

MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE RESPIRAČNÍCH OKRUHŮ

KAREL LEHMERT

*Státní úřad pro jadernou bezpečnost, Senovážné nám. 9,
110 00 Praha 1
karel.lehmert@sujb.cz*

Došlo 23.12.08, přepracováno 28.4.09, přijato 15.10.09.

Klíčová slova: dýchací přístroje, bezpečnost práce

Úvod

Důležitou součástí ochrany před účinky škodlivých látek jsou osobní ochranné prostředky. Mikrobiální kontaminací respiračních okruhů se odborné práce zabývají jen okrajově, nejčastěji z pohledu humánní medicíny v souvislosti s podpůrnou plicní ventilací. Úkolem této práce bylo navrhnout filtrační metodu účinnou v různých technických typech respiračních okruhů s minimálními náklady a bez velkých konstrukčních zásahů do funkčního celku. Zpracováním literatury bylo zjištěno, že nebyly publikovány odborné práce řešící podobnou tematiku jako celek.

Osobní ochrana pracovníků před účinky chemických látek či biologických agens a toxinů je v principu bariérová. Pomocí ochranného přetlakového oděvu je pracovník chráněn před vniknutím kontaminantů na kůži, sliznice i do dýchacích cest. Přetlak zároveň zabraňuje kontaminaci technologickými netěsnostmi či drobnými defekty materiálu. Tlakový plyn se zároveň používá i jako dýchací médium.

Používané respirační systémy

Zdrojů přetlaku může být několik – používají se individuální filtroventilační jednotky s bateriovým napájením, hadicové připojení ke vzdálenému zásobníku (obdoba systému „nargilé“) či nesená zásoba média v tlakové láhvi (SCBA – self contained breathing apparatus). Všechny systémy mají společnou jednu slabinu – různě dlouhé a členité vedení tlakového dýchacího média. Bateriové filtroventilační jednotky mají rozvody relativně nejméně komplikované.

Systém „nargilé“

Laboratorní podoba systému „nargilé“ se skládá z kompresoru tlakujícího dýchací médium do stacionárního zásobníku, odkud je středotlakou soustavou rozvedeno do koncových přípojek, na které se přes tlakové hadice připojuje ochranný oblek nebo maska. Kontaminaci vnitřního prostředí přes středotlakou spojku zabraňuje integrovaný HEPA filtr. Ten však řeší pouze bariérovou ochranu před průnikem kontaminovaného dýchacího média do vnitřního prostoru.

Nezávislý dýchací přístroj (SCBA)

Systém je předchozímu systému velice podobný. Při použití otevřeného okruhu (open circuit – OC) stacionární vysokotlaký kompresor naplní nezávislou tlakovou láhev dýchacím médiem a ta je na místo určení nesená uživatelem. Zásoba plynu je konečná, rovnající se objemu tlakové láhve. Po připojení I. redukčního stupně je dýchací médium dále vedeno středotlakým rozvodem do II. stupně. Zde se středotlak redukuje na tlak okolního prostředí a je již přímo veden do celoobličejové masky, náustku nebo jiného zařízení umožňujícího přímé dýchání. Vydechutý plyn je odveden do okolní atmosféry soustavou jednosměrných výdechových ventilů. Oproti předchozímu systému SCBA umožňuje větší mobilitu pracovníka za cenu omezení nesenou zásobou dýchacího média

Polouzavřený systém nebo uzavřený systém

Oběma je společné větší využití dýchacího média díky částečné (semi-closed circuit – SCC) nebo úplné (closed circuit – CC) recyklaci plynu přes pohlcovače CO₂ s obohacením o kyslík nebo směs nitroox (enriched air nitrox – EANx). Tyto systémy umožňují výrazně snížit kapacitu nesených tlakových láhví při mnohonásobně vyšším operačním čase díky lepšímu využití dýchacího média.

Dýchací média

Nejstarším a stále nejobvyklejším používaným dýchacím médiem je vzduch. V posledních 20 letech se však stále častěji uplatňuje obohacený vzduch, obohacený o kyslík – směs dusíku a kyslíku. Procento kyslíku ve směsi udává číslo v názvu směsi, tedy EAN 21 je vzduch. Nejčastěji používanější jsou tzv. „nitroxy“ do 40 % kyslíku ve směsi nevyžadující speciální technické úpravy a přitom výrazně snižující únavu pracovníků při pobytu v kontrolovaném prostředí.

Experimentální část

Cíl výzkumu

Cílem výzkumu bylo hodnocení bakteriální kontaminace celého systému zásobování tlakovým dýchacím médiem. Podnětem byla řada onemocnění dlouhodobých

uživatelů systémů a snaha zabránit dalším škodám na zdraví. V návaznosti na výsledky tohoto výzkumu je řešen i technický postup zaručující nižší pravděpodobnost onemocnění uživatelů dýchacích systémů.

Metoda výzkumu

Základní metodou vzorkování se staly stěry z exponovaných povrchů ochranných oděvů. K zajištění různorodosti vzorků byly použity stěry z různých částí dýchacího okruhu, aby bylo možné určit nejkritičtější bod celého systému. Výzkum byl v první fázi zaměřen na zjištění bakteriální kolonizace základních součástí dýchacích okruhů. Vzhledem k tomu, že pracovníci se v laboratorních oblecích střídají, je důležité znát míru interpersonálního přenosu patogenních mikroorganismů mezi jednotlivými uživateli. Na základě tohoto zjištění byla doporučena opatření k pravidelné očištění klíčových prvků systému. V dalších fázích budou tato doporučení vyhodnocena a experimentálně ověřeny způsoby omezení kontaminace dýchacích cest uživatelů.

Zdroje vzorků

Výstroj pro potápěče

Jednou z velkých skupin uživatelů dýchacích přístrojů jsou potápěči. Proto byla vybrána pro testování skupina náhodných kusů výstroje z veřejné půjčovny, kde se udržba sestává z opláchnutí proudící vodou, a jako kontrolní skupiny shodné osobní výstroje kvalifikovaných technických potápěčů, u nichž je kladen důraz na perfektní údržbu, často doplněnou i nějakou formou běžně dostupné dezinfekce.

Laboratorní prostředky osobní ochrany

Zde se vzorkovaly jednotlivé zásobníky stlačeného dýchacího média, koncovky středotlakých rozvodů, vstup dýchacího média do ochranných přetlakových oděvů, vyústění vývodů dýchacího média v hlavové části ochranných oděvů a licnice ochranných polomasek.

Metodika odběru stěrů

Nejdůležitějším hlediskem při volbě vzorkovaných povrchů u potápěčské výstroje byla podobnost s laboratorními prostředky osobní ochrany. Proto bylo nejvíce stěrů (19) odebráno z vnitřních stěn tlakových láhví a ventilů. Stěry byly odebrány z obou druhů materiálů používaných na tlakové láhve (slitiny oceli a hliníku) i z uzavíracích ventilů. Byly testovány jak dlouhodobě používaná zařízení, tak čerstvě vyčištěné aparáty při pravidelném tlakovém testu, lišil se i obsah kyslíku (21–100 %) u skladovaného média.

Odběr vzorků

Technickým problémem se stalo provedení stěrů ze dna tlakové láhve, neboť standardní odběrová sada neměla dostatečnou délku. Proto byly použity vatové tampóny na

nosiči příslušné délky, separátně sterilizované v autoklávu a sterilně zabalené. Po provedení stěru byl tampón sterilně oddělen a uložen do odběrové transportní soupravy.

Další sledovanou částí dýchacích okruhů byly samotné rozvody dýchacího média – redukční ventily používané v atmosféře o stejném rozsahu kyslíkové frakce jako tlakové láhve. U II. stupňů redukčních ventilů byly pořízeny stěry z vnitřního prostoru ústenky sloužící k přímému dýchání (3 vzorky).

Kromě dýchaného plynu je pro organismus významné i vnitřní prostředí ochranného obleku, kterým je neprodyšně izolován od okolí.

Důležitým sledovaným prvkem se stala kolonizace uzavřených přetlakových prostor se stálým pohybem atmosféry během používání, spojená s předpokládanou kontaminací ze zásobníku tlakového média s občasnou inspirací vydechovaného vzduchu přímo z plic uživatele. Tyto kompenzační vztahové vaky (kompenzátory) měly simulovat podmínky v přetlakovém obleku, který je mimo použití skladován uzavřený. Kompenzátory jsou, podobně jako obleky, vyrobeny z omyvatelných pružných materiálů. Pro odběr 16 vzorků byl zvolen povrch vaků v různých místech tvarového tělesa (část kondenzační i trvale oplachované kondenzátem) a ploché těsnění přetlakového ventilu.

Pouze jako doplňkové měření byly sejmuty i dva vzorky z přetlakového obleku (vniřek integrovaných botiček a plocha přetlakového výpustního ventilu). K plnění obleku byla používána směs argonu a oxidu uhličitého v poměru 3 : 1 pro zvýšení tepelného komfortu.

Stěry z dýchacích přístrojů

Poslední důležitou skupinou vzorků (7) byly stěry z přístrojů s uzavřeným okruhem (CC) či polouzavřeným okruhem (SC). V těchto přístrojích koluje neustále jedna náplň plynu, ředěná pouze kyslíkem, popř. i diluentem – v našem případě heliem. Při recyklaci dýchacího média přes pohlčovač (hydroxid sodný) se plyn v dýchací smyčce chemickou reakcí ohřívá a zvlhčuje. To opět simuluje podmínky uzavřeného ochranného oděvu. Tyto dýchací přístroje jsou zároveň svými uživateli z bezpečnostních důvodů po každém použití dezinfikovány podle doporučení výrobce. Vzhledem k ceně přístroje se podařilo vzorkovat tři zařízení – jedno používané na čistý kyslík, dvě na heliair – směs vzduchu a hélia. Ke vzorkování byly určeny dýchací vaky (kyslíkový a héliový), vřapové dýchací hadice a nádechový/výdechový ventil.

Kultivace

K odběru vzorků byly použity odběrové transportní soupravy pro bakteriologické vyšetření dle Amiens (Dispolab, ČR). Tato univerzální transportní půda zaručuje přežití odebraných mikroorganismů po dobu nejméně 48 h. Součástí je i aktivní uhlí k odstranění nespecifických inhibičních látek. Po dobu dopravy do laboratoře byly transportní soupravy uchovávány v termoboxech při teplotě 8 °C. Odebrané vzorky byly kultivovány na Columbia

Agar (Oxoid, UK) s 5 % beraní krve a McConkey Agar (Oxoid, UK). Inkubace probíhala v termostatu v aerobním a mikroaerofilním prostředí při teplotách 20 °C a 36 °C pro rozlišení mesofilních a psychofilních bakterií. Rozdílné teploty byly použity pro rozlišení kontaminace dýchacího média a vzorkovaných povrchů bakteriemi pocházejícími od pracovníků nebo z prostředí.

Po uplynutí inkubační doby (24–48 h) byly kultury posouzeny a v případě nárůstu byla provedena subkultivace na půdě Columbia Agar s 5 % ovčí krve. Jednotlivé kolonie byly posouzeny z hlediska morfologie, biochemické aktivity (katalasa, oxidasa) a následovalo barvení podle Gramma. Na základě těchto dílčích výsledků byly provedeny další biochemické testy pro identifikaci kmenů (Staphytest, Nefermtest, Enterotest – Pliva-Lachema, ČR).

Výsledky experimentu

Bylo zjištěno, že rezervní laboratorní zásobníky stlačeného plynu spolu se středotlakými rozvody vykazují nízkou bakteriální kontaminaci, oproti běžné provozní tlakové láhvi. V ní se objevily bakterie *Flavobacterium* sp. i *Bacillus* sp. Izolace *Bacillus* sp. ukazuje na možnou kontaminaci zeminou. V závislosti na vzdálenosti od obličeje vykazovaly vnitřní části laboratorního přetlakového oděvu a ochranných masek rozdílnou úroveň kontaminace mesofilními bakteriemi. V místech kontaktu s lidskou kůží se objevuje *Micrococcus* sp. Závažný je nález *Staphylococcus* sp. a *Pseudomonas* sp. v obličejových partiích, což může potenciálně způsobit závažné zdravotní potíže.

Diferenciace výsledků je jednoznačně dána různou úrovní intenzity užívání, což také bylo jedním z účelů experimentu. Zjištění, že i dosud nepoužívaný laboratorní systém je kolonizován patogenními mikroorganismy, je varující. Kromě určení typických kontaminantů byla prokázána i lokalizace patogenních zón v používané sestavě. Další práce se proto zaměřila již jen na dekontaminaci dýchacího plynu, neboť mikroorganismy vyskytující se v obleku nejsou z hlediska patogenity tak významné.

Diskuse

Umístění filtrů

Zásadní problém tkví v kontaminaci vnitřních prostor přetlakových dýchacích rozvodů, částečně způsobenou neopatrnou manipulací při montáži (viz případ *Bacillus* sp.), hlavně však špatnou technologickou úpravou dýchacího média. Je zřejmé, že běžné filtry (aktivní uhlí, případně molekulární síto) instalované na výstupu kompresoru problém bakteriální kontaminace nevyřeší.

Jako velmi těžko řešitelné se jeví udržení nádrže na tlakové dýchací médium ve stavu dostatečné vnitřní čistoty. Ideálním řešením by tedy byl filtr umístěný na vstupu dýchacího média do rozvodu, neboť udržet jej v čistotě je

technicky proveditelnější. Vhodným místem je I. redukční stupeň z vysokého tlaku na tlak střední, poskytující dostatek konstrukčního prostoru pro podobné řešení. V již používaných redukčních ventilech je před vstup do pracovního prostoru ventilu předsažen sintrový filtr, jehož úpravou by bylo možné řešit podstatu problému.

Nanotextilní filtry

V současnosti zkoušené nanotextilní filtry jsou založené na pouhé mechanické filtraci. Již samotný princip nanotextilie brání průchodu větším kontaminantům, jako jsou bakterie nebo plísně. Dosud však není řešen problém zanesení filtrační vložky, neboť se zatím předpokládá jen krátkodobé nárazové použití ukončené likvidací filtru. Při použití v laboratořích je však zatížení filtru mnohem větší, navíc je nutné zabránit přežití zachycených patogenů ve struktuře filtru. Tyto požadavky je možné řešit přidáváním kovových iontů zaručujících abiotické vlastnosti celé textilie.

Dezinfekce kovovými ionty

Tato metoda je známou praxí, stříbrné stolní náčiní se používalo již od starověku k základnímu udržení bezinfekčnosti. Měďnaté ionty (Cu^{2+}) jsou elektrostaticky přitahovány k negativně nabitým povrchovým strukturám bakterií, hub a virů. Kromě vlastního toxického působení umožní vstup iontům stříbra (Ag^+) způsobujícím u buněk, hub či virů různá organická selhání omezující schopnost rozmnožování, dýchání atd.

Účinné filtrace je tedy dosaženo spojením abiotických vlastností kovových iontů a mechanické filtrace při výrobě nanovláknů s příměsí kovů a následným vytvarováním. Při použití nanotextilie vhodné velikosti se směsí aktivní stříbrné a měďné složky dojde i k filtraci virů.

Závěr

Při používání osobních ochranných pomůcek by měla být zvýšená hygiena samozřejmostí. V případě střídání mezi více pracovníky je nutností operativní přečištění během střídání a generální dezinfekci po ukončení práce. Není možné stanovit přesné dezinfekční prostředky, neboť vždy záleží na materiálu dezinfikovaného výrobku. Ale obecně lze doporučit některé povrch nedegradující přípravky určené pro dezinfekci medicínálního inventáře.

Pro zamezení kontaminace dýchací soustavy s potenciálním vznikem následné infekce se jeví jako nejvhodnější použití filtračního mezistupně vsazeného před I. redukčním stupněm. Z konstrukčního hlediska je ideální zakomponování mikrobiálního filtru do prostoru běžného sintrového filtru. Při použití nanotextilie s obsahem aktivních složek mědi a stříbra je možné dosáhnout vysoké účinnosti proti mechanické kontaminaci (voda, olej, prachové částice) i biologickým kontaminantům (bakterie, plísně a částečně i viry). I z ekonomického hlediska je navržené řešení

schůdné, protože nevyžaduje zásadní změny systému, ale pouze výměnu jistých součástí. Výměnu pak zvládne technik certifikovaný výrobcem příslušného zařízení.

K. Lehmert (*State Office for Nuclear Safety, Prague*): **Reduction of Microbial Contamination of Respiration Circuits under Hazardous Working Conditions**

Laboratory respirators are equipped with a set of filters for cleaning the breathing gas. Current filters are mechanical, which are based on the particle/pore size ratio. No abiotic substance avoiding pore obstruction with microbes when the particles are retained in filter is present. A multilayer nanofabric with Ag and Cu ions guarantees fast elimination of microbes trapped in filter thus allowing perfect and reliable filtration. The nanofabric can be tailor-made to fit in most filters independently of the breathing gas used.