“.

Tabulka 9: Třídy čistoty pro různé typy operačních sálů

Třída čistoty ISO / vyhláška M	Operační sál	Počet prachových částic/m ³		Počet mikroorganismů KTJ/m ³	
		≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm	nepatogenní	patogenní
ISO 5	Superseptický operační sál/ operační pole	3 520	29	---	<1
M 3,5		3 530	0	<1	
ISO 6	Aseptický operační sál/ operační pole	35 200	293	---	
M 4,5	Superseptický operační sál/ prostor sálu	35 300	247	5	<1
ISO 7	Aseptický operační sál/ prostor sálu	352 000	2 930	---	<1
M 5,5		353 000	2 470	100	
ISO 8	Zákrokový sál	3 520 000	29 300	---	<1
M 6,5		3 530 000	24 7000	500	

Zdroj: Vlastní zpracování (Vyhláška MZ SR č. 553/2007 Zb.)

4.3.3 Postup odběru vzorků

Odběry vzorků byly provedeny dle standardních operačních postupů akreditované zkušební laboratoře.

4.3.3.1 Stanovení počtu částic ve vznosu

Pro stanovení počtu částic ve vznosu byly použity následující přístroje, pomocná zařízení a spotřební materiál: čítač částic APC SmartTouch s příslušenstvím, laserový měřič vzdáleností, kalkulačka, dezinfekční přípravek k dezinfekci ploch a pomůcek, jednorázové rukavice, ústenka, jednorázový plášť, jednorázová čepice a návleky na obuv.

Před každým měřením byla provedena identifikace měřicího místa a stanovení měřicích bodů. Měřicí místa byla identifikována číselnou řadou a k nim byly návazně přiřazené měřicí body identifikovány abecední řadou. Podkladem pro stanovení počtu měřicích bodů byl také údaj o plošné výměře místa.

Pracovník laboratoře stanovil počet měřících bodů na základě výpočtu druhé odmocniny z plošné výměry měřícího místa, ve kterém bylo následně provedeno měření počtu částic. Pokud byl výpočtem stanoven pouze 1 měřící bod, provedly se v daném prostoru/ technologickém zařízení 3 samostatná měření rovnoměrně rozmístěná v prostoru/ technologickém zařízení. Na základě stanovených měřících bodů byla v uživatelském softwaru v PC vytvořena šablona s měřícími místy a měřícími body, která se následně naimportovala do čítače částic APC SmartTouch.

V následující tabulce 10 je uvedeno stanovení doby měření pro jednotlivé třídy čistoty dle *Vyhlášky č. 84/2008 Sb.*

Tabulka 10: Stanovení doby měření pro třídy čistoty dle Vyhlášky č. 84/2008 Sb.

Objem průtoku vzduchu (m ³ /min)	Třída čistoty	Minimální čas měření (min)	
		za klidu	za provozu
28,3 x 10 ⁻³	A	36	36
	B	25	1
	C	1	1
	D	1	–

Zdroj: Vyhláška č. 84/2008 Sb.

Při stanovení doby měření pro jednotlivá místa měření dle třídy čistoty se vycházelo z minimálního potřebného objemu vzorku ovzduší stanoveného dle bodu B.4.2.1 normy přepočteného na standardně nastavený průtok čítače částic v l/m³. V tabulce 11 je uvedeno stanovení doby měření dle EN ISO 14644-1.

Tabulka 11: Stanovení doby měření pro třídy čistoty dle EN ISO 14644-1

Objem průtoku vzduchu (m ³ /min)	Třída čistoty ISO	Minimální čas měření (min)			
		Klasifikace velikosti částic			
		≥ 0,3 μm	≥ 0,5 μm	≥ 1,0 μm	≥ 5,0 μm
28,3 x 10 ⁻³	ISO 1	–	–	–	–
	ISO 2	71	177	–	–
	ISO 3	7	21	89	–
	ISO 4	1	2	9	–
	ISO 5	1	1	1	25
	ISO 6	1	1	1	3
	ISO 7	–	1	1	1
	ISO 8	–	1	1	1
	ISO 9	–	1	1	–

Zdroj: EN ISO 14644-1

Výpočet objemu vzorku ovzduší byl počítán dle vzorce: $V_S = \frac{20}{C_{n,m}} \times 1000$

kde

- V_S je minimální objem vzorku pro každé místo v litrech
- $C_{n,m}$ je maximální počet přípustných částic/m³ pro danou třídu čistoty
- 20 je konstanta stanovená normou

Výpočet doby měření byl vypočítán podle vzorce: $T = \frac{V_S}{1 \text{ CFM}}$

kde

- T je čas odběru vzorku ovzduší
- V_S je minimální objem vzorku pro každé místo v litrech
- 1 CFM je objem čítačem nasávaného vzduchu v m³/min (standardně nastavený průtok APC SmartTouch je 28,3 m³ x 10⁻³/min)

Při stanovení doby měření pro třídu čistoty A stanovil VYR-32 minimální objem vzorku 1 m³ pro každé vzorkované místo.

V následující tabulce 12 jsou uvedeny třídy čistoty dle EN ISO 14644-1 a maximální limity pro částice daných rozměrů. Klasifikace pro jednotlivé třídy čistoty vzduchu podle počtu částic dle přílohy č. 2 *Vyhlášky č. 84/2008 Sb.* jsou uvedeny v Tabulce 7 této práce.

Tabulka 12: Třídy čistoty dle EN ISO 14644-1

Klasifikační číslo ISO (N)	Maximální limity (částice/m ³ vzduchu) pro částice rovné a větší než uvedený rozměr (limity vypočítány v souladu s rovnicí (1) v kapitole 3.2 normy)					
	≥ 0,1 μm	≥ 0,2 μm	≥ 0,3 μm	≥ 0,5 μm	≥ 1 μm	≥ 5,0 μm
ISO Třída 1	10	2				
ISO Třída 2	100	24	10	4		
ISO Třída 3	1 000	237	102	35	8	
ISO Třída 4	10 000	2 370	1 020	352	83	
ISO Třída 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
ISO Třída 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
ISO Třída 7				352 000	83 200	2 930
ISO Třída 8				3 520 000	832 200	29 300
ISO Třída 9				35 200 000	8 320 000	293 000

Zdroj: EN ISO 14644-1

Pracovník provádějící měření (dále jen pracovník) započal měření vyjmutím přístroje z transportního kufru, provedl jeho dezinfekci a také dezinfekci rukou, posléze zapnul přístroj a na kanálech nastavil požadovanou velikost měřených částic, dále ověřil na přístroji nastavení kanálů přednastavených v PC a sejmul ochrannou krytku z vyústku přístroje. Na přístroj nasadil nulovací filtr a zpustil nulování přístroje. Po odběru posledního vzorku zkontroloval na všech kanálech nulovou hodnotu částic/m³ (nutná podmínka pro zahájení vlastního měření). V případě naměřených částic pracovník zopakoval proces nulování.

V dalším kroku pracovník sejmul nulovací filtr a nasadil teflonovou hadici s izokinetickou sondou (nejprve provedl její dezinfekci).

V rámci vlastního měření ověřil pracovník parametry měření na přístroji, provedl proplach přístroje (Purge Time) po dobu 1 minuty před každým měřením a nastavil dobu měření. Měřicí body byly rozmístěny rovnoměrně v daném prostoru a ve výšce pracovního prostoru. V tomto případě se sonda umístila ve výšce 110 až 150 cm nad podlahou.

Pracovník umístil přístroj do měřicího bodu a spustil chod přístroje. Při dalším měření opakoval analogicky postup vlastního měření. Po ukončení každého jednotlivého měření pro stanovení počtu prachových částic byl proveden z displeje přístroje odečet čísla záznamu měření a na průvodním listu přiřazen k popisu měřicího bodu. Po ukončení všech měření pro stanovení počtu prachových částic vytisknul pracovník v laboratoři jednotlivé záznamy přes připojené PC na externí tiskárnu. V laboratoři byl prostřednictvím softwaru přístroje proveden výpočet horní meze spolehlivosti 95 % UCL. Po provedení všech shora uvedených kroků byl vypracován protokol. Záznamy z měření byly přiložené k protokolu

4.3.3.2 Mikrobiální kontrola ovzduší

Mikrobiální kontrola ovzduší byla provedena za použití následujících přístrojů, pomocných zařízení a spotřebního materiálu: Aeroskop Airsampler MAS-100 ECO, chladnička, digitální teploměr, transportní box, Petriho misky s kultivační půdou (Columbia krevní agar, Sabouraudův agar).

Pracovník před odběrem provedl kontrolu stavu baterií aeroskopu a kompletnost příslušenství. Dále připravil záznamový formulář o odběru vzorku ovzduší k odběru na mikrobiologické vyšetření, do něhož postupně zaznamenával stanovené údaje.

Z chladničky vyjmul laboratorní pracovník příslušný počet kultivačních pūd. Misky označil vzestupnou číselnou řadou 1 až x (x = číslo posledního odebraného vzorku). Transport pūd byl zajištěn v uzavřeném boxu s digitálním teploměrem. Pracovník při přípravě sterilních pūd zkontroloval, zda nebyla překročena doba expirace a půda byla naprosto čistá bez jakékoliv známky nárůstu mikroorganismů.

Před samotným odběrem pracovník vyjmul přístroj z kufru, provedl jeho dezinfekci a následně dezinfekci rukou. Na horní část přístroje vložil pracovník otevřenou Petriho misku s kultivační půdou – na každém místě odběru se provedl odběr na Columbia krevní agar a Sabouraudův agar.

Přístroj byl umístěn² v inhalační zóně, nebo ve výšce technologického vybavení (přibližně 110 až 150 cm nad zemí) ve středu místnosti a byly provedeny dva odběry ovzduší. Doba mezi jednotlivými odběry se pohybovala v rozmezí od 10 do 30 minut. Odběr byl provedený dle standardně nastaveného parametru přístroje: 500 l/5 minut.

² Pro odběry je možné zvolit i jiné místo podle účelu vyšetření, event. dle požadavku objednavatele.

Po ukončení odběru Petriho misku vyjmul, uzavřel krytem a vložil do transportního boxu dnem vzhůru. Postup opakoval a před každým dalším měřením provedl dezinfekci perforované hlavy³ přístroje.

Po ukončení odběru uložil pracovník vzorky ovzduší do transportního boxu tak, aby během transportu vzorku nedošlo k jeho znehodnocení. Poté box uzavřel a vzorky přepravil do laboratoře ke kultivaci. Vzorky byly transportovány při teplotě v rozmezí 18–24 °C.

4.3.3.3 Kultivační vyšetření vzorků ovzduší

Ke kultivačnímu vyšetření vzorků ovzduší byly použity následující přístroje, pomocná zařízení a spotřební materiál: 2x inkubátor Incucell, chladnička, Petriho misky s kultivační půdou (Columbia krevní agar, Sabouraudův agar s CMP, ENDO agar), alkoholový dezinfekční přípravek pro dezinfekci rukou, dezinfekční přípravek k dezinfekci ploch a pomůcek, jednorázové rukavice a ústenka.

Po příjmu vzorků do laboratoře vyznačil pracovník do průvodního formuláře datum a hodinu převzetí vzorků v laboratoři, teplotu v transportním boxu při předání, včetně zaznamenání typu přístroje (včetně počtu otvorů v nasávací hlavici) a objem vzorkovaného vzduchu. Současně provedl evidenci vzorků a přiřadil skupině vzorků číslo protokolu, které zapsal do průvodního listu.

Následně každou misku s kultivační půdou označil číslem vzestupné řady a misky vložil dnem vzhůru do inkubátoru vyhřátého na požadovanou teplotu. Kultivace pevné půdy vzorků ovzduší probíhala v inkubátoru při teplotě 30 ± 1 °C po dobu 48–72 hod + 2 hod při použití krevního agaru, při teplotě 25 ± 1 °C po dobu 3–5 dnů při použití Sabouraudův agaru (teplota v teplotních skříních je sledována na displeji přístrojů a monitorovacím systémem ConWin, denně ověřována).

Po ukončení doby kultivace provedl mikrobiolog identifikaci všech vyrostlých kultur mikroorganismů v jednotlivých vzorcích. Kvantitativní hodnocení provádí mikrobiolog jako stanovení KTJ. Stanovení KTJ se provedlo nejprve přepočtením počtu KTJ odečtených ze standardní Petriho misky dle Fellerovy statistické konverzní tabulky a následně byl přepočítán počet organismů na 1 m^3 . Tato tabulka se používá pro všechny přístroje řady MAS-100.

³ V rámci minimalizace rizika mikrobiální kontaminace perforované hlavy mezi odběry se upřednostňuje odběr v prostoru s vyšším nárokem na čistoty ovzduší (třída čistoty A, B nebo ISO 6, 5), následně se pokračuje do prostoru s nižším nárokem na čistotu ovzduší (třídy čistoty C, D nebo ISO 8, 7).

Výsledek mikrobiologického vyšetření zapsal pracovník laboratoře do knihy. V případě zápisu výsledku kvantitativního hodnocení vzorku vnitřního ovzduší je výsledek uveden v následující podobě: počet KTJ odečtených z Petriho misky/přepočten KTJ dle Fellerovy statistické konverzní tabulky/přepočten statisticky upraveného počtu KTJ na 1 m³. Příklad zápisu: 108/126/252 KTJ. Po provedení všech shora uvedených kroků vypracoval pracovník protokol, který byl schválen oprávněnou osobou a odeslán objednavateli.

5 VÝSLEDKY

5.1 Výsledky monitoringu ve ZZTT

5.1.1 Prachové částice ve vznosu – čisté prostory

V rámci monitoringu prachových částic ve vznosu v čistých prostorech bylo od roku 2014 do roku 2019 odebráno 678 vzorků, z nichž byly pozitivní (překračující limity) pouze 4 (viz tabulka 13).

Tabulka 13: Přehled počtu částic ve vznosu v jednotlivých letech v čistých prostorech

Rok	Třída čistoty	Počet vzorků celkem	Počet pozitivních vzorků	Průměrný počet částic ve vzorcích/1 m ³	
				≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm
2014	A	35	2	45,1	2,1
2015		58	0	1,2	0,5
2016		59	0	0,3	0,1
2017		64	0	0,7	0,1
2018		64	0	0,4	0,3
2019		71	0	0,6	0,4
2014	C	13	0	200886,1	6235,5
2015		23	0	294012,8	3367,6
2016		29	0	384229,3	3073,0
2017		36	1	219003,8	3201,8
2018		40	1	376558,7	6801,1
2019		58	0	129584,7	4494,3
2014	D	16	0	82479,9	927,4
2015		21	0	40331,5	689,9
2016		21	0	51169,4	790,8
2017		16	0	86531,3	1560,6
2018		33	0	41809,5	630,6
2019		21	0	27403,6	627,6
CELKEM		678	4	-	-

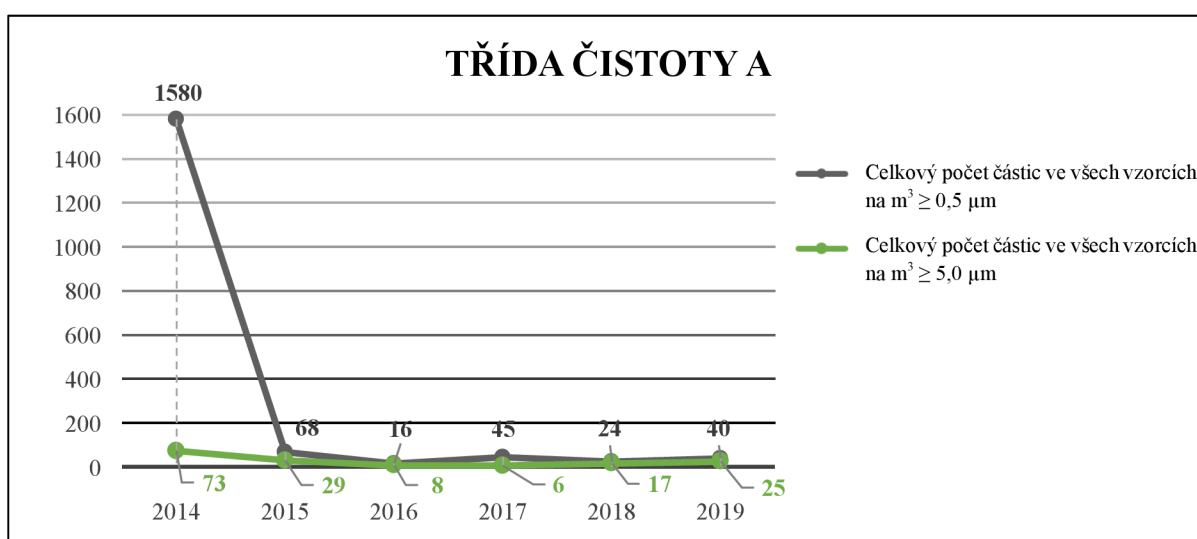
Signifikantní výskyt pozitivních vzorků prachových částic ve vznosu byl u třídy čistoty A v roce 2014, kdy došlo k výraznému překročení limitů v obou sledovaných parametrech na PNM, tzn. u velikosti částic $\geq 0,5 \mu\text{m}$ a $\geq 5,0 \mu\text{m}$ (viz tabulka 14). Na jiných pracovištích se obdobný jev nevyskytl. Od roku 2015 se pozitivní vzorky ve třídě čistoty A již nevyskytovaly a následoval sestupný trend výskytu pozitivních vzorků, který se udržel až do roku 2019 (viz obrázek 2).

Tabulka 14: Přehled počtu částic na Pracovišti nukleární medicíny

Měřicí místo	Celkový počet částic/m ³	
	≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm
PET/CT laminární box (třída čistoty A)	7	6
PET/CT laboratoř (třída čistoty C)	364 519	6 202
Laboratoř přípravy radiofarmak 1* laminární box (třída čistoty A)	7	7
Prostor laboratoře 1 (třída čistoty C)	344 109	16 343
Laboratoř přípravy radiofarmak 2* laminární box 2 (třída čistoty A)	1 393	36
prostor laboratoře 2 (třída čistoty C)	126 509	8 764

Poznámka: * laboratoř bez vzduchotechnické jednotky

Překročení limitních hodnot počtu částic ve vznosu bylo zaznamenáno u třídy čistoty C jednou v roce 2017 a jednou v roce 2018. V obou případech se jednalo o mírné překročení limitů stejného parametru částic, tzn. u velikosti $\geq 5,0 \mu\text{m}$. Následná opakovaná měření prokázala limitní hodnoty v mezích a od té doby nebyly maximální přípustné limity prachových částic ve vznosu překročeny.



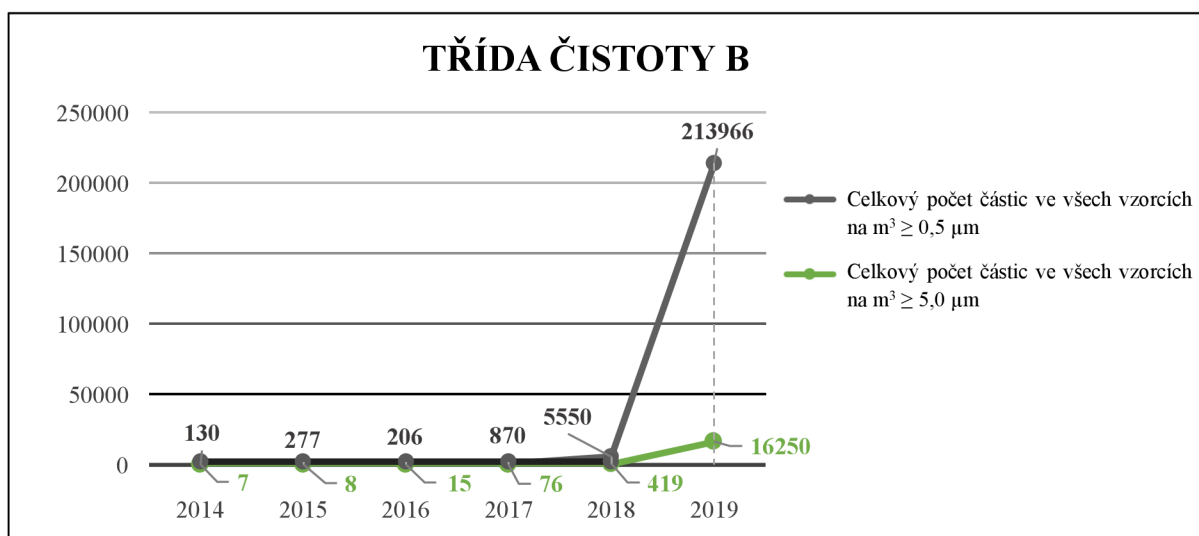
Obrázek 2: Celkový počet částic ve vznosu ve všech vzorcích

5.1.2 Prachové částice ve vznosu – operační sály

V rámci monitoringu prachových částic ve vznosu na odběrových operačních sálech bylo od roku 2014 do roku 2019 odebráno 208 vzorků, u nichž nebyl prokázán výskyt pozitivních vzorků (viz tabulka 15).

Tabulka 15: Přehled počtu částic ve vznosu v jednotlivých letech na odběrových operačních sálech

Rok	Třída čistoty	Počet vzorků celkem	Počet pozitivních vzorků	Průměrný počet částic ve vzorcích/1 m ³	
				≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm
2014	B	4	0	203	6,5
2015		4	0	340,5	15,5
2016		4	0	377	19,5
2017		6	0	781,3	108,5
2018		12	0	1444	114
2019		18	0	1516	0,4
2014	C	16	0	4129	389,5
2015		16	0	4256,5	511
2016		16	0	6075,5	940,5
2017		21	0	16267,7	1456
2018		42	0	5525,7	538
2019		49	0	28311,5	2015,7
CELKEM		208	0	-	-



Obrázek 3: Celkový počet částic ve vznosu ve všech vzorcích

Trend naměřených hodnot průměrného počtu částic nevykazoval nuance až do roku 2019, který byl pro monitoring operačních sálů zásadním. Během měření celkového počtu částic, které bylo provedeno za účelem ověření VZT parametrů na monitorovaném operačním sálu, došlo ke 100 až 400násobnému zvýšení hodnot oproti běžně naměřeným dřívějším hodnotám (viz obrázek 3).

5.1.3 Mikrobiální kontaminace – čisté prostory

Od roku 2014 do roku 2019 bylo podle programu monitorování ovzduší čistých prostor odebráno za provozu ve vybraných čistých prostorech celkem 435 vzorků k mikrobiologickému vyšetření. Nevyhovující nález byl potvrzen u 30 vzorků, u 405 vzorků nebyl počet kolonií překročen. Počet všech odebraných vzorků a podíl nevyhovujících (pozitivních) vzorků je uveden v tabulce 16.

Tabulka 16: Výsledky všech provedených kultivací v čistých prostorech

Rok	Třída čistoty	Počet vzorků celkem	Počet pozitivních vzorků	Celkový počet KTJ
2014	A	17	9	900
2015		45	4	12
2016		44	1	2
2017		37	0	0
2018		52	1	2
2019		61	0	0
2014	C	19	5	1600
2015		17	2	250
2016		20	0	74
2017		16	0	28
2018		24	0	122
2019		30	2	450
2014	D	4	0	44
2015		11	3	292
2016		12	1	62
2017		8	0	14
2018		8	0	110
2019		10	2	74
CELKEM		435	30	4036

Nejvyšší počet pozitivních vzorků byl zaznamenán ve třídě čistoty A v roce 2014 (900 KTJ). Tehdy bylo odebráno 17 vzorků, ze kterých bylo pozitivních 9, což činilo celkově 53 % pozitivních vzorků ze všech odebraných. Jednalo se o mikrobiální kontaminaci čistého prostoru na pracovišti PNM (PET/CT a RADFARM – 884 KTJ) a HOK (16 KTJ) (viz tabulka 17).

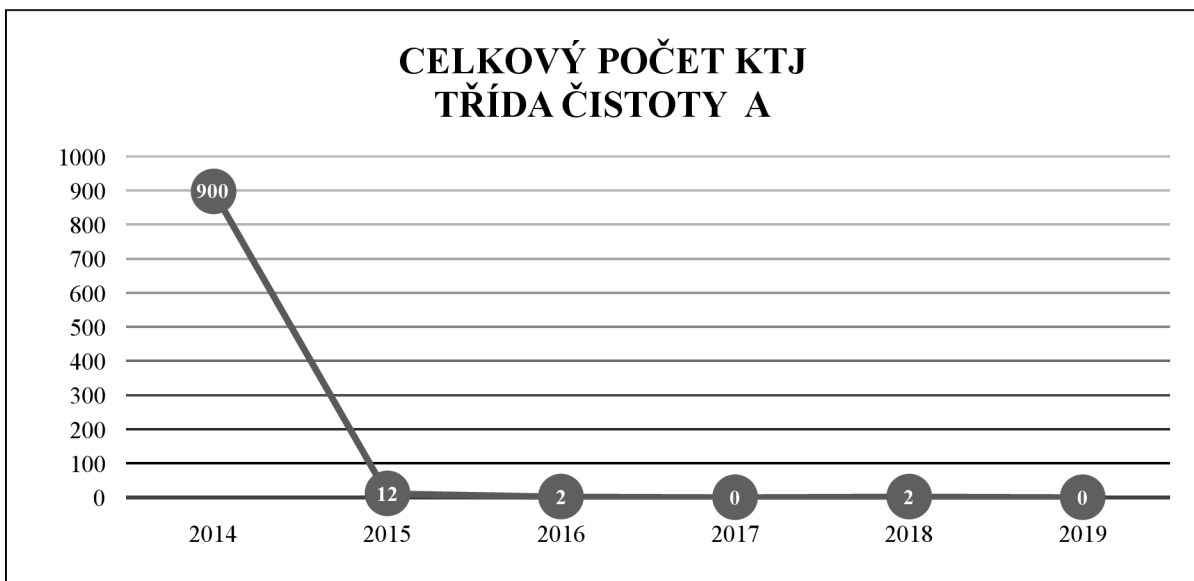
Tabulka 17: Přehled výskytu mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty A v roce 2014

Třída čistoty	Rok	Pracoviště	Kmen	Celkový počet odebraných vzorků / pozitivní vzorky	Počet KTJ
A	2014	PNM	<i>Micrococcus spp.</i> Vláknité houby <i>Staphylococcus spp.</i>	6 / 5	884
A	2014	HOK	<i>Staphylococcus spp.</i> Vláknité houby <i>Micrococcus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>	11 / 4	16

Od roku 2015 byl postupně zaznamenán sestupný trend výskytu pozitivních vzorků (viz obrázek č. 4), mikrobiální flóra se objevila v minimálním zastoupení počtu KTJ na pracovišti HOK (2 KTJ), PNM (PET/CT – 4 KTJ) a CAR (6 KTJ).

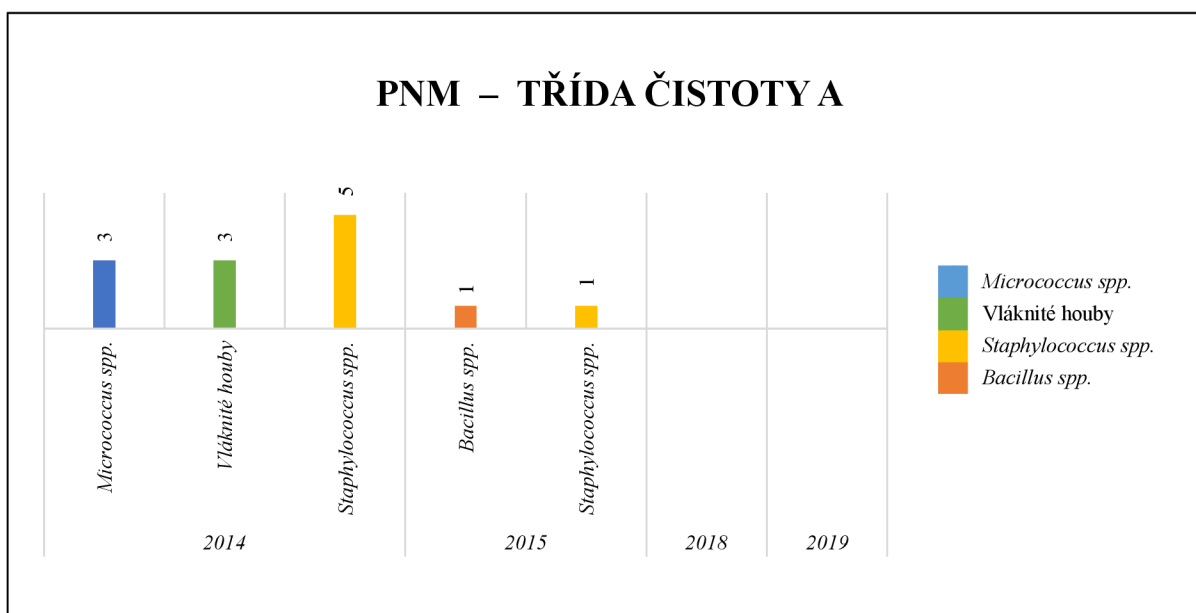
Tabulka 18: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty A v roce 2015

Třída čistoty	Rok	Pracoviště	Kmen	Celkový počet odebraných vzorků / pozitivní vzorky	Počet KTJ
A	2015	PNM	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>	2 / 1	4
A	2015	HOK	<i>Bacillus spp.</i>	12 / 1	2
A	2015	CAR	Vláknité houby <i>Bacillus spp.</i>	15 / 2	6

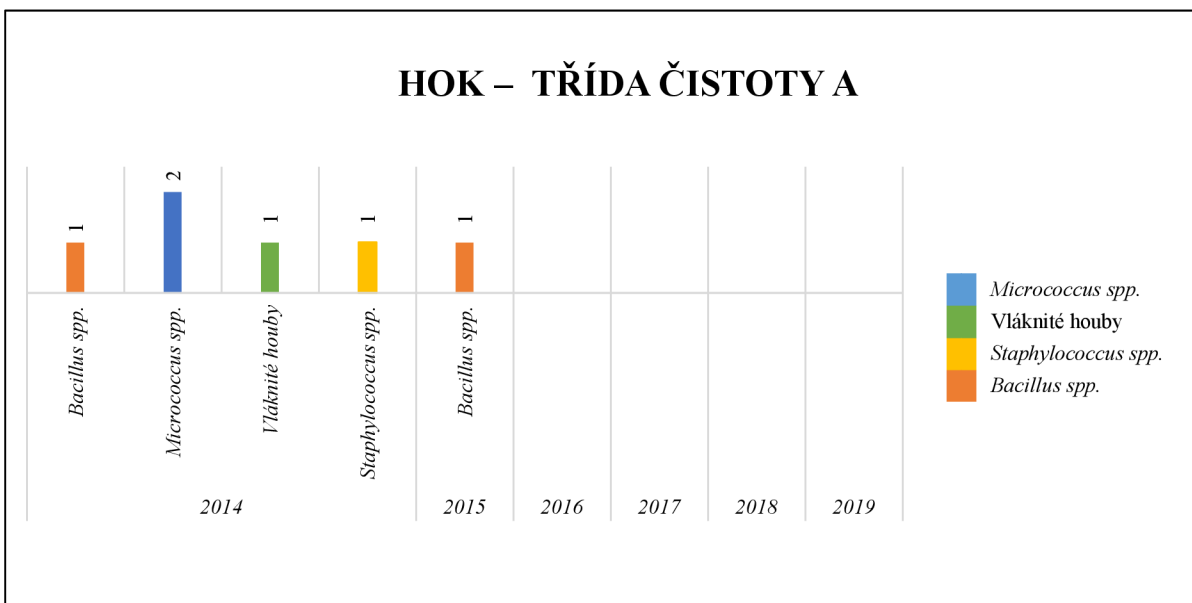


Obrázek 4: Celkový počet KTJ u třídy čistoty A v letech 2014–2019

Kvalitativní přehled mikrobiální flóry na zmíněných pracovištích demonstrují obrázky číslo 5, 6 a 7.



Obrázek 5: Počty KTJ na PNM v letech 2014–2019



Obrázek 6: Počty KTJ na HOK v letech 2014–2019



Obrázek 7: Počty KTJ na CAR v letech 2015–2019

Od roku 2016 byl pozitivní nález mikrobiální flóry zaznamenán již pouze sporadicky na pracovišti Lékárny OPSL (2 KTJ) a Ústavu mikrobiologie (2 KTJ), kde došlo k výskytu mikrobiální flóry *Micrococcus spp.* (viz tabulka 19). V roce 2017 a 2019 nebyla mikrobiální kontaminace prostoru třídy A zaznamenána. Trend byl klesající, což demonstruje i obrázek 8.

Tabulka 19: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty A v roce 2016 a 2018

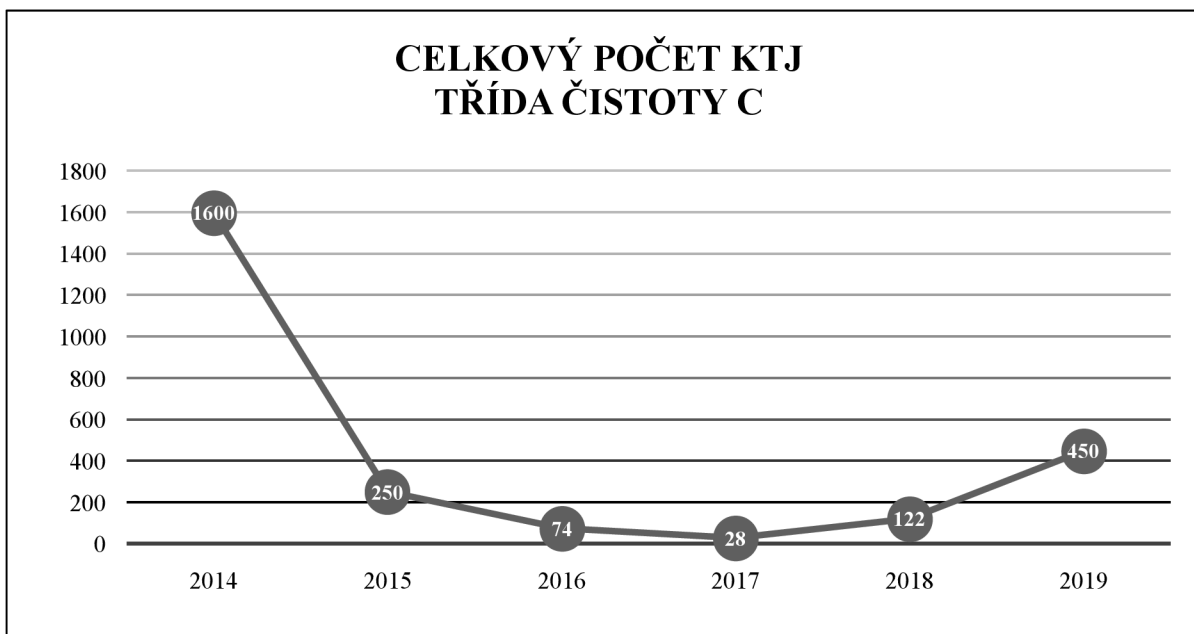
Třída čistoty	Rok	Pracoviště	Kmen	Celkový počet odebraných vzorků / pozitivní vzorky	Počet KTJ
A	2016	LEK	<i>Micrococcus spp.</i>	14 / 1	2
A	2018	MIKRO	<i>Micrococcus spp.</i>	4 / 1	2

Významný výskyt pozitivních vzorků byl i ve třídě čistoty C, opět v roce 2014 na pracovišti PNM (PET/CT a RADFARM), kdy se v pěti pozitivních vzorcích objevilo 1582 kolonií (z celkového počtu 1600) s přítomností patogenní flóry (viz tabulka 20). K opětovnému výskytu pozitivních vzorků došlo na PNM i v roce 2015, tentokrát jen na pracovišti PET/CT, kdy se ve dvou vzorcích objevilo 198 KTJ s přítomností patogenní flóry.

Tabulka 20: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty C v roce 2014 a 2015

Třída čistoty	Rok	Pracoviště	Kmen	Celkový počet odebraných vzorků / pozitivní vzorky	Počet KTJ
C	2014	PNM PET/CT RADFARM	<i>Staphylococcus spp.</i> Vláknité houby <i>Micrococcus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>	7 / 5	1582
C	2015	PNM PET/CT	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i> Vláknité houby	3 / 2	198

V následujících letech (2016–2018) byl zaznamenán na sledovaných pracovištích celkově klesající trend, kdy došlo k absolutnímu poklesu pozitivních vzorků (viz obrázek 9) až do roku 2019, kdy byly opětovně zaznamenány pozitivní vzorky na pracovišti PNM. Došlo k mírném překročení limitů bez nálezu patogenní flóry, který se objevil sporadicky.



Obrázek 8: Celkový počet KTJ u třídy čistoty C v letech 2014–2019

U třídy čistoty D bylo nejvíce pozitivních vzorků v roce 2015. Jednalo se o pracoviště HOK, kdy ze 6 odebraných vzorků byly pozitivní 3 (viz tabulka 21). Obdobně jako u třídy čistoty A byl u třídy čistoty C a D byl trend výskytu pozitivních vzorků klesající s výjimkou roku 2019, kdy se u obou tříd sporadicky objevily 2 pozitivní vzorky (viz tabulka 22).

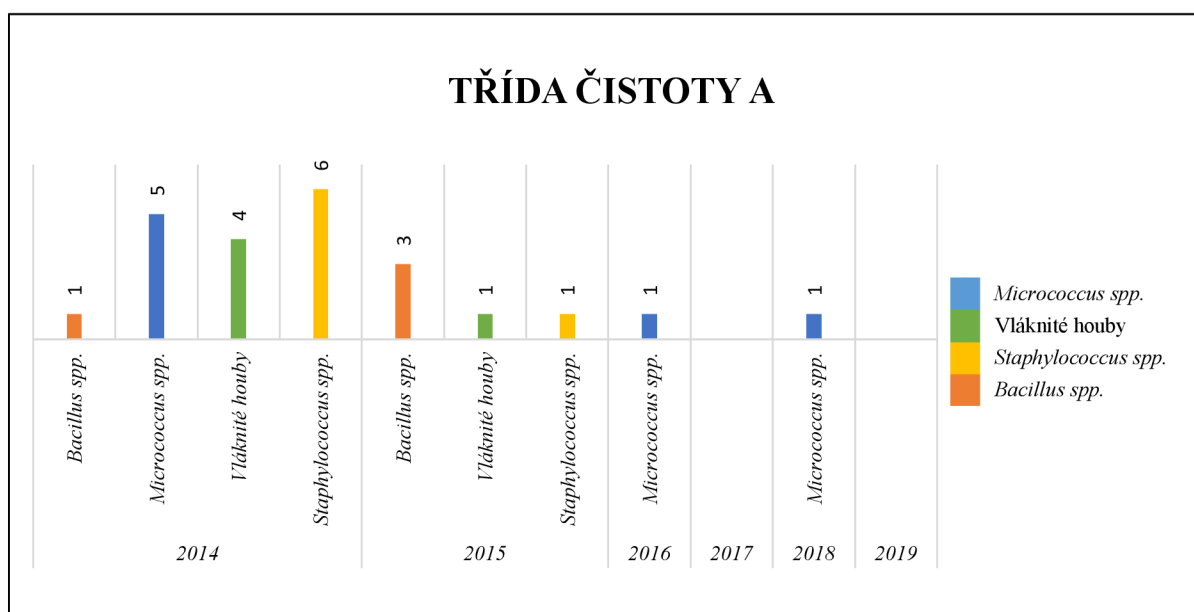
Tabulka 21: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty D v roce 2015

Třída čistoty	Rok	Pracoviště	Kmen	Celkový počet odebraných vzorků / pozitivní vzorky	Počet KTJ
D	2015	HOK	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp. <i>Bacillus</i> spp. Vláknité houby	6 / 3	268

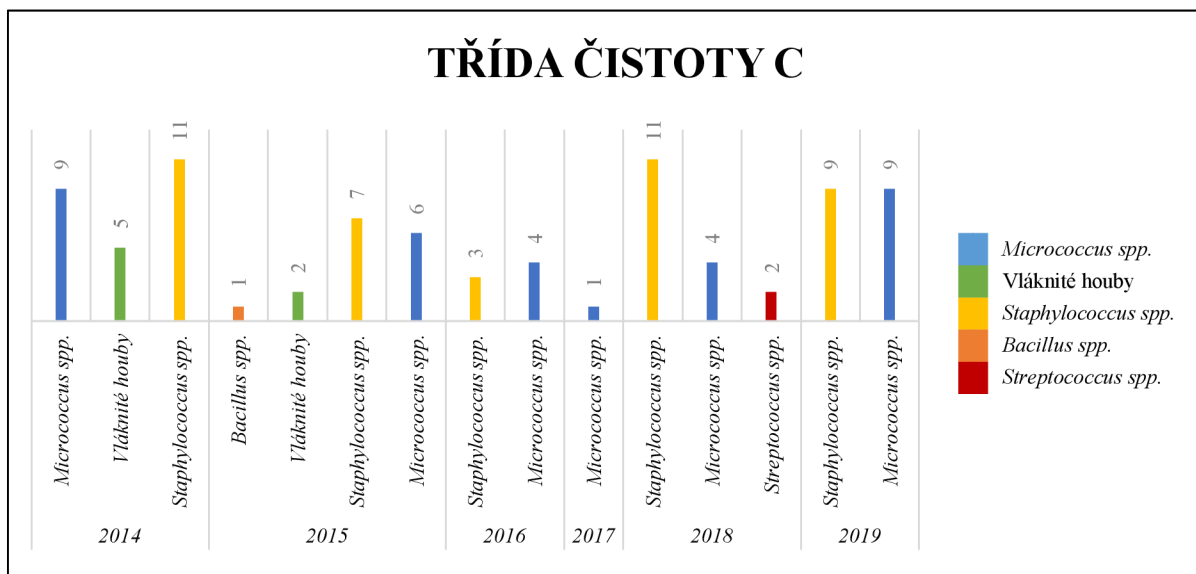
Přehled zjišťované podmíněně patogenní a patogenní flóry v čistých prostorech dle jednotlivých tříd čistoty uvádí obrázky 9, 10 a 11. Nejčastějším bakteriálním kmenem byl *Staphylococcus* spp. (*species*), který se objevil v 75 vzorcích a *Micrococcus* spp., který byl zjištěn v 61 vzorcích. Významným nálezem byly mikroskopické vláknité houby, které byly identifikovány v 16 případech. Od roku 2016 je však patrný sestupný trend bakteriální flóry i mikroskopických vláknitých hub ve třídách čistoty A a C.

Tabulka 22: Charakter mikrobiální kontaminace v prostorech třídy čistoty C a D

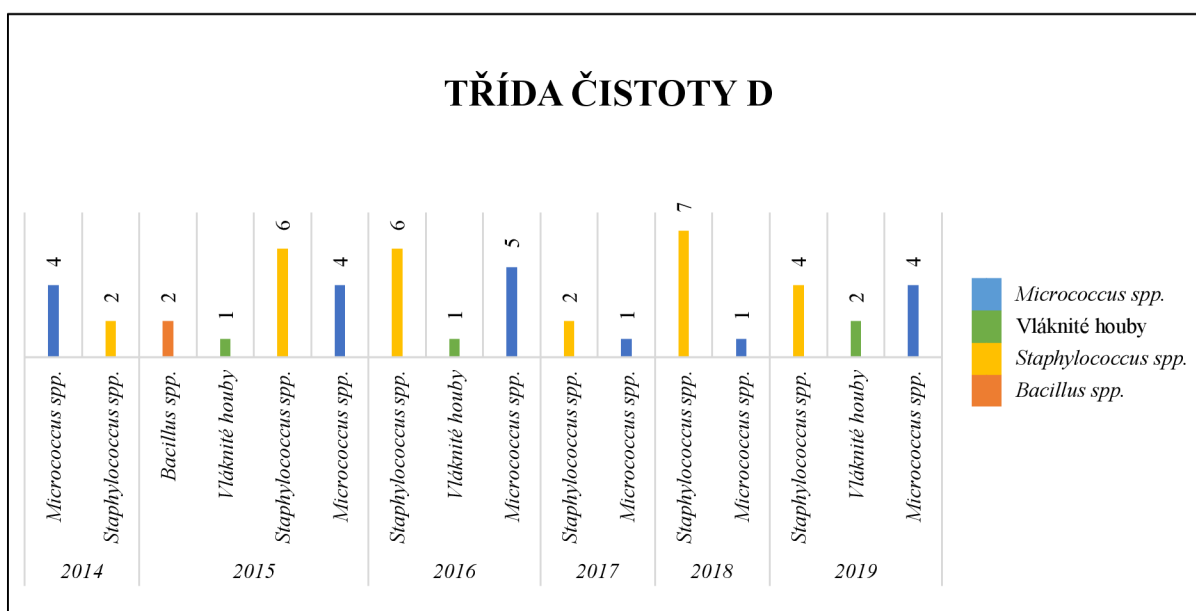
Rok	Třída čistoty	Počet vzorků celkem	Počet pozitivních vzorků
2014	C	19	5
2015		17	2
2016		20	0
2017		16	0
2018		24	0
2019		30	2
2014	D	4	0
2015		11	3
2016		12	1
2017		8	0
2018		8	0
2019		10	2



Obrázek 9: Počty KTJ ve třídě čistoty A v letech 2014-2019



Obrázek 10: Počty KTJ ve třídě čistoty C v letech 2014-2019



Obrázek 11: Počty KTJ ve třídě čistoty D v letech 2014-2019

5.1.4 Mikrobiální kontaminace – operační sály

Od roku 2014 do roku 2019 bylo podle programu monitorování ovzduší odběrových operačních sálů odebráno za provozu celkem 100 vzorků k mikrobiologickému vyšetření. Nevyhovující nález byl potvrzen u 9 vzorků, u 91 vzorků nebyl počet kolonií překročen nebo nebyla zjištěna přítomnost patogenní flóry. Počet všech odebraných vzorků a podíl nevyhovujících (pozitivních) vzorků je uveden v tabulce 23.

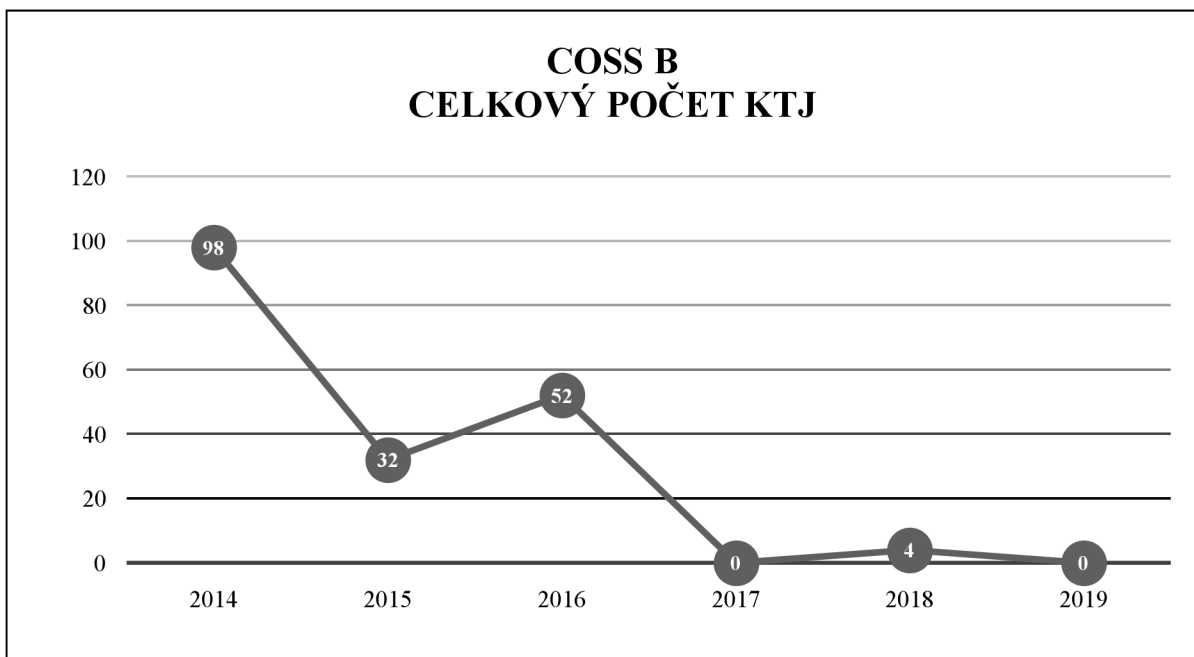
Tabulka 23: Výsledky kultivačních vyšetření v čistých prostorech

Rok	Třída čistoty	Počet vzorků celkem	Počet pozitivních vzorků	Celkový počet KTJ
2014	B	8	2	98
2015		6	2	32
2016		6	2	52
2017		6	0	0
2018		12	0	4
2019		12	0	0
CELKEM			100	9
2014	C	8	0	132
2015		6	3	172
2016		6	0	14
2017		6	0	126
2018		12	0	106
2019		12	0	82
CELKEM			100	9

V prvních třech letech sledování (2014–2016) došlo k překročení limitů a k průkazu patogenní flóry u třídy čistoty B (v prostoru operačního pole) na operačním sále č. 6 (viz tabulka 24). V následujících letech (od roku 2017) již pozitivní vzorky zaznamenány nebyly. Trend byl klesající, co naznačuje i obrázek 12.

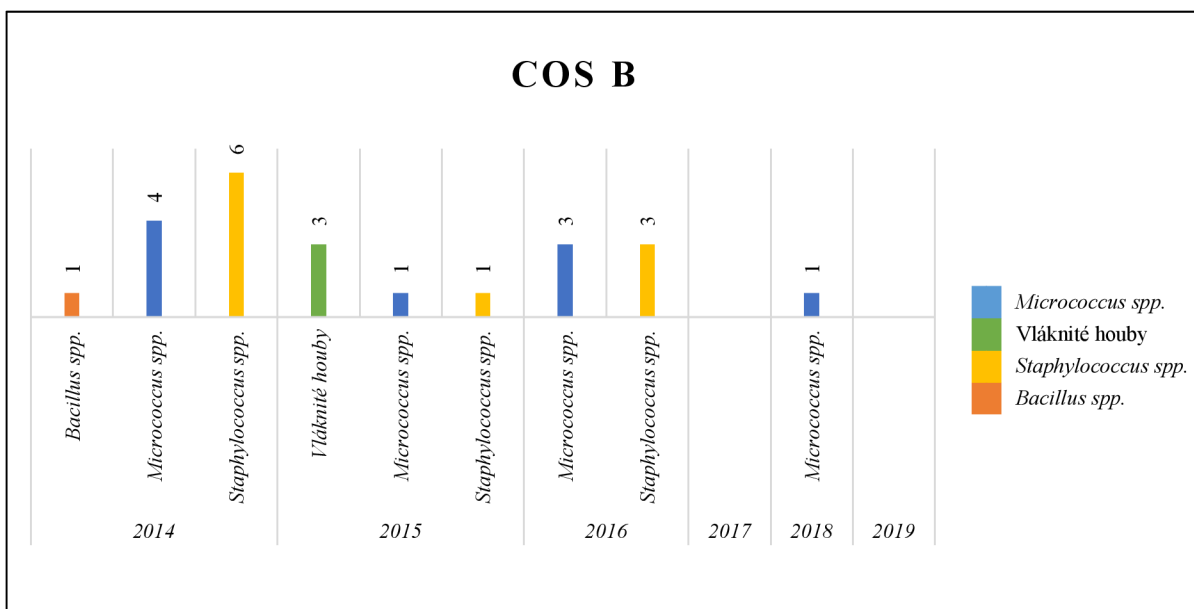
Tabulka 24: Přehled výskytu mikrobiální flóry ve třídě čistoty B v jednotlivých letech (2014-2019)

Rok	Kmen	Počet	Celkový počet KTJ
2014	<i>Bacillus spp.</i>	1	98
	<i>Micrococcus spp.</i>	4	
	<i>Staphylococcus spp.</i>	6	
2015	Vláknité houby	3	32
	<i>Micrococcus spp.</i>	1	
	<i>Staphylococcus spp.</i>	1	
2016	<i>Micrococcus spp.</i>	3	52
	<i>Staphylococcus spp.</i>	3	
2017	-	0	0
2018	<i>Micrococcus spp.</i>	1	4
2019	-	0	0

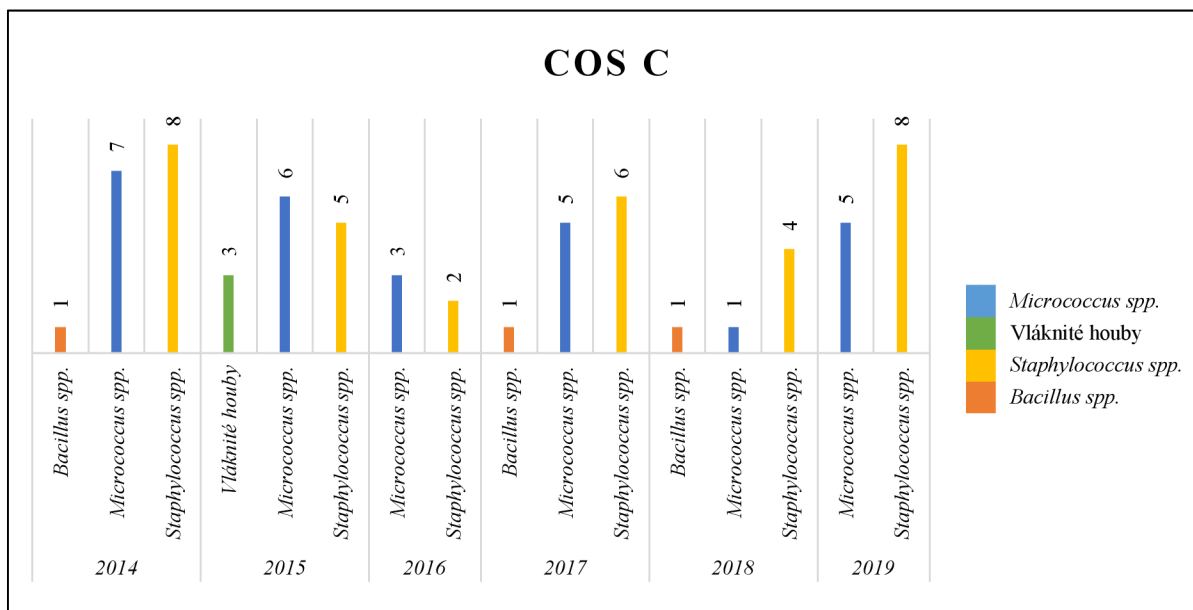


Obrázek 12: Celkový počet KTJ u třídy čistoty B v letech 2014–2019

I když u třídy čistoty C nedošlo k překročení limitů. V roce 2015 byla zaznamenána přítomnost patogenní flóry pouze na operačním sálem č. 6. Od roku 2016 nebyly pozitivní vzorky ve třídě čistoty C již zaznamenány. Přehled podmíněně patogenní a patogenní flóry ve třídě čistoty B a C za jednotlivá sledovaná období uvádí obrázky 13 a 14.



Obrázek 13: Počty KTJ ve třídě čistoty B v letech 2014–2019



Obrázek 14: Počty KTJ ve třídě čistoty C v letech 2014–2019

5.2 Výsledky monitoringu vybraných zdravotnických zařízení v ČR

Výsledky mikrobiologického vyšetření ve zdravotnickém zařízení z Jihomoravského (JHM), Královehradeckého (HK) a Olomouckého (OK) kraje jsou uvedeny v tabulce 25. Odběry probíhaly, jak již bylo zmíněno, v porovnávaných zdravotnických zařízeních (ZZ) na aseptickém a superseptickém operačním sále, kdy odběrovým místem bylo vždy operační pole (třída čistoty ISO 6 pro aseptický sál, třída čistoty ISO 5 pro superseptický) a operační sál (třída čistoty ISO 7 pro aseptický sál, třída čistoty ISO 6 pro superseptický).

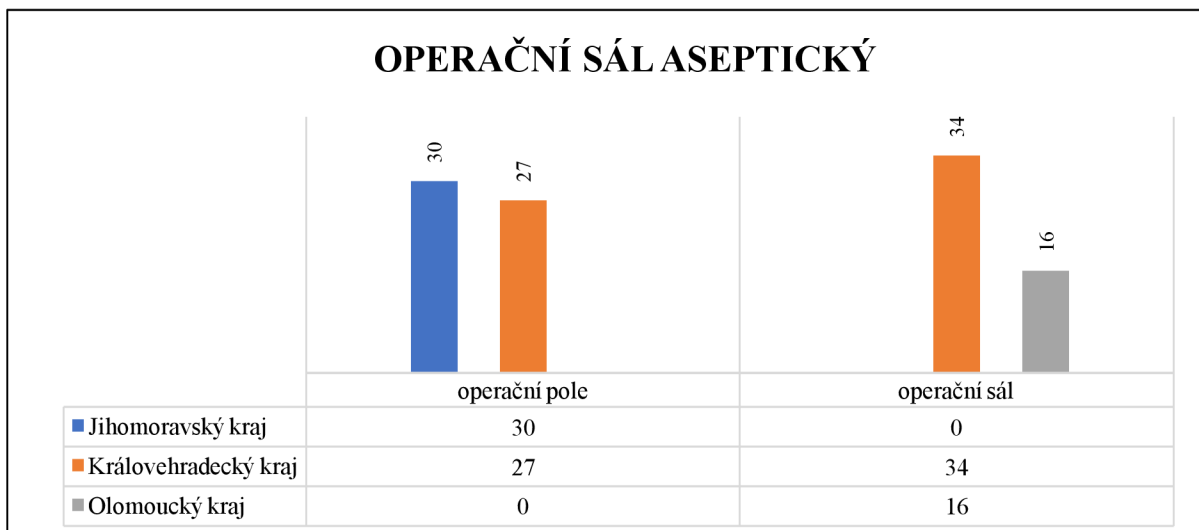
K mikrobiologickému vyšetření bylo odebráno celkem 12 vzorků v prostoru operačního pole a 12 vzorků v prostoru operačního sálu. Počet mikroorganismů na aseptickém operačním sále u jednotlivých ZZ znázorňuje obrázek 15. Z porovnávaných ZZ dosáhlo nejlepších výsledků Jihomoravské ZZ, u něhož byl počet mikroorganismů (*Staphylococcus spp.*) na operačním poli aseptického operačního sálu stanoven na 30 KTJ/m³. Na aseptickém operačním sálu Královehradeckého ZZ byl zjištěn zvýšený počet mikroorganismů nad stanovený limit. Na aseptickém operačním sále tohoto ZZ byl počet mikroorganismů 34 KTJ/m³, k překročení limitu došlo v důsledku poruchy klimatizačního zařízení. Z patogenních mikroorganismů se zde nacházely bakteriální kmeny *Acinetobacter johnsonii*, *Pseudomonas luteola* a *Pseudomonas spp.* Na aseptickém operačním sále ZZ Olomouckého kraje byl stanoven počet mikroorganismů na 16 KTJ/m³, na tomto sále byly z patogenních mikroorganismů prokázány vláknité houby.

Tabulka 25: Výsledky mikrobiologického vyšetření v jednotlivých ZZ

Zdravotnické zařízení	Odběrové místo	Třída čistoty	Počet mikroorg. KTJ/m ³	Kmeny		
■ JHM	operační sál aseptický	operační pole	ISO 6	30	<i>Staphylococcus spp.</i>	
		operační sál	ISO 7	0	/	
	operační sál superaseptický	operační pole	ISO 5	0	/	
		operační sál	ISO 6	160	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Micrococcus luteus</i>	
	■ HK	operační sál aseptický **	operační pole	ISO 6	27	<i>Penicillium spp.</i> <i>Cladosporium spp.</i>
			operační sál	ISO 7	34*	<i>Acinetobacter johnsonii</i> <i>Pseudomonas luteola</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Pseudomonas spp.</i>
operační sál superaseptický		operační pole	ISO 5	1	<i>Cladosporium spp.</i>	
		operační sál	ISO 6	13*	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Micrococcus luteus</i>	
■ OK	operační sál aseptický	operační pole	ISO 6	0	/	
		operační sál	ISO 7	16*	Vláknité houby <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i>	
	operační sál superaseptický	operační pole	ISO 5	18*	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i>	
		operační sál	ISO 6	180*	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Bacillus spp.</i> <i>Micrococcus luteus</i>	

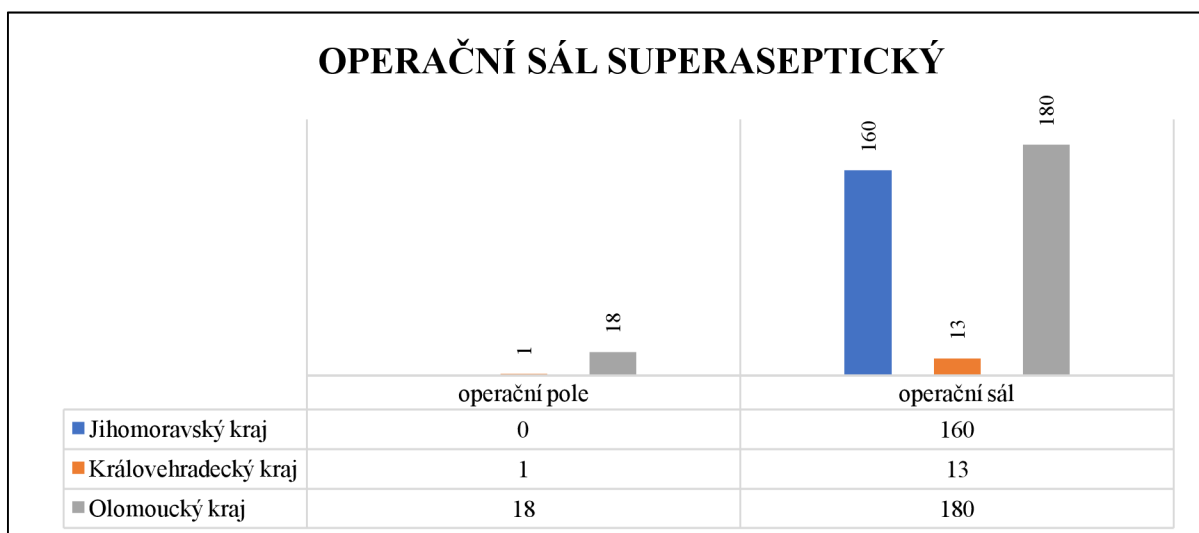
Poznámka: * nedodržení stanovených limitů

** porucha klimatizačního zařízení



Obrázek 15: Počet mikroorganismů KTJ/m³ na aseptickém operačním sále u jednotlivých ZZ

Obrázek 16 uvádí porovnání počtu mikroorganismů na superseptickém operačním sále u sledovaných ZZ. Na superseptickém operačním sále Jihomoravského ZZ bylo zjištěno 160 KTJ/m³ mikroorganismů (*Staphylococcus spp.*, *Micrococcus luteus*). V královeshradeckém ZZ byl na superseptickém operačním sále stanoven počet mikroorganismů na 13 KTJ/m³ a byla zde zjištěna také přítomnost patogenní bakterie *Pseudomonas spp.* Na superseptickém operačním sále ZZ Olomouckého kraje došlo k překročení stanovených limitů jak na operačním sále (180 KTJ/m³), tak i v operačním poli (18 KTJ/m³) tohoto sálu. Přítomné zde byly bakterie *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Micrococcus luteus* a *Bacillus spp.*



Obrázek 16: Počty KTJ/m³ na superseptickém operačním sále u jednotlivých ZZ

Pro stanovení prachových částic ve vznosu bylo odebráno 12 vzorků v prostoru operačního pole a 42 vzorků v prostoru operačního sálu. V operačním poli byly limity pro velikost částic $\geq 0,5 \mu\text{m}$ překročeny u 4 operačních sálů (3 aseptické a 1 superseptický), limity pro velikosti částic $\geq 5 \mu\text{m}$ byly překročeny u 5 operačních sálů (3 aseptické a 2 superseptické).

V prostoru operačního sálu byly limity pro velikost částic $\geq 0,5 \mu\text{m}$ překročeny pouze u 1 aseptického operačního sálu (Královehradský kraj), limity pro velikosti částic $\geq 5 \mu\text{m}$ byly překročeny u všech operačních sálů (viz tabulka 26).

Tabulka 26: Výsledky počtu částic ve vznosu u jednotlivých ZZ (UCL 95 %)

Zdravotnické zařízení	Odběrové místo		Třída čistoty	Počet částic/m ³	
				$\geq 0,5 \mu\text{m}$	$\geq 5,0 \mu\text{m}$
JHM	operační sál aseptický	operační pole	ISO 6	740 433*	17 359*
		operační sál	ISO 7	432 298	35 791*
	operační sál superseptický	operační pole	ISO 5	187 380*	19 910*
		operační sál	ISO 6	172 709	27 023*
HK	operační sál aseptický	operační pole	ISO 6	11 068 048*	116 154*
		operační sál	ISO 7	7 103 133*	46 078*
	operační sál superseptický	operační pole	ISO 5	308	74
		operační sál	ISO 6	21 964*	4 366*
OK	operační sál aseptický	operační pole	ISO 6	7 172 373*	4 980*
		operační sál	ISO 7	2 405 563	2 519*
	operační sál superseptický	operační pole	ISO 5	24 400	937*
		operační sál	ISO 6	44 855	2 668*

Poznámka: * nedodržení stanovených limitů

Nejvyšší přípustné limity dle normy ISO, případně *Vyhlášky č. 553/2007 Zb.* nesplnil ani jeden z monitorovaných sálů. Jelikož se jednalo v této fázi pouze o získání aktuálních dat o stavu vnitřního ovzduší ve vybraných čistých prostorech ZZ, protiepidemická opatření nebyla stanovována.

6 PROTIEPIDEMICKÁ OPATŘENÍ ZZTT

V roce 2014, kdy se započalo s monitoringem, bylo zaznamenáno nejvíce pozitivních (nevyhovujících) vzorků. Protiepidemických opatření jak v čistých prostorech, tak na operačních sálech byla v celém monitorovacím období řada.

K zásadnímu překročení limitů došlo v laboratořích RADFARM a PET/CT na PNM. V odebraných vzorcích ovzduší čistého prostoru zde byly prokázány jak nadlimitní počty podmíněných patogenů včetně mykotické flóry, tak byly překročené limity počtu prachových částic. Vzhledem k negativním výsledkům došlo k ukončení provozu laboratoří přípravy radiofarmak a neprodleně se započalo s protiepidemickými opatřeními, která zahrnovala nejprve revizní kontrolu vzduchových filtrů VZT jednotky a následně až nutné rozsáhlé stavební úpravy laboratorního traktu přípravy radiofarmak s instalací a regulací nové VZT jednotky. Nejdříve se začalo s dispozičními změnami, kdy obě stávající laboratoře byly spojené do jednoho prostorového celku, který byl doplněn o zázemí pro personál. Byla vytvořena příjmová část s materiální propustí pro příjem a evidenci materiálu včetně jejího propojení na sklady, a také vytvoření personální propusti (s čistou a špinavou zónou) do prostoru laboratoře přípravy radiofarmak. Tato propust byla vybavena umyvadlem a pohotovostní sprchou (včetně samostatné úklidové komory, která slouží pouze pro úklid prostoru laboratoře, tzn. neslouží pro žádné jiné prostory). Vzhledem k zachování přetlakového toku a čistoty byly dveře filtru opatřeny blokací dveří proti otevření obou dveří současně. Prostor laboratoře byl vybaven bezspárým omyvatelným a dezinfikovatelným povrchem stěn, podlah a stropů a s fabiony na přechodu podlaha-stěny, o třídě čistoty „C“ s třídou čistoty „A“ v pracovním prostoru laminárních boxů. Laboratoř byla doplněná o stíněné laminární boxy Safeflow Faster třídy čistoty „A“ pro přípravu radiofarmak. K laboratoři byly vytvořeny i ostatní navazující nezbytné provozní místnosti, jako jsou čistící místnost, sklady, úklidová komora, pracovny lékařského personálu, pobytová místnost personálu a sociální zázemí personálu (WC, sprcha), které jsou samostatně přístupné z vnitřní provozní chodby.

Tabulka 27: Výsledky před a po provedení opatření na Pracovišti nukleární medicíny

Měřicí místo	První měření na začátku monitoringu			Měření po provedených opatření		
	Celkový počet částic/m ³		Počet mikroorg.	Celkový počet částic/m ³		Počet mikroorg.
	≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm	KTJ/m ³	≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm	KTJ/m ³
PET/CT laminární box (třída čistoty A)	7	6	50–224	4	4	0
PET/CT laboratoř (třída čistoty C)	364 519	6 202	300–360	280 645	20 432	0–2
Laboratoř přípravy radiofarmak 1* laminární box (třída čistoty A)	7	7	262–344	0	0	0
prostor laboratoře 1 (třída čistoty C)	344 109	16 343	222–246	-	-	-
Laboratoř přípravy radiofarmak 2* laminární box 2 (třída čistoty A)	1 393	36	0–4	0	0	0
prostor laboratoře 2 (třída čistoty C)	126 509	8 764	52–88	11 117	1 312	0–4

Poznámka: * laboratoř bez vzduchotechnické jednotky

Větrání laboratorní části bylo zajištěné novou automaticky řízenou klimatizační jednotkou, která byla umístěná do samostatné strojovny v budově PNM. Větrání samotné laboratoře bylo navrženo se tří stupňovou filtrací, která byla zajištěná kaskádovým přetlakem dle požadované čistoty místností. Nová klimatizační jednotka tak zajišťuje dvou stupňovou filtraci vzduchu (filtry F5, typu F9) ohřev, chlazení a vlhčení přívodního vzduchu. Třetí stupeň filtrace je zajištěn čistými nastavci HEPA filtru typu H13. Ostatní prostory PNM (pracoviště PET/CT) byly ponechány stávající. Po skončení všech stavebních prací bylo před spuštěním provozu provedeno měření prachových částic ve vznosu a odběr vzorků k mikrobiologickému vyšetření za účelem vyloučení možné kontaminace. Jak demonstruje tabulka 27, laboratoř dosáhla na základě přijatých opatření příslušných limitů kvality vnitřního ovzduší.

K další nežádoucí kontaminaci došlo v roce 2015 na CAR, kdy při pravidelném servisu laminárního zařízení došlo k jeho kontaminaci servisním technikem. V tomto případě byla prokázána přítomnost nežádoucí mykotické flóry (viz tabulka 28). I tady byla provedená protiepidemická opatření, spočívající především v revizi filtrů laminárního zařízení. Obdobně

jako v prvním případě byla provedena kontrolní měření, která prokázala nepřítomnost bakteriální a mykotické flóry, a potvrdila tak relevantnost přijatých opatření.

Tabulka 28: Výsledky opatření v embryologické laboratoři CAR

Měřicí místo	Měření po provedeném nevhodném servisu Počet mikroorganismů KTJ/m ³	Měření po provedených opatřeních Počet mikroorganismů KTJ/m ³
Laminární box (třída čistoty A)	4	0
Embryologická laboratoř (třída čistoty D)	14	0

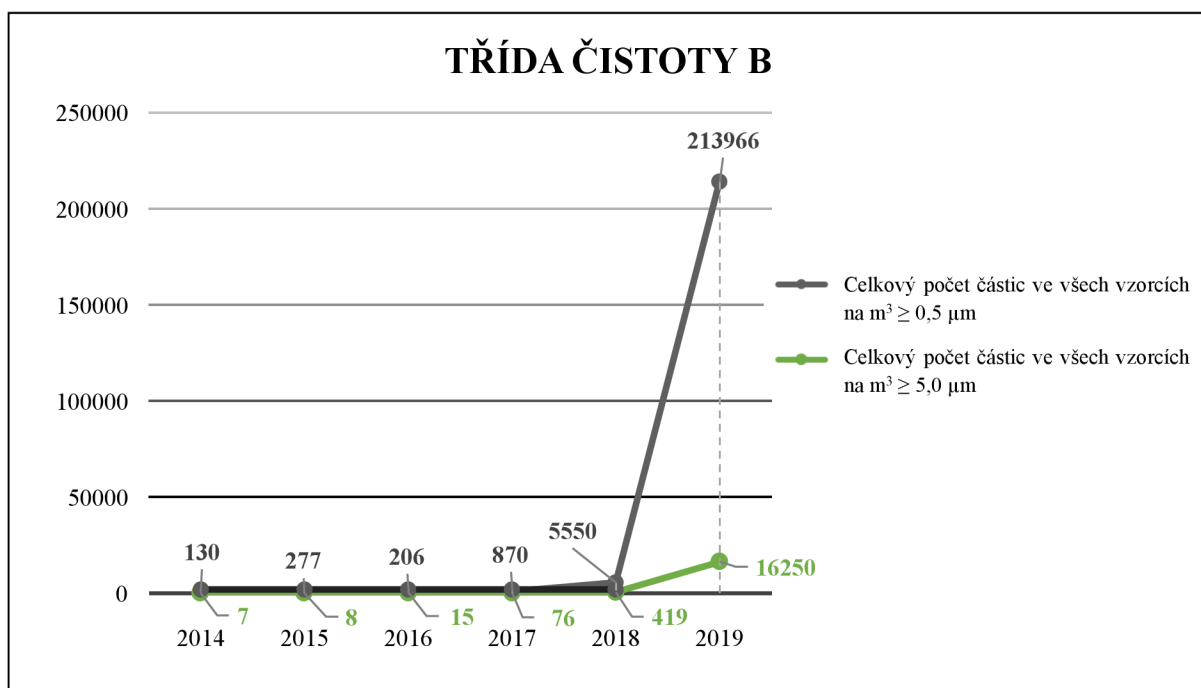
Nežádoucí mikrobiální flóra a překročení počtu částic ve vznosu bylo zaznamenáno i na jiných pracovištích. Jednalo se však o sporadické nálezy s minimálním překročením limitů (1–2 kolonie v případě mikrobiologického vyšetření) jak tomu bylo na HOK a MIKRO. V takovém případě postačovala revize vzduchových filtrů na samotném zařízení nebo důkladná dezinfekce kontaktních a okolních ploch čistého prostoru, která v mnohých případech výskyt mikrobiální flóry a částic ve vznosu okamžitě eliminovala. V těchto případech se jednalo zejména o sekundární kontaminaci z vnějšího prostředí personálem.

Od roku 2014 do roku 2019 nebylo v prostorech odběrových operačních sálů zaznamenáno překročení limitů prachových částic. S výjimkou kontrolního měření celkového počtu částic za účelem odhalení možné příčiny. Tehdejší cílem bylo ověření VZT parametrů na monitorovaném operačním sále, během kterého došlo ke 100 až 400násobnému zvýšení hodnot oproti běžně naměřeným (viz obrázek 17). Po skončení operačního programu došlo k demontáži krytu laminizátoru servisním personálem pro kontrolu stavu HEPA filtru. Následná kontrola laminizátoru odhalila chybějící díl v okolí průchodu světla přes strop operačního sálu (pravděpodobně způsobené při výměně světel odbornou firmou), odkud byl přiváděn nefiltrovaný vzduch z VZT jednotky. Po odstranění závady došlo i ke kompletní výměně HEPA filtrů a k následnému kontrolnímu měření, které prokázalo dodržení limitních hodnot (viz tabulka 29).

Tabulka 29: Výsledky měření prachových částic v ovzduší před a po provedených opatřeních

Měřicí místo (třída čistoty B)	Měření z periodického monitoringu		Měření po provedených opatření	
	Celkový počet částic/m ³ ≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm	Celkový počet částic/m ³ ≥ 0,5 μm	≥ 5,0 μm
Operační sál – měření pod laminárním prouděním	213 966	16 250	492	21

Kritickým problémem, se kterým se monitorované prostory nejčastěji potýkaly, byla mikrobiální kontaminace. Ta byla zapříčiněná zvýšenou koncentrací osob na sále, ale i neukázněným chováním personálu při zbytečném vstupování do jeho prostoru. Nadbytečné otevírání dveří sálů může totiž ovlivnit směr proudění vzduchu i jednotlivé tlaky mezi operačním sálem a jeho okolními prostory (chodba, umyvárna, přípravná a dokončovna pacienta), což může značně přispívat k eskalaci mikrobiální flory.



Obrázek 17: Celkový počet částic ve všech vzorcích pro třídu čistoty B ve sledovaném období

V letech 2014 a 2016 docházelo vlivem vysokého počtu osob na operačním sále během operačního výkonu k překračování doporučených limitů pro mikrobiální kontaminaci (viz tabulka 30). Jednalo se o případy, kdy kromě operačního týmu (7 osob: 2x operátor, 2x anesteziolog, 2x všeobecná sestra, 1x sanitář) byli na sále přítomni i studenti (3–4 osob) a pracovník provádějící odběr, tzn. celkem bylo na sále přítomno 11-12 osob. V obou případech byla problematika konzultována s vedením pracoviště, na základě čehož byla následně

zavedena režimová opatření. Posléze byly provedeny kontrolní odběry, které již neprokázaly přítomnost bakteriální ani mykotické flóry.

Tabulka 30: Pozitivní nálezy v prostoru operačního pole za jednotlivá období

Třída čistoty	Rok	Odběrové místo	Počet KTJ	Kmen
B	2014	Pod laminárním prouděním	2–36	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i>
B	2015	Pod laminárním prouděním	4–18	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i> Vláknité houby
B	2016	Pod laminárním prouděním	8–10	<i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp. (viridující)</i> Vláknité houby

V roce 2015 dopomohla k překročení limitů neukázněnost operačního personálu, kdy vlivem častého otevírání dveří došlo k narušení mikroklimatu na sále (proudění vnitřního ovzduší), resp. ke změně jednotlivých tlaků vzhledem k okolním prostorům (prostor sálu je v přetlaku vůči okolním místnostem z důvodu dodržování aseptického režimu). V uvedeném roce docházelo k vysoké frekvenci otevírání dveří (jak z přípravný, tak i z dokončovny sálu, někdy i zároveň; přechod sálem do sterilní chodby; návštěva kolegy z jiných sálů, delší prodleva mezi otevřením a uzavřením automatických dveří apod.), které doslova vyvětrávali operační sál, což mělo za následek kontaminaci vnitřního ovzduší operačního sálu ovzduším z místnosti s nižšími nároky na kvalitu ovzduší (místnosti třídy čistoty D, nebo validované dle ISO 8 a ISO 9) (viz tabulka 30). I tato problematika byla projednána s vedením operačních sálu a byla přijata nápravná režimová opatření (poučení personálu o rizicích z toho vyplývajících), včetně technických opatření, kdy došlo servisním personálem ke zkrácení prodlevy otevření/ zavření dveří.

7 DISKUSE

Výsledky výzkumu monitoringu ovzduší poukázaly jak na stav čistých prostorů a odběrových operačních sálů ve ZZTT, tak i na čistotu vybraných čistých prostorů ve třech českých zdravotnických zařízeních terciárního typu.

Před rokem 2014, kdy se začalo s monitorováním čistoty prostředí, se o znečištění prachovými částicemi a mikrobiálními agens uvažovalo pouze teoreticky. Vědělo se, že existuje několik možných zdrojů a forem přenosu, se kterými se během monitorování bude nutné vypořádat. V průběhu začátku monitoringu bylo potřeba zvládnout některá úskalí. Při monitoringu byla zjištěna řada negativních výsledků jak v čistých prostorech, tak na operačních sálech, avšak správnými protiepidemickými opatřeními se podařilo problémy vyřešit. Důkazem je tato disertační práce, která demonstruje účinnost monitoringu v čistých prostorech a na konkrétních příkladech protiepidemických opatření ukazuje, jak dosáhnout stabilní, velmi dobré úrovně zajištění čistoty sledovaných prostorů.

Výsledky disertační práce identifikovaly ve vnitřním ovzduší čistých prostorů 4 izolované kmeny bakterií rodu *Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus spp.* a *Streptococcus spp.* To je v souladu s prací Bonetta et al., (2010) kteří rovněž ve vnitřním prostředí budov zregulovaných VZT systémem prokázali nejčastěji přítomnost stafylokoků a mikrokoků (117). Stejný výsledek byl prokázán v práci zabývající se monitoringem vnitřního ovzduší a sledující tak mikrobiom čistého prostoru v lékárně University Clinical Center Ljubljana. Distribuce bakteriálních druhů a rodů byla ve všech čistých prostorech podobná jako v této disertační práci. I tady byly ve vnitřním ovzduší nejčastěji zjištěny stafylokoky a mikrokoky (71).

Obdobně můžeme poukázat na výsledky studie Matouškové a Holého z let 2010–2011, kteří zjišťovali mikrobiální kontaminaci vnitřního ovzduší na transplantační jednotce HOK FNOL (118). Jednalo se o obdobné zdravotnické zařízení, na kterém probíhala i námi předkládaná studie, i o stejnou třídu čistoty vnitřního prostoru, která je nastavená i pro tkáňové zařízení HOK. Výsledky studie prokázaly, že v mikrobiomu vnitřního ovzduší se z 94,3 % nachází stafylokoky, druhým nejčastějším vyskytujícím se kmenem byl *Micrococcus spp.* a třetím *Bacillus subtilis*, což odpovídá i výsledkům námi předkládané studie.

Kromě zmíněných bakteriálních rodů se v námi prezentovaném monitoringu objevily i mikroskopické vláknité houby. Jednalo se ale o sporadické nálezy, které lze připsat lidskému faktoru – personálu, při nedodržování bariérových a aseptických podmínek. Jako příklad byla popsána situace na CAR v roce 2015. Právě personál, jak kmenový, tak technický vstupující do

čistého prostoru může být faktorem, který hraje významnou roli při kontaminaci prostředí (emitace mikrobiální flóry a částic ze sliznic a oděvu). Tršan et al. (2019) ve své práci zjistili, že více než 70 % izolovaných mikroorganismů z ovzduší v čistém prostoru bylo součástí běžné lidské flóry (71).

Zdrojem mikroskopických vláknitých hub se může stát i samotné VZT zařízení. Zejména při obecném opotřebení v průběhu času, když je opomenutá validace VZT zařízení a výměna filtrů u jednotlivých stupňů filtrace. Je důležité vzít v potaz, že doporučené požadavky na kvalitu vnitřního prostředí zdravotnických pracovišť, vyžadujících zvýšené nároky na jeho čistotu, se pokládají za splněné, není-li přítomná patogenní a potenciálně patogenní flóra (72). Z dosažených výsledků je patrné, že při prováděném monitoringu se často nacházela podmíněně patogenní flóra, avšak až na uvedené výjimky vždy v limitovaném množství.

V čistých prostorech nelze dosáhnout úplné sterility nebo absence mikrobiální kontaminace. Lze přepokládat, že v každém prostoru, kde dochází k proudění vzduchu, dochází také ke vzdušnému přenosu prachových částic a mikrobiální flóry. Přispívají tomu fyziologické úkony pohybujících se osob, jež jsou kolonizovány mikrobiální flórou, která je pro toto prostředí adaptována a schopná v něm přežít (119, 120).

V případě čistého prostoru na PNM bylo nežádoucím faktorem zejména stáří objektu. Tento faktor přispívá značnou mírou ke kontaminaci vnitřního ovzduší v čistých prostorech obecně. V takových prostorech, kde byl po desetiletí fungující provoz a systém pracoviště byl dimenzován a kolaudován za podmínek, které splňovaly tehdejší legislativu a metodická doporučení, může nastat situace, že některý z měřených parametrů nevyhoví předepsaným současným požadavkům. V našem případě to byl pozitivní mikrobiologický nález, který překračoval doporučené limity jak pro mikrobiologickou kontaminaci, tak byl překročen přípustný počet částic ve vznosu. V těchto prostorech přispěla k nedostatečné kvalitě ovzduší zastaralá VZT jednotka. Tento problém se obecně nejvíce týká starých budov, které ještě neprošly revitalizací (121). V našem případě to bylo následně řešeno komplexní revitalizací celého objektu. Výsledky následného monitoringu potvrdily pozitivní dopad protiepidemických opatření a také samotný význam monitoringu vnitřního ovzduší čistých prostor.

Co se týče operačních sálů, za nejvýznamnější rizikový faktor lze opět považovat vstupující personál, který svým chováním do značné míry může ovlivňovat mikrobiom prostředí sálu. Jak demonstrují případy z let 2014 a 2016, kdy vlivem zvýšeného počtu osob na sále došlo

k neúmyslné kontaminaci vnitřního ovzduší prostoru operačního pole podmíněně patogenní mikrobiální flórou *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* (viridující) a mikroskopickými vláknitými houbami. Několik studií prokázalo, že počet osob přítomných během chirurgického výkonu do značné míry ovlivňuje počet vzduchem přenášených prachových částic, jejich pohyb vede k opětovnému rozvíření usazených částic a rychlost otevírání sálových dveří způsobuje zvýšení počtu mikroorganismů.

Snížení počtu bakterií lze docílit správným používáním OOPP během chirurgických výkonů (tzn. použitím vhodných jednorázových oděvů z netkaných textilií, používáním dvojích rukavic, správným nošením chirurgických masek, správným krytím vlasů atd.) a provedením chirurgického mytí a dezinfekci rukou před vstupem na sál (4). Právě hygienické dezinfekci rukou u zdravotníků by se měla věnovat pozornost, protože až 61 % zdravotnického personálu a 50 % chirurgických týmů nedodržuje hygienický režim v praxi (24). Proto je jedním z nástrojů při sledování čistoty prostředí ve ZZTT mikrobiální kontrola prostřednictvím stěrů a otisků z prostředí a z rukou personálu, za účelem ověřování dodržování aseptických postupů. Na význam hygieny rukou upozornilo sledování dodržování hygieny rukou při provádění aseptických ošetrovatelských a léčebných postupů zdravotnickým personálem. Před kontaktem s pacientem provedlo hygienickou dezinfekci rukou pouze 67 % a po kontaktu s pacientem 78 % zdravotníků. Před aseptickým výkonem (zavedení periferního žilního katétru před výkonem) provedlo dezinfekci rukou 80 % a po výkonu pouze 70 % zdravotníků (96). Podobně na důslednost hygieny rukou poukázal ve své práci Sasahara (2016), který pozoroval kontaminaci rukou zdravotnického personálu sporulující bakteriální flórou po skončení pracovní směny. Z celkového počtu 71 zdravotníků mělo bakteriální spory na rukou až 76,1 % zdravotníků, z toho 50 % mělo kontaminované ruce flórou *Bacillus subtilis* a *Bacillus cereus* a 26,8 % mělo kontaminované ruce oběma typy mikrobů. Byla zjištěna významná negativní korelace mezi mírou kontaminace rukou a četností provádění hygieny rukou, což svědčí o jejím nedostatečném provádění při každodenní péči o pacienty (122).

Dalším nezanedbatelným způsobem šíření bakteriálních agens, v souvislosti s rukama zdravotnického personálu, je sekundární kontaminace, která je způsobena kontaktem s kontaminovaným předmětem nebo zdravotnickou pomůckou. Jedná se především o běžné předměty, jakými jsou zejména PC, telefony a zdravotnická dokumentace. Zenbaba (2022) uvádí ve své studii, že až 83,9 % mobilních telefonů zdravotnického personálu je kontaminováno bakteriemi typu *Staphylococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* a *E. coli* (123). Caves (2013) ve své studii uvádí, že až 93 % složek zdravotní dokumentace bylo

kontaminováno patogenní a podmíněně patogenní florou, v největším zastoupení bakterií typu *Staphylococcus aureus*. Na přítomnosti mikroskopických vláknitých hub ve své práci poukazuje i Macedo (2013), který uvádí lidskou přítomnost jako jednu z hlavních příčin, která významně přispívá k jejich produkci (124). Beldi (2009) ve své studii prokázal, že části hlavy personálu, které mohou zůstat během operace odkryté (vlasy, uši), jsou zodpovědné za výrazně vyšší koncentrace bakteriální flóry než bakteriální flóra uvolňující se z čela nebo obočí. Demonstroval také uvolňování bakteriální flóry z personálu ve vztahu k různým druhům oblečení, kdy personál s chirurgickým oblečením emituje o polovinu mikrobiální flóry méně než vysvělený personál a až 20 až 30násobně méně flóry při použití kombinézy určené pro čistý prostor s vysokými botami (125).

Tomuto jevu je možné se vyhnout systémovým a behaviorálním opatřením, jakým je efektivní edukace personálu v hygieně rukou, dále v řádném nošení operačního oděvu a OOPP (operační halena, kalhoty, čepice, chirurgická maska a boty) a omezení zbytečných aktivit personálu, se kterými souvisí zvýšený pohyb na operačním sále a zvýšená frekvence otevírání dveří do sálu (27). Několik studií prokázalo, že zmíněné vnější zásahy, jako je pohyb operačního personálu a otevírání dveří, mohou ovlivnit průtok proudícího filtrovaného vzduchu a objemovou výměnu, což může mít za následek (z důvodu přetlaků z přilehlých prostorů) míchaní vzduchů a následně může způsobit kontaminaci vnitřního ovzduší operačního sálu (126, 127, 128). V odborné literatuře se uvádí, že počet otevření dveří se může pohybovat až do 40 otevření jen před započítáním chirurgického výkonu (fáze před řezem: dodávky materiálu, papírování, dodatečný příchod personálu) (129, 130, 131), proto je nezbytné pochopit rozsáhlý negativní dopad otevírání dveří na stávající proudění a čistotu vnitřního ovzduší (128).

Přítomnost mikroskopických vláknitých hub v prostorech operačního sálu může být podmíněna několika faktory, zejména bývá způsobena samotnou přítomností osob na sále, dále mikroklimatickými podmínkami (teplota, relativní vlhkost – více než 60 %), ale i disfunkčním VZT zařízením, které může svým negativním vlivem zapříčinit kontaminaci vnitřního ovzduší operačního sálu (5). Typickým příkladem byl incident z roku 2019, který demonstroval nefunkčnost filtrace laminizátoru operačního sálu, kdy došlo k překročení počtu částic na odběrovém sále z důvodu chybějícího stropního dílu, který vytvořil komunikaci mezi VZT systémem a operačním sálem, skrze kterou bylo ovzduší distribuováno do prostoru operačního pole bez třetího stupně filtrace.

Když si porovnáme výsledky dodržování stanovených mikrobiologických limitů a počtu částic ve vznosu z čistých prostorů a odběrových operačních sálů ZZTT s výsledky

zdravotnických zařízení ČR, dopracujeme se k diametrálně odlišným hodnotám. Stanovené mikrobiologické limity dodržely pouze operační sály ZZ Jihomoravského kraje. Co se týče maximálně přípustných limitů prachových částic ty byly překročené u všech monitorovaných operačních sálů. Tyto výsledky by měly být pro námi sledovaná ZZ výstražným znamením, protože když stávající stav vnitřního ovzduší monitorovaných operačních sálu zůstane neměnný, bez provedení jak represivních, tak i systémových protiepidemických opatření, může výrazně zvýšit riziko vzniku HAI.

Jak ukazují výsledky z dalších různých realizací VZT systému, čistotu daného systému ovlivňuje jak výroba a transport součástí VZT systému, tak i jejich montáž a zejména podmínky této montáže. Opět v tomto procesu sehrává důležitou roli lidský faktor, jehož negativní pracovní návyky a neukázněnost může ovlivnit aseptický a superseptický režim operačního sálu (89).

Moderní operační sály by měly být vybaveny VZT systémy pro řízení faktorů prostředí sálu, jakými jsou teplota, relativní vlhkost vzduchu a průtok vzduchu. Dále by měly být vybaveny ventilačním systémem (turbulentní proudění s vertikálním nebo horizontálním průtokem a vertikální laminární proudění) se specifickým stupněm filtrace podle definovaných jednotlivých chirurgických výkonů. Většina zákrokových sálů je vybavena turbulentním prouděním s ventilační filtrací HEPA filtry o účinnosti 80–95 % při odstraňování částic $\geq 5 \mu\text{m}$. Na superseptických operačních sálech používaných pro ortopedické, nitrooční, kostní a kardiochirurgické operace je vnitřní vzduch filtrován HEPA filtry o účinnosti 99,97 % při odstraňování částic $\geq 3 \mu\text{m}$ a větších.

Doposud neexistuje žádný mezinárodní standard povolené mikrobiální kontaminace vnitřního ovzduší na operačních sálech, avšak monitorování kvality vnitřního ovzduší se doporučuje pro každý operační sál a je často doprovázeno i kontrolou počtu částic ve vznosu. Většina evropských zemí má své vlastní standardy: například ve Francii jsou mikrobiologické limity mezi 5 a 20 KTJ / m³ a jsou přísnější než limity ve Velké Británii, kde limit činí 35 KTJ / m³ (4).

Pro měření počtu částic ve vznosu, začalo mnoho zemí využívat technickou normu pro čisté prostory EN ISO 14644-1, která klasifikuje ovzduší do tříd čistoty ISO 1–9 (65). Analogicky lze i využít pro hodnocení legislativu Slovenské republiky, tj. limity stanovené v příloze č. 1 k Vyhlášce č. 553/2007 Z.z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o požiadavkách na prevádzku zdravotníckych zariadení z hľadiska ochrany zdravia (viz příloha č. 5) (115). Tato

vyhláška uvádí kromě limitů prachových částic i limity mikrobiální kontaminace, kterými se EN ISO 14644-1 již nezabývá. Pro operační sály klasifikované jako tkáňová zařízení (kde dochází k odběru orgánů/ tkáně) lze využít *Vyhlášky č. 422/2008 Sb. o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka*, v návaznosti na požadavky na čisté prostory stanoveny v pokynu VYR-32 a na technickou normu EN ISO 14644-1 (132, 68, 65). Obdobně tato metodika byla využita i ve Francii při monitorování vnitřního ovzduší tkáňových zařízení v Montpellieru, jak ve své studii poukazuje Louart (2019) (133). V monitoringu kvality vnitřního ovzduší aseptických sálů se využívá limitů GMP (na které odkazuje VYR-32 společně s *Vyhláškou č. 84/2008 Sb.*), pro třídu čistoty B (ekvivalent třídy čistoty ISO 5) a C (ekvivalent třídy čistoty ISO 7) (68, 66). Stejnou klasifikaci tříd čistoty uvádí ve své práci i Rubina (2019) (89).

Bez včasných odhalení nežádoucích nálezů v čistých prostorech, by nebylo možné provést následná organizační a technologická opatření, která vedou k optimalizaci kvality ovzduší vnitřních prostor. Velký význam u monitoringu je připisován už jeho přípravě a začátku, kdy pracovník provádí důkladnou rekognoskaci prostor, zmapuje technické, prostorové a organizační možnosti pracoviště a na základě relevantních nálezů predikuje možná rizika a možnosti jejich odstranění. Ideální je však na realizaci epidemických opatření myslet již při tvorbě nových projektů a zodpovědně přistupovat k přípravě projektové dokumentace, která obsahuje VZT systémy pro obsluhu čistého prostoru řazeného do patřičné třídy čistoty a následně pokračovat preventivní kontrolou skrze periodický monitoring, který umožní prostřednictvím doporučených postupů odhalit procesní a technologické nedostatky (89). Abychom docílili bezpečného prostředí pro výrobu léčivých přípravků a pro zdraví pacienta na operačním sále a zabránili tak vzniku a šíření HAI, je bezesporu důležité respektovat rovněž bariérová opatření.

Lze konstatovat, že samotný monitoring čistoty prostředí představený v této studii významně přispěl ke zvýšení kvality ovzduší v čistých prostorech a na operačních sálech, což je prokázáno samotnými výsledky provedených měření a laboratorních hodnocení, které byly dosaženy pomocí náležitých a účinných nápravných opatření.

V rámci zlepšování monitoringu ovzduší nejen u zdravotnických zařízení terciárního typu, doporučuji vytvoření individuálních monitorovacích pracovních postupů. Tyto postupy by sloužily jako podklad pro správné provádění monitoringu, a to včetně cílené edukace zdravotnického personálu o nutnosti dodržování protiepidemického režimu v čistých prostorech.

ZÁVĚR

Monitoring čistoty vnitřního prostředí by měl být v každém zdravotnickém zařízení nezbytnou součástí prevence vzniku a šíření infekcí spojených se zdravotní péčí. Výsledky práce vycházejí z periodicky prováděného monitoringu a objektivně prokazují potřebu jeho provádění k zajištění aseptického prostředí čistých prostorů. Shrnutí zkušeností z šestiletého monitoringu ovzduší ve zdravotnickém zařízení poskytujícím terciární zdravotní péči a demonstrace konkrétních odhalených nedostatků, včetně jejich řešení vedoucích k zabezpečení potřebné kvality ovzduší, může posloužit při zavádění i zefektivňování monitoringu ovzduší čistých prostorů a operačních sálů v jiných (zdravotnických) zařízeních. Předkládaná studie by mohla být užitečná zejména z toho důvodu, že výzkumných prací týkajících se této problematiky není v literatuře dostupných příliš mnoho.

Za zvážení by stála implementace maximálních přípustných limitů pro mikrobiální kontaminaci a počet prachových částic ve vznosu pro čisté prostory do české legislativy zabývající se předcházením vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienickými požadavky na provoz zdravotnických zařízení.

SEZNAM ZKRATEK

ACH	air changes per hour (výměnách vzduchu za hodinu)
AHEM	Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica
CAR	Centrum asistované reprodukce
CMP	chloramfenikol
COS	Centrální operační sály
ČR	Česká republika
ČSN	Česká technická norma
EU	Evropská unie
EU GMP	Good Manufacturing Practice European Union)
HAI	Healthcare-Associated Infections (infekce spojená se zdravotní péčí)
HEPA	High Efficiency Particulate Air filter (vysoce efektivní filtr vzduchových částic)
HK	Královehradecký kraj
HOK	Hemato-onkologická klinika
EN ISO	European and International Organization for Standardization (Evropská a Mezinárodní organizace pro standardizaci)
JHM	Jihomoravský kraj
PNM	Pracoviště nukleární medicíny
KRINKO	Komise pro nemocniční hygienu a prevenci infekcí – Institut Roberta Kocha
KTJ	kolonie tvořící jednotky
MIKRO	Ústav mikrobiologie
OK	Olomoucký kraj
OOPP	ochranné osobní pracovní pomůcky
OS	operační sál
PC	osobní počítač
Sb.	sbírka zákonů
SOP	Standardní operační postup
spp.	species (druh)
SSI	Surgical Site Infection (infekce v místě chirurgického výkonu)
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
SVP	správní výrobní praxe
TO	Transfuzní oddělení
ULPA	Ultra Low Penetration Air (absolutní filtr vzduchových částic)
VZT	vzduchotechnika
ZZTT	zdravotnické zařízení terciárního typu

SEZNAM LITERATURY

- (1) Caorsi, P. B., Sakurada, Z. A., Ulloa, F. M. T., Pezzani, V. M. and Latorre, O. P. Bacteriological quality of air in a ward for sterile pharmaceutical preparations. *Rev. Chil. Infect.* 2011; 28(1): 14-18.
- (2) Andersen, B. M., Solheim, N. Occlusive scrub suits in operating theaters during cataract surgery: Effect on airborne contamination. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2002; 23(4), s. 218–220.
- (3) Montagna, M. T., Rutigliano, S., Trerotoli, P., Napoli, C., Apollonio, F., D'Amico, A., De Giglio, O., Diella, G., Lopuzzo, M., Marzella, A., Mascipinto, S., Pousis, C., Albertini, R., Pasquarella, C., D'Alessandro, D., Serio, G., Caggiano, G. Evaluation of Air Contamination in Orthopaedic Operating Theatres in Hospitals in Southern Italy: The IMPACT Project. *Int. J. Environ Res. Public Health* 2019; 16(19): 1–2.
- (4) Mora, M., Mahnert, A., Koskinen, K., Pausan, M. R., Oberauner-Wappis, L., Krause, R., Perras, A., K., Gorkiewicz, G., Berg, G., Moissl-Eichinger, CH. Microorganisms in Confined Habitats: Microbial Monitoring and Control of Intensive Care Units, Operating Rooms, Cleanrooms and the International Space Station. *Front. Microbiol.* 2016; 7(1573): 2–7.
- (5) Cristina, M. L., Sartini, M., Schinca, E., Ottria, G., Spagnolo, A. M. Operating room environment and surgical site infections in arthroplasty procedures. *J. Prev. Med. Hyg.* 2016; 57(3): 142–148.
- (6) Spagnolo, A. M., Ottria, G., Amicizia, D., Perdelli, F., Cristina, M. L. Operating theatre quality and prevention of surgical site infections. *J. Prev. Med. Hyg.* 2013; 54(3): 131-137.
- (7) Vonci, N., De Marco, M. F., Grasso, A., Spataro, G., Cevenini, G., Messina, G. Association between air changes and airborne microbialcontamination in operating rooms. *J. Infect. Public Health* 2019; 12(6): 827–830.
- (8) Jackson, C. and Wilson, D. World at work: Hospital pharmacy clean-rooms. *Occup. Environ. Med.* 2006; 63(1): 68-70.
- (9) Sartini, M., Spagnolo, A. M., Panatto, D., Perdelli, F., Cristina, M. L. Improving environmental quality in an operating room: clinical outcomes and economic implications. *J. Prev. Med. Hyg.* 2013; 54(2): 75–79.
- (10) Jindrák, V., Hedlová, D., Urbášková, P. a kol., 2014. Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici. Praha: Mladá fronta, Aeskulap. ISBN 978-80-204-2815-8

- (11) Zákon č. 258/2000 Sb. Zákon o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů [online]. MZČR. [cit. 2020-11-30] Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-258>
- (12) www.bode-science-center.com – stránky vzdělávacího programu Bode Science Center.
- (13) Maďar, R., Podstatová, R., Řehořová, J. 2006. Prevence nozokomiálních nákaz v klinické praxi. Praha: Grada Publishing. ISBN 80-247-1673-9
- (14) Beneš, J. 2009. Infekční lékařství. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-644-1
- (15) Kollárová, H., Matoušková, I., Horáková, D., Vlčková, J., Azeem K., Holý, O., 2017. Vybrané kapitoly z epidemiologie. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-5230-2
- (16) Unahalekhaka, A. “Epidemiology of health care-associated infections,” in *IFIC Basic Concepts of Infection Control* eds Friedman C., Newsom W. (Portadown: International Federation of Infection Control). 2011; 27–40.
- (17) Sandle, T., Leavy, C., Jindal, H., Rhodes, R. Application of rapid microbiological methods for the risk assessment of controlled biopharmaceutical environments. *J. Appl. Microbiol.* 2014; 116(6): 1495-1505.
- (18) Tringe, S. G., Hugenholtz, P. A renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 11: 442–446.
- (19) Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J.* 2012; 6: 1621–1624.
- (20) Salgado, C. D., Sepkowitz, K. A., John, J. F., Cantey, J. R., Attaway, H. H., Freeman, K. D., et al. Copper surfaces reduce the rate of healthcare-acquired infections in the intensive care unit. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2013; 34: 479–486.
- (21) Agodi, A., Barchitta, M., Cipresso, R., Giaquinta, L., Romeo, M. A., Denaro, C. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. *Intensive Care Med.* 2007; 33: 1155–1161.
- (22) Weber, D. J., Rutala, W. A., Miller, M. B., Huslage, K., Sickbert-Bennett, E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care associated pathogens: norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *Am. J. Infect. Control.* 2010; 38: 25–33.
- (23) Marchi, M., Pan, A., Gagliotti, C., Morsillo, F., Parenti, M., Resi, D., Moro, M. L., Sorveglianza Nazionale Infezioni in Chirurgia (SNICH) Study Group The Italian national surgical site infection surveillance programme and its positive impact, 2009 to 2011. *Euro Surveill.* 2014; 19(21): 20815.

- (24) World Health Organization. Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection. The WHO Guidelines Development Group; Geneva, Switzerland: 2016.
- (25) Birgand, G., Toupet, G., Rukly, S., Antoniotti, G., Deschamps, M. N., Lepelletier, D., et al. Air contamination for predicting wound contamination in clean surgery: a large multicenter study. *Am. J. Infect. Control.* 2015; 43(5): 516–21.
- (26) Cristina, M. L., Spagnolo, A. M., Sartini, M., Panatto, D., Gasparini, R., Orlando, P., Ottria, G., Perdelli, F. Can Particulate Air Sampling Predict Microbial Load in Operating Theatres for Arthroplasty? *PLoS One.* 2012; 7(12): e52809.
- (27) Knobben, B., Van Horn, J., Van der Mei, H., Busscher, H. Evaluation of measures to decrease intra-operative bacterial contamination in orthopaedic implant surgery. *J. Hosp. Infect.* 2006; 62(2): 174–180.
- (28) Humphreys, H., Preventing surgical site infection. Where now? *J. Hosp. Infect.* 2009; 73(4): 316–322.
- (29) Scaltriti, S., Cencetti, S., Rovesti, S., Marchesi, I., Bargellini, A., Borella, P. Risk factors for particulate and microbial contamination of air in operating theatres. *J. Hosp. Infect.* 2007; 66(4): 320–326.
- (30) Wan, G. H., Chung, F. F., Tang C. S. Long-term surveillance of air quality in medical center operating rooms. *Am. J. Infect. Control.* 2011; 39(4): 302–308.
- (31) Hee, H. I., Lee, S., Chia, S. N., Lu, Q. S., Liew, A. P. Q., Ng, A. Bacterial contamination of surgical scrub suits worn outside the operating theatre: a randomised crossover study. *Anaesthesia* 2014; 69(8): 816–825.
- (32) Venkatesan, A., Kansal, S., Patel, S. S., Akulwar, S. K. The role of hand hygiene and mobile phones in transmitting hospital acquired infection. *Int. J. Biomed. Adv. Res.* 2015; 6(05): 435–437.
- (33) Anderson, D. J., Sexton, D. J., Kanafani, Z. A., Auten, G., Kaye, K. S. Severe surgical site infection in community hospitals: epidemiology, key procedures, and the changing prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2007; 28(9): 1047–1053.
- (34) Shin, H., Pei, Z., Martinez, K. A., Rivera-Vinas, J. I., Mendez, K., Cavallin, H., et al. The first microbial environment of infants born by C-section: the operating room microbes. *Microbiome* 2015; 3: 59.
- (35) Genet, C., Kibru, G., Tsegaye, W. Indoor air bacterial load and antibiotic susceptibility pattern of isolates in operating rooms and surgical wards at Jimma University specialized hospital, Southwest Ethiopia. *Ethiop. J. Health Sci.* 2011; 21(1): 9–18.

- (36) Al Laham, N. A. Prevalence of bacterial contamination in general operating theaters in selected hospitals in the Gaza Strip, Palestine. *J. Infect. Public Health* 2012; 5(1): 43–51.
- (37) Verde, S. C., Almeida, S. M., Matos, J., Guerreiro, D., Meneses, M., Faria, T., et al. Microbiological assessment of indoor air quality at different hospital sites. *Res. Microbiol.* 2015; 166(7): 557–563.
- (38) Wolcott, R. D., Gontcharova, V., Sun, Y., Zischakau, A., Dowd, S. E. Bacterial diversity in surgical site infections: not just aerobic cocci any more. *J. Wound Care* 2009; 18(8): 317–323.
- (39) Fedor, L. 2018. Hygiena rukou ve zdravotnickém zařízení. Brno. NCONZO
- (40) Whyte, W. 2010. Cleanroom Technology: Fundamentals of Design, Testing and Operation. 2nd Edn West Sussex: John Wiley & Sons, Ltd.
- (41) Hürtürk, Ş., 2000. Clean Room Design and Project Design by Applying to an Operating Room. Master Thesis. Istanbul: Yıldız Technical University.
- (42) Mirhoseini, S. H., Nikaeen, M., Khanahmad, H., Hatamzadeh, M., Hassanzadeh, A. Monitoring of airborne bacteria and aerosols in different wards of hospitals – Particle counting usefulness in investigation of airborne bacteria. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 2015; 22(4): 670–673.
- (43) Öztürk, N., Ecemiş, T. Airborne Hospital Infections and Hospital Ventilation Systems, *Sağlıkta Birikim Dergisi* 2007; 1(4): 77-89.
- (44) Mäkinen, M. A Practical Approach to GMP Cleanrooms and Cleanroom HVAC. Proceedings at 49th R3Nordic Symposium, 2018 May 22-23; Naantali, Finland. Turku: R3Nordic, Turku University of Applied Sciences 2018. 29-35.
- (45) Semmelweis, I. The etiology, concept, and prophylaxis of childbed fever, in *The Challenge of Epidemiology. Issues and Selected Readings* eds Buck C., Llopis A., Najera E., Terris M. (Washington, DC: World Health Organization) 1998; 46–59.
- (46) Whitfield, W. 1964. Ultra-clean room. US 3158457 A.
- (47) Whyte, W. 2001. Cleanroom Technology-Fundamentals of Design. Testing, and Operation. West Sussex: Johnson Wiley & Sons.
- (48) Turkish Standard, TS 11605 EN ISO 14644-1, Clean Rooms and Environments Controlled Together in These Rooms, Part 1 - Classification of Air Cleanliness Turkish Standards Institute, Ankara, May 2001.
- (49) Mallick, T. K., Mosquera, A., Zinderman, C. E., St Martin, L., Wise, R. P., Reported infections after human tissue transplantation before and after new Food and Drug

- Administration (FDA) regulations, United States, 2001 through June, 2010. *Cell and tissue banking* 2012; 13(2): 259–267.
- (50) Rapport annuel de l'agence de biomedecine. www.biomedecine.fr. 2015. [cit. 2023-03-11] Dostupné z: <http://www.biomedecine.fr/>
- (51) Koordinační středisko transplantaci. 2022. [cit. 2020-11-30] Dostupné z: <https://kst.cz/wp-content/uploads/2023/01/Transplantacni-aktivita-v-CR-od-roku2026-2022.pdf>
- (52) (EDQM). ECootEDftQoMaH. Guide to the quality and safety of tissue and cells for human application. www.edqm.eu. 2015. [cit. 2022-11-30] Dostupné z: <https://www.edqm.eu/en/>
- (53) Germain, M., Strong, D. M., Dowling, G., Mohr, J., Duong, A., Garibaldi, A., et al. Disinfection of human cardiac valve allografts in tissue banking: systematic review report. *Cell and tissue banking* 2016; 17(4): 593–601.
- (54) Builles, N., Perraud, M., Reverdy, M. E., Burillon, C., Crova, P., Brun, F., et al. Reducing contamination when removing and storing corneas: a multidisciplinary, transversal, and environmental approach. *Cornea*. 2006; 25(2): 185–92.
- (55) Brandt, C., Hott, U., Sohr, D., Daschner, F., Gastmeier, P., Ruden, H. Operating room ventilation with laminar airflow shows no protective effect on the surgical site infection rate in orthopedic and abdominal surgery. *Ann. Surg.* 2008; 248(5): 695–700.
- (56) Birgand, G., Toupet, G., Rukly, S., Antoniotti, G., Deschamps, M. N., Lepelletier, D., et al. Air contamination for predicting wound contamination in clean surgery: a large multicenter study. *Am. J. Infect Control.* 2015; 43(5): 516–21.
- (57) Külpmann, R., Christiansen, B., Kramer, A., Lüderitz, P., Pitten, F. A., Wille, F., et al. Hygiene guideline for the planning, installation, and operation of ventilation and air-conditioning systems in health-care settings—Guideline of the German Society for Hospital Hygiene (DGKH). *GMS Hyg. Infect. Control.* 2016; 11: Doc03.
- (58) Harsoor, S., Bhaskar, S. B. Designing an ideal operating room complex. *Indian J. Anaesth.* 2007; 51(3): 193–199.
- (59) Miller-Leiden, S., Lobascio, C., Nazaroff, W. W., Macher, J. M. Effectiveness of in-room air filtration and dilution ventilation for tuberculosis infection control. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 1996; 46(9): 869–882.
- (60) Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* Guidelines for preventing the transmission of Mycobacterium tuberculosis in health-care facilities. 2005; 54(17): 1–141.

- (61) Dharan, S., Pittet, D. Environmental controls in operating theatres. *J. Hosp. Infect.* 2002; 51(2): 79–84.
- (62) Sehulster, L., Chinn, R. Y. W., Arduino, M. J., Carpenter, J., Donlan, R., Ashford, D., et al. Guidelines for environmental infection control in health-care facilities. Recommendations of CDC and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Recomm. Rep.* 2003; 52(RR-10): 1–42.
- (63) Lives S. S. S. *WHO Guidelines for Safe Surgery 2009*. Geneva: World Health Organization.
- (64) Eudralex. The rules governing medicinal products in the European Union, Volume 4 EU Guidelines to good manufacturing practice medicinal products for human and veterinary use. Annex 1 Manufacture of sterile medicinal products, European Commission, Brussels, Belgium, 2009.
- (65) EN ISO 14644-1:1999. Cleanrooms and associated controlled environments – Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration.
- (66) Vyhláška č. 84/2008 Sb. ze dne 11. března 2008 o správné lékárenské praxi, bližších podmínkách zacházení s léčivými v lékárnách, zdravotnických zařízeních a u dalších provozovatelů a zařízení vydávajících léčivé přípravky. V: Sběrka zákonů České republiky. Praha: Ministerstvo zdravotnictví, 2008, částka 25: 1104-1126. ISSN 1211-244.
- (67) Kmínek, G., Rummel, J. D. COSPAR's planetary protection policy. *Space Res. Today*. 2015; 193: 7–19.
- (68) Státní ústav pro kontrolu léčiv, Pokyny pro správnou výrobní praxi – Doplněk 1, výroba sterilních léčivých přípravků, VYR-32, [online] 2009. Dostupné z [www: https://www.sukl.cz/leciva/vyr-32-doplverze1?highlightWords=vyr+p%C5%99%C3%ADprava6](https://www.sukl.cz/leciva/vyr-32-doplverze1?highlightWords=vyr+p%C5%99%C3%ADprava6).
- (69) Státní ústav pro kontrolu léčiv. Příprava sterilních léčivých přípravků v lékárně a zdravotnických zařízeních, LEK-17, [online] 2016. Dostupné z [www: https://www.sukl.cz/lekarny/lek-17?highlightWords=lek](https://www.sukl.cz/lekarny/lek-17?highlightWords=lek).
- (70) EN ISO 14644-2:2000. Cleanrooms and associated controlled environments - Part 2: Specifications for testing and monitoring to prove continued compliance with ISO 14644-1.
- (71) Tršan M, Seme K and Srčič S. The environmental monitoring in hospital pharmacy cleanroom and microbiota catalogue preparation. *Saudi. Pharm. J.* 2019; 27(4): 455-62

- (72) Standardní operační postupy pro vyšetřování mikroorganismů v ovzduší a pro hodnocení mikrobiologického znečištění ovzduší ve vnitřním ovzduší. *J. SZU*, 2002, 1. SSN 0862-5956.
- (73) Gormley, T., Markel, T. A., Jones 3rd, H. W., Wagner, J., Greeley, D., Clarke, J. H., et al. Methodology for analyzing environmental quality indicators in a dynamic operating room environment. *Am. J. Infect. Control.* 2017; 45(4): 354–359.
- (74) Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro DIIdL. Linee Guida sugli standard di Sicurezza e di igiene del Lavoro nel Reparto Operatorio; 2009.
- (75) ANSI/ASHRAE/ASHE. Standard 170-2013 ventilation of health care facilities: 2013.
- (76) Pasquarella, C., Pitzurra, O., Savino, A. The index of microbial air contamination. *J. Hosp. Infect.* 2000; 46(4): 241–256.
- (77) Gupta, C., Vanathi, M., Tandon, R. Current concepts in operative room sterilisation. *Official Sci. J. Delhi Ophthalmol. Soc.* 2015; 25: 190–194.
- (78) Landrin, A., Bissery, A., Kac, G. Monitoring air sampling in operating theatres: can particle counting replace microbiological sampling? *J. Hosp. Infect.* 2005; 61(1): 27–29.
- (79) Chauveaux, D. Preventing surgical-site infections: measures other than antibiotics. *Orthop. Traumatol. Surg. Res.* 2015; 101(1 Suppl.): 77–S83.
- (80) Kröling, P. 1985. *Gesundheits-und Befindungsstörungen in klimatisierten Gebäuden*. München: W. Zuckschwerdt Verlag.
- (81) Kappstein, I. 2001. *Literaturübersicht über die Bedeutung der Luft als Erregerreservoir für postoperative Infektionen im OP-Gebiet*.
- (82) Charnley, J., Eftekhar, N. Postoperative infection in total prosthetic replacement arthroplasty of the hip-joint. With special reference to the bacterial content of the air of the operating room. *Br. J. Surg.* 1969; 56(9): 641–649.
- (83) Popp, W., Alefelder, CH., Bauer, S., Daeschlein, G., Geistberger, P., et al. Air quality in the operating room: Surgical site infections, HVAC systems and discipline – position paper of the German Society of Hospital Hygiene (DGKH). *GMS Hyg. Infect. Control.* 2019; 14: Doc20.
- (84) Lidwell, O. M., Elson, R. A., Lowbury, E. J., Whyte, W., Blowers, R., Stanley, S. J., Lowe, D. Ultraclean air and antibiotics for prevention of postoperative infection. A multicenter study of 8,052 joint replacement operations. *Acta Orthop Scand.* 1987; 58(1): 4–13.

- (85) VUT Brno, Zásadní vliv na bezpečnost pacientů v nemocnici má kvalita výstavby i chování personálu, 2015 [cit. 2020-02-25]. Dostupné z: <https://vetrani.tzb-info.cz/20279-zasadni-vliv-na-bezpecnost-pacientu-v-nemocnici-ma-kvalita-vystavby-i-chovani-personalu>
- (86) Miller-Leiden, S., Lobascio, C., Nazaroff, W.W., Macher, J. M. Effectiveness of in-room air filtration and dilution ventilation for tuberculosis infection control. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 1996; 46(9): 869–882.
- (87) Marier, R. L., Nelson, T. A ventilation-filtration unit for respiratory isolation. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1993; 14(12): 700–705.
- (88) Zhonglin, X. Characteristics of Air Filters. *Fundamentals of Air Cleaning Technology and Its Application in Cleanrooms* 2013: 185–265.
- (89) Rubina, A. *Metodika postupu realizace VZT v čistých prostorách* [online]. Brno: Ústav TZB, 2019 [cit. 2021-08-09]. Dostupné z: https://www.tzb-info.cz/reklama/rubina-metodika_n/2/. ISSN 1801-4399.
- (90) Rutala, W. A., Jones, S. M., Worthington, J. M., Reist, P. C., Weber, D. J. Efficacy of portable filtration units in reducing aerosolized particles in the size range of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1995; 16(7): 391-398.
- (91) ECRI. The resurgence of Tuberculosis-from old problem to new menace. *Health Devices* 1995; 24(10): 368-369
- (92) KRINKO. Kommentar der KRINKO zur DIN 1946-4 (2008). *Epidem. Bul.* 2010; (4).
- (93) Pittet, D., Duce, G. Infectious risk factors related to operating rooms. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 1994; 15(7): 456–462.
- (94) Boyce, J. M., Pittet, D., Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the healthcare infection control practices advisory committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA hand hygiene task force. *MMWR Recomm. Rep.* 2002; 51:1e45.
- (95) Guilhermetti, M., Marques Wiirzler, L. A., Castanheira Facio, B., da Silva Furlan, M., Campo Meschial, W., Bronharo Tognim, M. C., et al. Antimicrobial efficacy of alcohol-based hand gels. *J. Hosp. Infect.* 2010; 74: 219e24.
- (96) Fedor, L. Compliance hygieny rukou s využitím optimalizovaných postupů. *Urol. Praxi* 2017; 18(4): 184–186.
- (97) Brady, R. R., Verran, J., Damani, N. N., Gibb, A. P. Review of mobile communication devices as potential reservoirs of nosocomial pathogens. *J. Hosp. Infect.* 2009; 71(4): 295-300.

- (98) Walia, S.S., Manchanda, A., Narang, R. S., Singh, B., Kahlon, S. S. Cellular telephone as reservoir of bacterial contamination: myth or fact. *J. Clin. Diagn. Res.* 2014; 8(1): 50-3.
- (99) Brady, R. R., Hunt, A. C., Visvanathan, A., et al. Mobile phone technology and hospitalized patients: a cross-sectional surveillance study of bacterial colonization, and patient opinions and behaviours. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17(6): 830-835.
- (100) Goldblatt, J. G., Krief, I., Klonsky, T., et al. Use of cellular telephones and transmission of pathogens by medical staff in New York and Israel. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2007; 28(4): 500-3.
- (101) Haun, N., Hooper-Lane, C., Safdar, N. Healthcare personnel attire and devices as fomites: a systematic review. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2016; 37(11): 1367-73.
- (102) Nirupa, S., Vignesh, R. N. B., Jeya, M. Can mobile phones act as vehicles transmitting nosocomial infections? *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2013; 4(1): 859-64.
- (103) Brady, R.R., McDermott, C., Fraise, A. P., Verran, J., Gibb, A. P. Healthcare workers mobile phones are rarely contaminated by MRSA in the non-clinical environment. *J. Hosp. Infect.* 2009; 72(4): 373-4.
- (104) Datta, P., Rani, H., Chander, J., Gupta, V. Bacterial contamination of mobile phones of health care workers. *Indian. J. Med. Microbiol.* 2009; 27(3): 279-81.
- (105) Akinyemi, K. O., Atapu, A. D., Adetona, O. O., Coker, A. O. The potential role of mobile phones in the spread of bacterial infections. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2009; 3(8): 628-32.
- (106) Brady, R. R., Wasson, A., Stirling, I., McAllister, C., Damani, N. N. Is your phone bugged? The incidence of bacteria known to cause nosocomial infection on healthcare workers mobile phones. *J. Hosp. Infect.* 2006; 62(1): 123-5.
- (107) Owers, K. L., James, E., Bannister, G. C. Source of bacterial shedding in laminar flow theatres. *J. Hosp. Infect.* 2004; 58(3): 230–232.
- (108) Friberg, B., Friberg. S., Ostensson, R., Burman, L. G. Surgical area contamination-comparable bacterial counts using disposable head and mask and helmet aspirator system, but dramatic increase upon omission of head-gear: an experimental study in horizontal laminar air-flow. *J. Hosp. Infect.* 2001; 47(2):110–115.
- (109) Markel, T. A., Gormley, T., Greeley, D., Ostojic, J., Wise, A., Rajala, J., Bharadwaj, R., Wagner, J. Hats Off: A Study of Different Operating Room Headgear Assessed by Environmental Quality Indicators. *J Am Coll Surg.* 2017; 225(5): 573–581.

- (110) Rubina, A., Blasinski, P. Analýza vnitřního mikroklima čistých prostorů, čistota zařízení vzduchotechniky. Vybrané statě ze vzduchotechniky. [internet]. Brno: VUT; 2021 [cit. 2022-11-30]. Dostupné z: <https://www.tzb-info.cz/>.
- (111) Hu, S-C., Shiue, A. Validation and application of the personnel factor for the garment used in cleanrooms. *Data in Brief* 2016; 6: 750-757.
- (112) Státní ústav pro kontrolu léčiv, Pokyny pro správnou výrobní praxi léčivých přípravků pro moderní terapie – VYR-43 [online] 2018. Dostupné z: <https://www.sukl.cz/leciva/vyr-43?highlightWords=vyr-43>.
- (113) EN ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
- (114) Fedor, L., Kohoutová, J. Monitoring čistých prostor v praxi. Práce prezentovaná na: XXVI. Mezinárodní konference Nemocniční epidemiologie a hygiena; duben 16-17, 2019; Brno, Česká republika. Dostupné z: https://www.sneh.cz/_texty/konf_2019_2_3.pdf
- (115) Vyhláška č. 06/2003 Sb. ze dne 16. prosince 2002, kterou se stanoví hygienické limity chemických, fyzikálních a biologických ukazatelů pro vnitřní prostředí pobytových místností některých staveb. V: Sbírka zákonů České republiky. Praha: Ministerstvo zdravotnictví 2002, částka 4.
- (116) Vyhláška č. 553/2007 Z. z., ktorou sa ustanovujú podrobnosti o požiadavkách na prevádzku zdravotníckych zariadení z hľadiska ochrany zdravia. Zbierka zákonov Slovenskej republiky č. 553/2007, čiastka 231.
- (117) Bonetta, S., Bonetta, S., Mosso, S., Sampò, S., Carraro, E. Assessment of microbiological indoor air quality in an Italian office building equipped with an HVAC system. *Environ. Monit. Assess.* 2010; 161(1-4): 473-483.
- (118) Matoušková, I., Holý, O. Bacterial contamination of the indoor air in a transplant unit. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 2013; 62(4):153-159.
- (119) Manhert, A., Vaishampayan, P., Probst, A. J., Auerbach, A., Moissl-Eichinger, C., Venkateswaran, K., Berg, G. Cleanroom maintenance significantly reduces abundance but not diversity of indoor microbiomes. *PLoS One* 2015; 10(8), e0134848.
- (120) Matoušková, I., Holý, O. Monitoring of the Environment at the Transplant Unit-Hemato-Oncology Clinic. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014, 11(9), 9480-9490.
- (121) Jun, K. E., Hamzah, N. A., Anua, S. M. Indoor air quality and symptoms of sick building syndrome in two selected building (new versus old). *J. Occupational Safety Health* 2017; 14(2), 7-14.

- (122) Sasahara, T., Ae, R., Watanabe, M., Kimura, Y., Yonekawa, Ch., Hayashi, S., Morisawa, Y. Contamination of healthcare workers' hands with bacterial spores. *J. Infect. Chemother.* 2016; 22(8): 521–525.
- (123) Zenbaba, D., Sahiledengle, B., Beressa, G., Desta, F., Teferu, Z., et al. Bacterial contamination of Healthcare workers' mobile phones in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Medrxiv.* 2022. [cit. 2023-03-20] Dostupné z: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.05.27.22275700v1#p-5>
- (124) Macedo, J. I., Kubota, T. H., Matsumoto, L. S., Giordani, A. T., Takayanagui, A. M.M., Mendes, A. A., et al. Air quality in a hospital environment. *Safety and Security Engineering* 2013; 134: 737–747.
- (125) Beldi, G., Bisch-Knaden, S., Banz, V., Mühlemann, K., Candinas, D. Impact of intraoperative behavior on surgical site infections. *Am J Surg.* 2009; 198(2): 157–162.
- (126) Bhattacharya, A., Ghahramani, A., Mousavi, E. The effect of door opening on air-mixing in a positively pressurized room: Implications for operating room air management during the COVID outbreak. *J. Build. Eng.* 2021; 44(102900): 1–9.
- (127) Lee, S., Park, B., Kurabuchi, T. Numerical evaluation of influence of door opening on interzonal air exchange. *Build. Environ.* 2016; 102: 230–242.
- (128) Mousavi, E. S., Grosskopf, K. R. Airflow patterns due to door motion and pressurization in hospital isolation rooms. *Sci. Technol. Built Environ.* 2016; 22(4): 379–384.
- (129) Lynch, R. J., Englesbe, M. J., Sturm, L., Bitar, A., Budhiraj, K., Kolla, S., Polyachenko, Y., Duck, M. G., Campbell, D. A. Jr. Measurement of foot traffic in the operating room: implications for infection control. *Am. J. Med. Qual.* 2009; 24(1): 45–52.
- (130) Mousavi, E. S., Jafarifiroozabadi, R., Bayramzadeh, S., Joseph, A., San, D. An observational study of door motion in operating rooms. *Build. Environ.* 2018; 144: 502–507.
- (131) Parikh, S. N., Grice, S. S., Schnell, B. M., Salisbury, S. R. Operating room traffic: is there any role of monitoring it? *J. Pediatr. Orthoped.* 2010; 30(6): 617–623.
- (132) Vyhláška č. 422/2008 Sb. o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka. Sbírnka zákonu České republiky, částka 138.
- (133) Louart, B., Charles, C., Nguyen, T. L., Builles, N., Roger, C., Lefrant, J. Y., Vachiere-Lahaye, F., De Vos, J., Couderc, G., Muller, L. Microbial contamination and tissue procurement location: A conventional operating room is not mandatory. An observational study. *PloS One* 2019; 14: 2–4.

PUBLIKACE AUTORA SOUVISEJÍCÍ S DISERTAČNÍ PRACÍ

Články

Fedor, L. Compliance hygieny rukou s využitím optimalizovaných postupů. *Urol. Praxi* 2017; 18(4): 184–186.

Fedor, L., Holý, O., Nakládalová, M., Matoušková, I., Štěpánek, L. Monitoring vnitřního ovzduší operačních sálů v praxi. *Pracovní lékařství* 2021; 73(3-4): 61–65.

Fedor, L., Nakládalová, M., Štěpánek, L., Holý, O., Matoušková, I. Effectiveness of anti-epidemic measures on ensuring indoor air quality of cleanrooms. *Cent. Eur. J. Public Health* 2022; 30(2): 74–78.

Abstrakt ve sborníku

Fedor, L., Kohoutová, J. Monitoring čistých prostor v praxi. XXVI. Mezinárodní konference NEMOCNIČNÍ EPIDEMIOLOGIE A HYGIENA 2019. 16.-17. 4. 2019. Brno. Sborník abstraktů dostupný z: https://www.sneh.cz/_texty/konf_2019_2_3.pdf

Fedor, L. Monitoring čistých prostor, teorie a praxe. Kongres Klinické Mikrobiologie, Infekčních nemocí a Epidemiologie 2019. 14.-16. 11. 2019. Olomouc. ISBN 978-80-907517-6-7

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přežívání mikroorganismů na živých a neživých plochách	18
Tabulka 2: Maximálně přípustný počet částic dle Vyhlášky o správné lékárenské praxi	25
Tabulka 3: Harmonogram testování	26
Tabulka 4: Příklady činností prováděných v různých třídách čistoty	26
Tabulka 5: Doporučené limity pro mikrobiologickou kontaminaci čistých prostor ve stavu "za provozu" ..	27
Tabulka 6: Stanovení doby měření pro laserový čítač částic o průtoku 28,3 l/min	40
Tabulka 7: Klasifikace pro jednotlivé třídy čistoty vzduchu podle počtu částic	40
Tabulka 8: Doporučené limity pro mikrobiologickou kontaminaci čistých prostor ve stavu „za provozu“ ..	41
Tabulka 9: Třídy čistoty pro různé typy operačních sálů	43
Tabulka 10: Stanovení doby měření pro třídy čistoty dle Vyhlášky č. 84/2008 Sb.	44
Tabulka 11: Stanovení doby měření pro třídy čistoty dle EN ISO 14644-1	45
Tabulka 12: Třídy čistoty dle EN ISO 14644-1	46
Tabulka 13: Přehled počtu částic ve vznosu v jednotlivých letec v čistých prostorech.....	50
Tabulka 14: Přehled počtu částic na Pracovišti nukleární medicíny	51
Tabulka 15: Přehled počtu částic ve vznosu v jednotlivých letec na odběrových operačních sálech.....	52
Tabulka 16: Výsledky všech provedených kultivací v čistých prostorech	53
Tabulka 17: Přehled výskytu mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty A v roce 2014	54
Tabulka 18: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty A v roce 2015	54
Tabulka 19: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty A v roce 2016 a 2018	57
Tabulka 20: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty C v roce 2014 a 2015	57
Tabulka 21: Výskyt mikrobiální flóry v prostoru třídy čistoty D v roce 2015	58
Tabulka 22: Charakter mikrobiální kontaminace v prostorech třídy čistoty C a D	59
Tabulka 23: Výsledky kultivačních vyšetření v čistých prostorech.....	61
Tabulka 24: Přehled výskytu mikrobiální flóry ve třídě čistoty B v jednotlivých letech (2014-2019)	61
Tabulka 25: Výsledky mikrobiologického vyšetření v jednotlivých ZZ	64
Tabulka 26: Výsledky počtu částic ve vznosu u jednotlivých ZZ (UCL 95 %)	66
Tabulka 27: Výsledky před a po provedení opatření na Pracovišti nukleární medicíny	68
Tabulka 28: Výsledky opatření v embryologické laboratoři CAR.....	69
Tabulka 29: Výsledky měření prachových částic v ovzduší před a po provedených opatřeních.....	70
Tabulka 30: Pozitivní nálezy v prostoru operačního pole za jednotlivá období	71

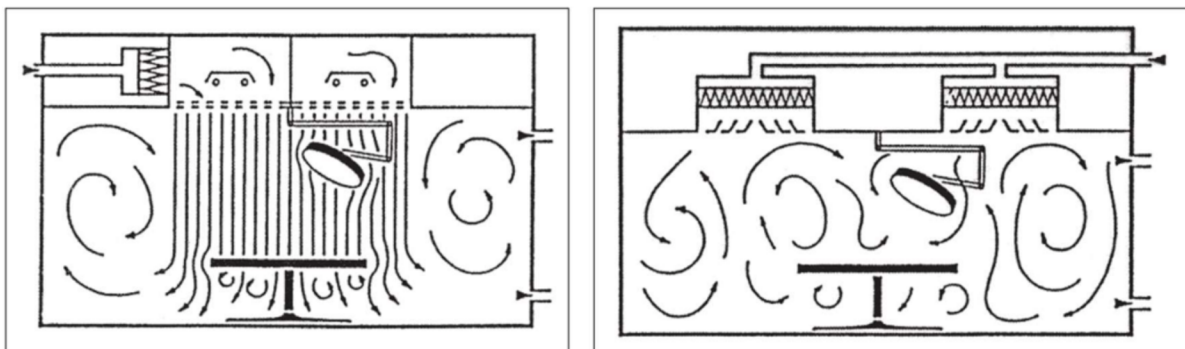
SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schématické znázornění proudění vzduchu v čistém prostoru	20
Obrázek 2: Celkový počet částic ve vznosu ve všech vzorcích.....	51
Obrázek 3: Celkový počet částic ve vznosu ve všech vzorcích.....	52
Obrázek 4: Celkový počet KTJ u třídy čistoty A v letech 2014–2019	55
Obrázek 5: Počty KTJ na PNM v letech 2014–2019	55
Obrázek 6: Počty KTJ na HOK v letech 2014–2019	56
Obrázek 7: Počty KTJ na CAR v letech 2015–2019	56
Obrázek 8: Celkový počet KTJ u třídy čistoty C v letech 2014–2019	58
Obrázek 9: Počty KTJ ve třídě čistoty A v letech 2014-2019	59
Obrázek 10: Počty KTJ ve třídě čistoty C v letech 2014-2019	60
Obrázek 11: Počty KTJ ve třídě čistoty D v letech 2014-2019	60
Obrázek 12: Celkový počet KTJ u třídy čistoty B v letech 2014–2019	62
Obrázek 13: Počty KTJ ve třídě čistoty B v letech 2014–2019.....	62
Obrázek 14: Počty KTJ ve třídě čistoty C v letech 2014–2019.....	63
Obrázek 15: Počet mikroorganismů KTJ/m ³ na aseptickém operačním sále u jednotlivých ZZ	65
Obrázek 16: Počet mikroorganismů KTJ/m ³ na superseptickém operačním sále u jednotlivých ZZ.....	65
Obrázek 17: Celkový počet částic ve všech vzorcích pro třídu čistoty B ve sledovaném období.....	70

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1:	95
Příloha č. 2:	96
Příloha č. 3:	97
Příloha č. 4:	98
Příloha č. 5:	99

Příloha č. 1: Příklad laminárního (vlevo) a turbulentního (vpravo) proudění nad operačním stolem



Příloha č. 2: Čítač prachových částic APC SmartTouch



Příloha č. 3: Aeroskop Airsampler MAS-100 ECO



Příloha č. 4: Fellerova statistická konverzní tabulka

Positive hole conversion table MAS-100 Perforated lid 400 x 0.7

r = Number of colony forming units counted on target plate Pr = Statistically most probable number of CFUs

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

Příloha č. 5: Nejvyšší přípustné koncentrace prachových částic a mikrobiologických faktorů v čistých prostorách zařízení

Příloha č. 1
k vyhlášce č. 553/2007 Z. z.

NAJVYŠŠIE PRÍPUSTNÉ KONCENTRÁCIE PRACHOVÝCH ČASTÍČ A MIKROBIOLOGICKÝCH FAKTOROV V ČISTÝCH PRIESTOROCH ZARIADENIA

Trieda čistoty	Najvyššie prípustné koncentrácie				Zariadenie priestorov podľa nárokov na čistotu	Poznámka
	Prachové častice/m ³		Nepatog. životaschopné mikroorganizmy	Patogénne mikroorganizmy		
	> 0,5 μm	> 5 μm	KTJ/m ³	KTJ/m ³		<p>Trieda čistoty je určená dekadickým logaritmom najvyššie prípustného počtu prachových častíc s veľkosťou od 0,5 μm v 1 m³ vzduchu.</p> <p>Počty častíc sa merajú v priestoroch mimo času prevádzky najskôr 15 až 20 minút po skončení činnosti. Počas prevádzky môžu byť namerané hodnoty o 1 triedu nižšie ako mimo času prevádzky.</p> <p>Neuvedené priestory sa zaraďujú do tried čistoty primerane podľa náročnosti úkonu z hľadiska čistoty prostredia.</p>
M 3,5	3530	0	< 1	< 1	<p>Superseptická operačná sála pre transplantácie vrátane sálových dvojčiat: neurochirurgické, kostné a popáleninové operácie, vnútroočné operácie, operácie srdca a veľkých ciev v mieste operačného poľa, sterilná posttransplantačná jednotka intenzívnej starostlivosti (JIS), sterilný box pre osoby s chorobou z ožlarenia a popáleninová jednotka.</p>	
M 4,5	35300	247	5	< 1	<p>Okolie operačných stolov superseptickej operačnej sály, operačná sála pre aseptické a septické výkony v mieste operačného poľa, priestory na manipuláciu so sterilnými zdravotníckymi pomôckami.</p>	

M 5,5	353000	2470	100	< 1	Zázemie priestorov tried čistoty M 3,5 a M 4,5: aseptická a septická operačná sála vrátane sály určenej pre laparoskopické a artroskopické zákroky, pôrodná a sekčná sála, čistá strana a sklad sterilných zdravotníckych pomôcok centrálnej sterilizácie, lôžková sála oddelenia anestéziológie a intenzívnej medicíny, JIS pacientov so závažným oslabením imunity a patologických novorodencov, angiografická vyšetrovňa s použitím intravaskulárnych katétrov a sond.	
M 6,5	3530000	24700	500	< 1	Zázemie operačnej sály triedy čistoty M 5,5: pooperačná izba, novorodenecká jednotka, aplikácie a odbery v nukleárnej medicíne, endoskopická vyšetrovňa, zákroková miestnosť pre malé a povrchové chirurgické výkony, ktoré nie sú spojené s otváraním telesných dutín.	