

Dekontaminace zasahujících složek při kontaminaci vysoce rizikovými biologickými agens

Rybka A.¹, Gavel A.², Pražák P.³, Meloun J.⁴, Pejchal J.⁵

¹Vojenský zdravotní ústav, Agentura vojenského zdravotnictví Armády České republiky, Praha

²Institut ochrany obyvatelstva, Hasičský záchranný sbor České republiky, Praha

³Katedra informatiky a kvantitativních metod, Fakulta informatiky a managementu, Univerzita obrany, Hradec Králové

⁴Zdravotní ústav se sídlem v Ústí nad Labem

⁵Katedra toxikologie a vojenské farmacie, Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany, Hradec Králové

SOUHRN

Dekontaminace je jedním z klíčových procesů snižujících riziko šíření vysoce rizikových biologických patogenů, mezi které řadíme i mikroorganismy ze skupiny vysoce nakažlivých nemocí. Zatímco dekontaminace objektů a povrchů obvykle nevyžaduje urgentní řešení, dekontaminace personálu používajícího osobní ochranné prostředky je prováděna bezprostředně po skončení činnosti v nebezpečné zóně. Účinnost tohoto procesu, pro který je vyhrazený relativně krátký časový úsek, závisí zejména na množství mikroorganismu, bezprostřední dezinfekci spojené s následným mechanickým očištěním kontaminovaného místa, druhu dezinfekčního přípravku, jeho koncentraci, spektru účinku, délce expozice, vnějších podmínkách (teplota, pH, vlhkost, biologická

i nebiologická zátěž), technických prostředcích, druhu dekontaminovaného povrchu (zejména pórovitost) i s ohledem na materiálovou kompatibilitu a v neposlední řadě na zkušenostech osoby, která dekontaminaci provádí nebo podstupuje. Experimentální testy za použití vhodného biologického simulantu jsou nezbytné k identifikaci vlivů výše uvedených faktorů. Po nalezení optimálního způsobu dekontaminace by měl následovat praktický výcvik všech složek a jeho zavedení do výcvikového programu.

KLÍČOVÁ SLOVA

biologické agens – dekontaminace – spory – antrax – osobní ochranné prostředky – ohnisko nákazy – CBRN

ABSTRACT

Rybka A., Gavel A., Pražák P., Meloun J., Pejchal J.: **Decontamination of CBRN units contaminated by highly contagious biological agents**

A decontamination process plays a key role in management of biological incidents. While decontamination of surfaces and buildings located in the hot zone can be usually postponed until an agent is confirmed and an adequate planning phase is established, personnel wearing personal protective equipment must be decontaminated prior to their final exit from the hot zone. Because CBRN units require the shortest possible duration of this procedure, many factors must be considered, including concentration of biological agents, precleaning, disinfectant

formulae, its concentration and spectrum of efficacy, contact time, external conditions (temperature, pH, relative humidity, soil load), technical assets used for decontamination, decontaminated surface (compatibility, pores), and staff performance. Experimental tests with surrogates of biological agents are thus necessary to identify above-mentioned points. Once an optimal decontamination procedure is recognized, a field rehearsal must follow and the method using a surrogate must be implemented into a training process of CBRN units.

KEYWORDS

biological agents – decontamination – spores – anthrax – personal protective equipment – hot zone – CBRN

Epidemiol. Mikrobiol. Imunol., 68, 2019, č. 1, s. 40–45

ÚVOD

Mimořádné události nebo epidemie spojené s výskytem vysoce rizikových biologických patogenů kladou velmi vysoké nároky na všechny složky, které se podílí na jejich likvidaci. Jedním z klíčových procesů snižujících riziko šíření těchto biologických agens (B-agens) a možnost nákazy osob je správné provedení dekontaminace zasahujícího personálu, který používá adekvátní osobní ochranné prostředky (OOP). Dekontaminace B-agens se týká nejen složek integrovaného záchranného systému (IZS), ale i personálu laboratoří a zdravotnických zařízení vyhrazených pro práci s vysoce rizikovými B-agens. Pro účely tohoto textu se B-agens rozumí heterogenní skupi-

na vysoce rizikových mikroorganismů, do které spadají i patogeny řazené mezi vysoce nakažlivé nemoci. Existuje několik definic dekontaminace. Pro účely tohoto textu je dekontaminace chápána jako proces, při němž dochází k odstranění a/nebo inaktivaci etiologických agens z materiálů, kapalin, prostor, popř. prostředí. Mezi základní dekontaminační postupy se řadí mechanická očista, dezinfekce a sterilizace. Mechanickou očišťovnou se rozumí soubor mechanických postupů, které snižují a odstraňují zejména viditelné anorganické a organické nečistoty a biofilm z ploch a materiálů. Dezinfekce je soubor opatření vedoucí k zneškodnění mikroorganismů pomocí fyzikálních, chemických, fyzikálně-chemických nebo biologických (mezidruhový parazitismus mikroorgani-

smů) postupů, jež mají přerušit cestu nákazy od zdroje k vnímavé osobě. Sterilizací se nazývá proces, který vede k usmrcení všech mikroorganismů schopných rozmnožování, včetně jejich spor, vede k nezvratné inaktivaci virů a usmrcení zdravotně významných červů a jejich vajíček. Sterilizace uplatňuje pouze fyzikální, chemické a kombinované fyzikálně-chemické postupy [1].

Účinnost procesu dekontaminace závisí zejména na množství B-agens, bezprostřední dezinfekci a následném mechanickém očištění kontaminovaného místa, druhu dezinfekčního přípravku, jeho koncentraci, spektru účinku, délce expozice, vnějších podmínkách (teplota, pH, vlhkost, biologická i nebiologická zátěž), technických prostředcích, druhu dekontaminovaného povrchu (zejména pórovitost) i s ohledem na materiálovou kompatibilitu a v neposlední řadě i na zkušenostech osoby, která dekontaminaci provádí nebo podstupuje [2-4]. Výběr dezinfekčního přípravku a způsob jeho použití probíhá na základě doporučení výrobce, jež se opírá o laboratorní testy provedené v rámci uvádění přípravku na komerční trh. Laboratorní podmínky nemusí postihnout variabilitu reálného prostředí a aplikací ovlivňujících výsledný efekt (např. lidský faktor při nanášení roztoku, aktivní přístup dekontaminovaného, teplota okolního prostředí). Ideálním způsobem zhodnocení účinnosti dezinfekčního přípravku pro reálné prostředí by bylo testování, podobně jako v případě klinických studií při vývoji nových léků. Přestože je zavedení těchto metod do rutinního testování dezinfekčních přípravků nepraktické, v případě B-agens je ověření způsobu jejich dekontaminace v praxi více než žádoucí i s vědomím částečně limitované reprodukovatelnosti výsledků [3].

SPEKTRUM, KONCENTRACE, SLOŽENÍ A EXPOZIČNÍ DOBA DEZINFEKČNÍCH PŘÍPRAVKŮ

V současné době na trhu existuje celá řada dezinfekčních přípravků s různým použitím v odlišných odvětvích (např. potravinářství, zemědělství, zdravotnictví). Oblast a způsob aplikace přípravku uvádí výrobce v návodu na etiketě, v příbalové informaci nebo v bezpečnostním listu. Dekontaminaci zasahujícího personálu v OOP lze přirovnat k tzv. dezinfekci velkých ploch a povrchů ve zdravotnictví, přičemž průměrná velikost plochy ochranného oděvu při započítání záhybů činí cca 2,5-3 m² (např. orientační výpočet vycházející z výšky a hmotnosti osoby). Při výběru dezinfekčního přípravku je rozhodující jeho spektrum účinnosti. Rozlišuje se působení statické, které znamená dočasnou ztrátu schopnosti množení nebo pokles růstové aktivity (bakteriostatické, fungistatické a sporistatické), a působení cidní, při němž dochází k trvalému usmrcení (baktericidní - A, virucidní - B, sporicidní - C, tuberkulocidní - T, mycobaktericidní - M, fungicidní - V) [1]. Při výskytu vysoce rizikových biologických patogenů budou vždy použity biocidní přípravky, např. pro usmrcení spor *Bacillus anthracis* jsou klíčové dezinfekční přípravky se sporicidním účinkem.

Mezi nejběžněji používané látky s dezinfekčním účinkem patří přípravky s oxidačními schopnostmi, např. peroxosloučeniny I. a II. generace, peroxid vodíku nebo chlorové preparáty [5, 6]. Koncentrace účinných látek v připraveném dezinfekčním přípravku obvykle dosa-

huje jednotek procenta [1]. Faktorem vstupujícím do výsledného účinku může být i celkové složení výrobku. Dva různé komerční produkty se stejnou účinnou látkou mohou vykazovat v praktických testech odlišné účinky, např. z důvodu rozdílných přídavných látek. Obdobně je vhodné vnímat kompatibilitu dezinfekčních přípravků a mycích a čistících prostředků. Zbytky čistících prostředků, které ulpí na povrchu, mohou negativně interferovat s dezinfekčním přípravkem během závěrečného úklidu kontaminovaného prostoru (např. anionické detergenty s dezinfekčními přípravky na bázi kvarterních amoniových solí) [3].

Další rozhodujícím kritériem pro zasahující složky je expoziční doba (kontaktní čas). Tato doba by měla být co nejkratší při současném zachování požadovaného účinku [7]. Důvodem tohoto požadavku je limitace použití OOP, zejména s ohledem na omezenou zásobu vzduchu v tlakových lahvích, které zasahující složky používají. Zasahující složky budou preferovat dekontaminační metody, jejichž celková doba nepřesáhne 5 minut. Zkrácení expozičního času a rozšíření spektra účinku může být podle některých autorů dosaženo zvýšením koncentrace dezinfekčního přípravku. Tuto premisu však nelze aplikovat univerzálně. Nevýhodou použití vysokých koncentrací dezinfekčních látek může být např. poškozování dekontaminovaného materiálu a s tím související nárůst finančních nákladů. Je proto potřeba laboratorních i experimentálních testů k prokázání ideálního vztahu mezi těmito veličinami s ohledem na další faktory (např. dekontaminovaný materiál, organickou/anorganickou zátěž [viz dále]), které mohou ovlivnit výsledný efekt [4].

VLIV PROSTŘEDÍ

Při experimentálním testování účinnosti dekontaminace B-agens nelze opomíjet hodnocení vlivu prostředí. Snížení účinku dezinfekčního přípravku může dojít mj. při změně teploty, pH, vlhkosti, přítomnosti organické/anorganické (inhibiční) zátěže (viz dále) nebo tvrdostí vody používané k ředění.

Při používání dezinfekčních přípravků je nutné postupovat podle doporučení výrobce, který stanoví aplikační teplotní rozmezí. Obecně platí, že dezinfekční přípravky jsou neúčinnější při pokojové teplotě [3, 4]. Na druhou stranu bylo prokázáno, že v případě chloranů v kombinaci s nízkou organickou zátěží lze dosáhnout srovnatelných výsledků i při teplotě 4 °C [8]. V předpisech HZS ČR je povoleno používat peroxyoctovou kyselinu a dvou-složkový přípravek Hvězda (složka A tvoří alkalizovaná směs tenzidů, složka B peroxid vodíku) od teploty 0 °C [6]. Výrobce rovněž doporučuje ideální pH roztoku připraveného k použití. Vyšším zásaditějším pH lze dosáhnout antimikrobiálního účinku v případě glutaraldehydu nebo přípravku Hvězda, chlorové preparáty naopak svůj efekt ztrácejí [1, 9].

Relativní vlhkost vzduchu ovlivňuje dezinfekční účinek negativním i pozitivním způsobem. Při zaslhlém kontaminantu vyšší relativní vlhkost vzduchu pomáhá rehydratovat povrch, čímž usnadní průnik aktivní látky. Nízká relativní vlhkost vzduchu naopak urychlí zasychání dezinfekčního přípravku a tím zkrátí expoziční dobu nutnou ke zničení cílového mikroorganismu [3].

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

Organická/anorganická zátěž představuje směs organických a/nebo anorganických látek, které mohou přímo inhibovat aktivní složku dezinfekčního přípravku nebo zabránit jejímu průniku k cílovému agens [3]. Technická norma ČSN EN 13 704 doporučuje za účelem hodnocení sporicidního účinku chemických dezinfekčních přípravků použití 0,3 g/l hovězího albuminu za čistých podmínek, někteří autoři používají koncentraci i vyšší (3 g/l hovězího albuminu) [10]. V zahraniční literatuře lze dohledat pro imitaci lehké organické zátěže 5% sérum nebo trojsložkový roztok tryptonu, hovězího albuminu a mucinu [8, 11]. Použití simulantů zaschlé krve nebo jiných výmětů není podporováno z důvodu požadavku na bezprostřední dezinfekci a následné provedení mechanické očisty při potřísnění OOP [3]. Zatímco účinek některých dezinfekčních přípravků je prudce snižován v přítomnosti organických látek (např. chlornany, chloraminy) [1], u peroctové kyseliny je jejich vliv minimální [9, 11, 12]. V případě chlornanových preparátů lze však vhodnou kombinací s jinými látkami dosáhnout adekvátního výsledku, jak ukázala práce s relativně novým, dvousložkovým přípravkem PTSPCH-J, který obsahuje ve složce A N-metyl-2-pyrrolidon tri-n-butylfosfát a tenzid a ve složce B 0,64 mol/dm³ chlornanu sodného [9]. Při laboratorním testování dezinfekčních přípravků se pro jejich ředění ve většině případů používá destilovaná voda. Při zásahu složek IZS při výskytu B-agens není tento druh vody k dispozici, proto by ředění dezinfekčního přípravku k ověření účinnosti dekontaminace v praxi mělo být prováděno s běžně dostupnou kohoutkovou vodou. Někteří autoři doručují jako výchozí hodnotu tvrdosti vody 400 ppm CaCO₃, podle technické normy ČSN EN 13 704 je doporučena tvrdost vody pod 300 ppm CaCO₃ [3].

VLIV TECHNICKÝCH PROSTŘEDKŮ

Způsob nanášení dezinfekčního přípravku a s ním spojený objem roztoku patří mezi další klíčové faktory ovlivňující efektivnost prováděné dekontaminace. Dekontaminace zasahujících v OOP je prováděna nanášením dezinfekčního roztoku pomocí aplikačních (postřikovač, sprcha) nebo mechanických prostředků (kartáč). Pro jednotky požární ochrany HZS ČR je v případě použití sprchy doporučený objem 0,5 l/m², v případě mechanického prostředku se jedná o objem minimálně 1 l/m² [6]. Dekontaminační stany obsahující sprchy se v množství nanášeného roztoku liší v závislosti na tlaku čerpadla, počtu hlavice a trysek, jejich velikosti apod. Některé trysky umožňují průtok 0,8-1,1 l/min, v jiném případě se udává celkový sprchovací objem až 120 l/min (např. stan ES-56LDK, Dekonta). Podobné údaje lze nalézt i v zahraničních zdrojích, ve kterých je průměrný objem dekontaminačního roztoku velkoobjemových dekontaminačních stanů odhadnut na cca 100 l/min [13]. Nevýhodou těchto stanů se sprchou je velká spotřeba vody a dekontaminačního přípravku a s tím související veliký objem odpadu, který je nutné odborně zlikvidovat. Podobně i v BSL-4 laboratořích se celkové množství odpadní tekutiny pohybuje v rozmezí 45-228 l/cykus [14]. Z těchto důvodů někteří autoři doporučují použití speciálních trysek generujících jemný aerosol o velikosti částic 20 µm. Při použití osmi trysek o průměru výstupního otvoru 0,3 mm a tlaku 90 barů bylo dosaženo průtoku 0,55 l/min

v trysce a kompletního pokrytí všech částí figuríny lidského těla. Souhrnný průtok činil 4,4 l/min, což je více než dostačující při potřebě roztoku 0,5 l/m² podle Řádu chemické služby HZS ČR [13]. V té samé studii bylo navíc prokázáno, že při použití jemného aerosolu bylo zachyceno až 50 % nanášené vody na povrchu figuríny. V případě vysokoprůtokových sprch se toto číslo pohybuje okolo 2 % (hodnoceno na figuríně bez nesmáčivého povrchu). Dalším negativním faktorem je vyšší pravděpodobnost aerosolizace kontaminantu [15]. Dekontaminaci aerosolem podporuje i studie, která porovnávala efekt dekontaminace s ohledem na vzdálenost od trysky. Umístění vzorků materiálu oděvu s nanesenými spory cca 15 cm od trysky nevedlo k významnější redukci mikrobiální zátěže v porovnání s dekontaminací figuranta v celotělovém oděvu, jenž stál ve větší vzdálenosti od sprchových hlavice [14].

Další variantou jsou tzv. jednotryskové (bodové) aplikační prostředky podobné zahradním postřikovačům, které mohou být poháněny tlakovým vzduchem nebo ovládány ručně. Průtok daným zařízením se liší v závislosti na tlaku. Calfee et al. nepozorovali rozdíl v účinnosti relativně nízkotlakých ručních (2,4 bar, 1 l/min) a vysokotlakých (228 bar, 12 l/min, respektive 20 bar a 39,7 l/min) přístrojů během dekontaminace povrchů [15]. Negativní stránkou těchto přístrojů je nanášení roztoku pouze na určitou část osoby, což vyžaduje spolupráci obsluhy a dekontaminovaného. Na druhou stranu jsou snadno ovladatelné, rychleji rozvinutelné a neprodukují velké množství odpadní tekutiny.

Při testech s fluorescenčním práškem bylo prokázáno, že tekutina může být nosičem kontaminantu, proto by měly být omezeny postupy s použitím velké množství roztoku a manuálním čištěním pomocí kartáče. Jedním z výstupů pokusu kromě úpravy postupu dekontaminace včetně svlékání OOP bylo použití dezinfekčního roztoku ve formě mlhy nebo jemného spreje vedoucí ke snížení stupně aerosolizace kontaminantu [16].

Pouze nečetné studie se věnovaly posouzení mechanického vlivu na odstranění spor, tj. bez vlivu dezinfekčního přípravku. Výsledky byly ovlivněny výběrem metodiky a materiálů, na které byly biologické simulanty naneseny. Při použití nerezových destiček byl zaznamenán pokles mikrobiální nálože (virus VSV v biologické zátěži) až o šest řádů, zatímco v práci britských autorů, jež nanesli spory přímo na ochranný oděv, byl mechanický vliv oplachu vodou minimální (pokles o jeden řád) [14, 17]. Vysvětlením tohoto rozdílu mohou být rozdílné sprchovací systémy a přilnavost simulantů na zvolený povrch. Podobně byly pozorovány rozdíly v účinnosti dekontaminace na zorníku obleku, materiálu oděvu a obuvi, a proto autoři zdůrazňují nutnost testování dekontaminace na odpovídajících materiálech.

VLIV POUŽITÝCH OOP

Při dekontaminaci zasahujících složek v OOP je žádoucí zajistit neustálý kontakt dezinfekčního přípravku s povrchem OOP. To může být v případě nesmáčivého a z velké části vertikálního povrchu velmi komplikované. Pouhé nanesení může vést k rychlému zaschnutí nebo odtoku přípravku a tím zkrácení doporučeného expozičního času a nedostatečného účinku (tj. selhání metody) [3, 10, 18]. V souladu s interními předpisy Hasičského záchranného sboru ČR (HZS ČR) a s ohledem na typ

technických prostředků je nutné definovat i minimální množství přípravku nanášeného na daný povrch a současně upřesnit minimální čas nanášení [6]. Aplikovaná dávka dezinfekčního přípravku by měla být tedy vnímána v kontextu (koncentrace x čas x objem)/plocha [3].

Pěnotvorné přípravky většinu výše zmíněných nevýhod do značné míry odstraňují. Jsou ale vázány na vhodný aplikační prostředek. Přítomnost povrchově aktivních látek zajišťuje kromě lepší smáčivosti povrchu i odstranění kontaminantu a nečistot pomocí detergentního účinku. Pěna setrvává na vertikálním povrchu déle než vodný roztok a současně umožňuje vizuální kontrolu kompletního pokrytí dezinfikované oblasti. Na základě zkušeností s dekontaminací radionuklidů lze předpokládat, že tloušťka vrstvy pěny přibližně 1–1,5 mm bude dostatečná k odstranění biologického kontaminantu [19]. Mezi další výhody patří jednodušší likvidace zbytkové pěny, která se buď samovolně rozpadne, případně se odsaje a rozloží působením tzv. zhášeče pěny. Objem odpadní vody je tak minimální [10]. Pěnotvorné přípravky mají největší uplatnění v dekontaminaci porézních povrchů, jež patří mezi nejhůře dekontaminovatelné.

Personál pracující v infekčním prostředí používá OOP, které poskytují ochranu proti infekčním agens a vzhledem k požadavku na dekontaminaci i ochranu proti chemikáliím (ve většině případů se jedná o oděv typu 3B podle technických norem ČSN EN 14 605 a ČSN EN 14 126). Teoreticky by proto nemělo docházet k nežádoucí interakci mezi použitým dezinfekčním přípravkem a materiálem, na který je tento přípravek nanášený. Obdobně materiály používané pro OOP by neměly být porézní, a neměly by tak docházet k situacím, v nichž se dezinfekční přípravek nedostane k cílovému agens, např. kvůli překrytí mikroorganismu v póru bublinou vzduchu [3].

ZKUŠENOSTI PERSONÁLU

Mimo chyby ve skladování a přípravě dezinfekčních přípravků nebo aplikačních zařízení jsou významné negativní dopady během vlastního procesu dekontaminace způsobené člověkem (tzv. lidský faktor). Při použití sprchy i bodových přístrojů je nezbytný aktivní přístup operátora i dekontaminovaného. V předpisech HZS ČR i v zahraniční literatuře je zmiňováno použití kartáče, který pomáhá mechanicky odstraňovat biologický materiál z OOP. Až čtyřnásobná redukce spor byla pozorována při aktivním přístupu za použití kartáče v porovnání s pouhým statickým pohybem při sprchování vodou [14]. Na druhou stranu mechanické odstraňování kontaminantu může vést k narušení struktury materiálu ochranného oděvu a „slabých míst“, jimiž jsou např. spoje rukavic a obleku přelepené páskou. Kartáč, který je v řadě případů používán opakovaně, může navíc vést k šíření kontaminace [16]. Osoba v OOP, která podstupuje dekontaminaci, není ani v případě použití kartáče samostatně schopná dosáhnout adekvátních výsledků a největší biologickou zátěž lze pozorovat v obtížně dostupných místech v dolních partiích oděvu a na podrážce obuvi [14]. Dekontaminace je ztížena i použitím nevhodné velikosti oděvu. Nadměrná velikost oděvu vede ke tvorbě záhybů, ve kterých může přetrvávat zbytková kontaminace. I z těchto důvodů je nezbytné, aby se vlast-

ního dekontaminačního cyklu účastnily minimálně dvě osoby, z nichž jedna se soustředí na správnou dekontaminaci hůře dostupných částí OOP.

Hrozba úmyslného šíření spor *Bacillus anthracis* a současně absence jednoduchého a účinného způsobu dekontaminace vedly v roce 2004 k zavedení jednotné metody dekontaminace jednotek požární ochrany HZS ČR pomocí 2% roztoku Persterilu 36 (resp. 4% roztoku Persterilu 15). Cílem expertů bylo vybrat širokospektrý, dezinfekční roztok, který je dostupný, jednoduše připravitelný, má krátkou expoziční dobu, snadno se nanáší a likviduje [7]. Výběr dezinfekčního přípravku byl proveden formou rešerší a laboratorních testů. V rámci taktických cvičení HZS ČR a AČR nicméně neprobíhalo systematické mikrobiologické ověřování účinnosti prováděné dekontaminace příslušníky HZS ČR i AČR a nelze tedy doložit, jak velký vliv má lidský faktor na výsledek dekontaminace. Pravděpodobnost použití biologického indikátoru ke zhodnocení účinnosti dekontaminace v reálném čase je prakticky nulová i vzhledem k různorodým podmínkám, které v době zásahu panují, proto je klíčové provedení praktických testů v reálném prostředí se simulátem biologické kontaminace [5].

HODNOCENÍ ÚČINNOSTI DEKONTAMINACE

Hodnocení účinnosti dekontaminace s biologickým simulátem lze stanovit na základě doporučení americké agentury Environmental Protection Agency (EPA). *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus atrophaeus* a *Bacillus subtilis* jsou považované za nepatogenní bakterie, a tudíž představují vhodné varianty nahrazující *B. anthracis* [20]. Výběr vhodného simulantu se odvíjí od zaměření laboratorních prací, morfologických a genetických požadavků a zvyklostí pracoviště. Z pohledu dekontaminace povrchů plynnou formou peroxidu vodíku vykazoval *B. subtilis* shodnější výsledky s *B. anthracis* než další testovaný mikroorganismus *Geobacillus stearothermophilus* [20, 21]. Podobně tomu bylo i v případě testování řady dezinfekčních přípravků na různých materiálech [22].

Pro účely registrace sporidního dekontaminačního přípravku účinného proti sporám *B. anthracis* bylo poradením panelem agentury EPA navrženo, aby technologie určená k dekontaminaci povrchů dosáhla redukce počtu viabilních spor minimálně o šest řádů [22]. Na druhou stranu podle ČSN EN 13 704, resp. ČSN EN 14 347 je pro účely prokázání sporidního účinku nutné dosáhnout poklesu alespoň o tři, resp. čtyři řády. Dosažení nulové kontaminace, jak je navrženo některými autory, je při provedení praktických testů s větším souborem vzorků prakticky nemožné [23]. Požadavek na redukci spor během dekontaminace by měl vycházet ze zhodnocení rizika nákazy, tj. z infekční dávky nutné k vyvolání onemocnění. Zdroje uvádějící letální dávky (LD_{50}) v případě inhalační formy antraxu se liší. Zatímco vojenské zdroje hovoří o LD_{50} 8 000–10 000 spor, consensus amerických specialistů uvádí LD_{50} 2 500–55 000 spor [24, 25]. Přestože byly uveřejněny studie, které na základě matematického modelování a extrapolování výsledků ze studií na zvířatech považují i jednotky spor schopné vyvolat fatální onemocnění ($LD1$) [26, 27], jinými autory jsou tyto výsledky považovány za spekulativní a zavádějící z důvodu chybějících epidemiologických a experimentálních

SOUHRNNÉ SDĚLENÍ

důkazů [28, 29]. Tito autoři nachází oporu v práci z roku 1960, podle které ani 8hodinová expozice přibližně 1 300 spor (z toho 510 spor v respirabilní velikosti do 5 μm) nevedla u zaměstnanců továrny zpracovávající koží srst ke vzniku onemocnění [30]. Na základě této práce bylo navrženo, aby celodenní inhalační dávka 600 spor u jinak zdravých osob byla považována za ještě přiměřenou v rámci hodnocení rizika nákazy [31].

Při analýze rizik lze teoreticky vycházet i z hodnocení účinnosti dezinfekčních a sterilizačních postupů. V případě kontroly dezinfekčních procesů jsou biologickými indikátory bakterie *Enterococcus faecium*, resp. *Staphylococcus aureus* o denzitě suspenze 10^5 CFU (colony-forming unit) na nosiči. Pro kontrolu parní, horkovzdušné, plazmové a plynové sterilizace se používají např. spory *Geobacillus stearothermophilus* v denzitě suspenze 10^6 CFU/ml. Proces je hodnocený jako účinný, pokud nedojde k nárůstu spor [1]. V případě hodnocení účinku sterilizace hovoříme o tzv. SAL 10^{-6} (sterility assurance level, úroveň bezpečné sterility), tj. pravděpodobnost, že nepřejde více než jeden mikroorganismus z jednoho miliónu [1, 32]. V případě termínu „logaritmičká“ redukce hovoříme o procentuálním množství eliminovaného mikroorganismu (redukce o 10^6 vede k poklesu o 99,9999 %). Lze tedy předpokládat, že nárůst maximálního počtu sto kolonií (10^2) po skončení dekontaminace při vstupní denzitě více než 10^6 CFU/ml je možné považovat za dostatečnou úroveň prokazující účinnost metody dekontaminace B-agens v experimentálních podmínkách.

Další z klíčových částí testování dekontaminace B-agens je vyloučení pokračujícího biocidního nebo biostatického účinku dezinfekčního přípravku po provedení oplachu. Většina postupů popsaných v literatuře uvádí ponoření zkoumaného materiálu do neutralizačního roztoku, což není v případě experimentálních zkoušek s většími plochami (např. kompletní ochranný oděv) možné [33]. Modifikací tohoto způsobu je provedení stěru dekontaminované plochy a následné ponoření odběrového prostředku do transportního média, které obsahuje neutralizační složku, např. thiosíran sodný [34].

Pro zhodnocení experimentálního testování dekontaminace B-agens je klíčová statistická analýza, na kterou budou kladeny zvýšené nároky zejména v podobě malého počtu pozitivních výsledků. Výběr vhodné analýzy bude záviset na velikosti testovaného souboru. Při malém souboru vzorků, jejichž výsledky se budou blížit 1 nebo 0, bude nutné provést přesný bodový a intervalový odhad binomické pravděpodobnosti nebo přesný test binomické pravděpodobnosti [35]. V případě, že jsou počet realizací pokusu a očekávaná hodnota pravděpodobnosti účinnosti dekontaminace dostatečně velké, lze použít aproximace binomického rozdělení normálním, případně provést modifikaci tohoto testu zvanou Yatesova korekce [36]. Závislost nebo nezávislost různých uspořádání pokusu lze testovat pomocí testu nezávislosti v kontingenční tabulce.

ZKŘÍŽENÁ KONTAMINACE

Experimentální testy mají pochopitelně řadu limitů, mezi něž patří např. zkřížená kontaminace nebo přítomnost biologického simulantu v okolním prostředí. Některé rizikové faktory lze minimalizovat na únosnou mez za-

vedením kontrol kvality (pozitivní a negativní kontrola, duplikáty stěrů apod.), výběrem experimentálního prostředí, řádným úklidem, zkušeností testerů a v neposlední řadě robustním designem studie. Použití fluorescenční látky snižuje riziko falešných výsledků, na druhou stranu neposkytuje zpětnou vazbu při potřebě analýzy dekontaminace procesu jako celku, tj. dezinfekčního účinku a lidského faktoru. Hlavní výhodou barevného indikátoru představuje možnost jednoduchého sledování přenosu kontaminantu během dekontaminace, procesu svlékání OOP a další manipulace s dekontaminovaným materiálem. V praxi se fluorescenční látka používá zejména pro kontrolu řádné dezinfekce rukou.

Žádná metoda dekontaminace B-agens nemůže garantovat 100% účinnost, z tohoto důvodu je nutné stanovit riziko zbytkové kontaminace, které je pro zasahující složky ještě akceptovatelné [5, 31]. Je proto nezbytné identifikovat slabá místa vedoucí k přenosu kontaminace mimo nebezpečnou zónu a přizpůsobit tomu postupy zasahujících jednotek. Dekontaminace s vyloučením aerosolizace kontaminantu je sice klíčovým, ale pouze prvním krokem. K dalšímu snížení rizika druhotné kontaminace je nutné upravit postupy navazující na vlastní proces dekontaminace, např. používání pouze jednorázových kartáčů/smetáčků pro mechanické odstranění hrubších nečistot, postup svlékání OOP a výměna rukavic u osob, které při svlékání asistují. Po svléknutí OOP je zásadní provedení hygienické celotělové očisty mýdlem a vodou [16].

ZÁVĚR

Ideálního stavu, ve kterém dekontaminace vysoce rizikových biologických patogenů proběhne ve všech případech prakticky bezchybně, nelze dosáhnout. Analýza dekontaminace procesu personálu v OOP, který vystupuje z nebezpečné zóny, je velmi komplikovaná. Zasahující složky se tak mohou v reálných podmínkách spolehnot pouze na kontrolu správné koncentrace dezinfekčního přípravku. Simulant biologické zátěže, který by poskytoval obdobně rychlé, okamžité výstupy, bohužel neexistuje a použití standardních biologických indikátorů je z časového hlediska nepraktické. Lze ovšem celý proces připravit tak, abychom se k ideálnímu stavu maximálně přiblížili. V první fázi je nezbytné identifikovat dezinfekční přípravek, určit jeho koncentraci a dobu expozice. V dalším kroku proběhne výběr vhodných aplikačních prostředků. Následovat musí experimentální, praktické ověření zvolených postupů na základě testů se simultánním biologickými zátěží. Konečným výsledkem by měl být postup, ve kterém je možnost člověka negativně ovlivnit proces dekontaminace výrazně redukován. K tomu pomůže i důraz na adekvátní výcvikový proces, jenž musí všechny výše uvedené fáze doplnit.

LITERATURA

- Melicherčíková V. Sterilizace a dezinfekce. Praha: Galén; 2015.
- Hawley RJ, Eitzen EM. Biological weapons – a primer for microbiologists. *Annu Rev Microbiol*, 2001; 55:235–253.
- Springthorpe VS, Sattar SA. Carrier tests to assess microbicidal activities of chemical disinfectants for use on medical devices and environmental surfaces. *J AOAC Int*, 2005; 88(1):182–201.

4. Rutala WA, Weber DJ. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008 [on line]. Centers for Disease Control and Prevention; c2008 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines.pdf>.
5. Bodurtha P, Dickson EFG. Decontamination science and Personal Protective Equipment (PPE) selection for Chemical-Biological-Radiological-Nuclear (CBRN) events [on line]. Report No.: DRDC-RRDC-2016-R236. Defence Research and Development Canada; c2016 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <http://cradpdf.drdrdc.gc.ca/PDFS/unc263/p805114_A1b.pdf>.
6. Řád chemické služby Hasičského záchranného sboru České republiky. Praha: Ministerstvo vnitra – Generální ředitelství HZS ČR; 2017.
7. Kotínský P. Dekontaminace. 150 Hoří, 2002;12(10):14–16.
8. Guan J, Chan M, Brooks BW, et al. Influence of temperature and organic load on chemical disinfection of *Geobacillus stearothermophilus* spores, a surrogate for *Bacillus anthracis*. *Can J Vet Res*, 2013;77(2):100–104.
9. Severa J, Klaban V, Cerny T, et al. Sporicidal Agents Highly Effective in Inactivating *Bacillus anthracis* Spores. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2010;59(4):205–208.
10. Votava M, Slitrová J, Matusková Z. Microbicidal efficacy of a new foam disinfectant. *Epidemiol Mikrobiol Imunol*, 2005; 54(2):84–89.
11. Majcher MR, Bernard KA, Sattar SA. Identification by Quantitative Carrier Test of Surrogate Spore-Forming Bacteria To Assess Sporicidal Chemicals for Use against *Bacillus anthracis*. *Appl Environ Microbiol*, 2008;74(3):676–681.
12. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1999;12(1):147–179.
13. Nasr GG, Yule AJ, Lloyd SE, et al. The Application of Fine Sprays for Chemical, Biological, and Radiological or Nuclear (CBRN) Decontamination [on line]. In Proceedings of the 21th ILASS-Europe Meeting; 2007 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <http://www.ilasseurope.org/ICLASS/ILASS2007/Full%20text/Texts/CBRN-final-nasr-et-al.doc>.
14. Parks S, Gregory S, Fletcher N, et al. Showering BSL-4 Suits to Remove Biological Contamination. *Appl Biosaf.*, 2013;18(4):162–171.
15. Calfee MW, Ryan SP, Wood JP, et al. Laboratory evaluation of large-scale decontamination approaches. *J. Appl. Microbiol.*, 2012;112(5):874–882.
16. Gray M, Serre S, Mickelsen RL, et al. Decontamination Line Protocol Evaluation for Biological contamination Incidents Assessment and Evaluation Report [on line]. Report No.: 600/R-144/76. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency; c2015 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?dirEntryId=307093>.
17. Klaponski N, Cutts T, Gordon D, et al. A Study of the Effectiveness of the Containment Level-4 (CL-4) Chemical Shower in Decontaminating Dover Positive-Pressure Suits. *Appl Biosaf.*, 2011;16(2):112–117.
18. Hong Y, Teska PJ, Oliver HF. Effects of contact time and concentration on bactericidal efficacy of 3 disinfectants on hard nonporous surfaces. *Am J Infect Control*, 2017; 45(11):1284–1285.
19. Knajfl J, Severa J. Dekontaminace s použitím pěn II. Experimentální ověřování vlastností pěn. *Jaderná energie*, 1990; 36(12):476–479.
20. Greenberg DL, Busch JD, Keim P, et al. Identifying experimental surrogates for *Bacillus anthracis* spores: a review. *Investig Genet*, 2010; 1(1):4.
21. Rogers JV, Sabourin CLK, Choi YW, et al. Decontamination assessment of *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, and *Geobacillus stearothermophilus* spores on indoor surfaces using a hydrogen peroxide gas generator. *J Appl Microbiol*, 2005; 99(4):739–748.
22. Technical Brief: Evaluation of Liquid and Foam Decontamination Technologies for Surfaces Contaminated by *Bacillus Anthracis* Spores [on line]. Report No.: 600S11003. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency; c2011 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <https://cfpub.epa.gov/si/si_public_file_download.cfm?p_download_id=525579>.
23. Rastogi VK, Smith LS, Wallace L. Laboratory-scale Study in Determining the Decontamination Standards for Personnel Protective Equipment Used by Homeland Defense Personnel: Evaluation of Commercial Off-the-shelf Technologies for Decontamination of Personnel Protective Equipment-relevant Surfaces [on line]. Report No.: ECBC-TR-631. Edgewood Chemical Biological Center; 2008 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <https://www.hsdl.org/?abstract&did=34965>.
24. Soviet Biological Warfare Threat [on line]. Report No.: DST-1610F-057-86. Washington, D.C.: US Dept of Defense, Defense Intelligence Agency; c1986 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <http://insidethecoldwar.org/sites/default/files/documents/DIA%20Report%20on%20Soviet%20Biological%20Warfare%20Threat%201986.pdf>.
25. Inglesby TV, O'Toole T, Henderson DA, et al. Anthrax as a biological weapon, 2002: updated recommendations for management. *JAMA*, 2002; 287(17):2236–2252.
26. Fennelly KP, Davidow AL, Miller SL, et al. Airborne Infection with *Bacillus anthracis* – from Mills to Mail. *Emerg Infect Dis*, 2004;10(6):996–1001.
27. Peters CJ, Hartley DM. Anthrax inhalation and lethal human infection. *The Lancet*, 2002; 359(9307):710–711.
28. Coleman ME, Thran B, Morse SS, et al. Inhalation Anthrax: Dose Response and Risk Analysis. *Biosecur Bioterror*, 2008; 6(2):147–160.
29. Price PN, Hamachi K, McWilliams J, et al. Anthrax Sampling and Decontamination: Technology Trade-Offs, 2008 [on line]. Report No.: 8LBNL-1519E. Lawrence Berkeley National Laboratory; c2009 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <http://eta-publications.lbl.gov/sites/default/files/lbnl-1519e.pdf>.
30. Dahlgren CM, Buchanan LM, Decker HM, et al. *Bacillus anthracis* Aerosols in Goat Hair Processing Mills. *Am J Hyg*, 1960;72(1):24–31.
31. Cohen ML, Whalen T. Implications of Low Level Human Exposure to Respirable *B. Anthracis*. *Appl Biosaf.*, 2007;12(2):109–115.
32. von Woedtke T, Kramer A. The limits of sterility assurance. *GMS Krankenhhyg Interdiszip*, 2008;3(3):1–10.
33. Calfee MW, Choi Y, Rogers J, et al. Lab-Scale Assessment to Support Remediation of Outdoor Surfaces Contaminated with *Bacillus anthracis* Spores. *J Bioterror Biodef*, 2011;2(3):2–8.
34. Darby SM, Glass MJ. Formal Test Report for the Tactical Personnel Biological Decontamination Validation [on line]. Report No.: 8-CO-410-000-065. U.S. Army Dugway Proving Ground WDTC-TR-02-072; c2002 [cit. 2017-10-22]. Dostupné na www: <http://www.unitedtacticalsupply.com/wp-content/references/biologicalfinalreport.pdf>.
35. Likeš J, Machek J. *Matematická statistika*. Praha: SNTL; 1983.
36. Zvára K. *Základy statistiky v prostředí R*. Praha: Nakladatelství Karolinum; 2013.

Práce byla podpořena projektem bezpečnostního výzkumu Ministerstva vnitra ČR – VI20172020095.

Do redakce došlo dne 21. 6. 2018.

Adresa pro korespondenci:

plk. doc. MUDr. Jaroslav Pejchal, Ph.D. et Ph.D.

Katedra toxikologie a vojenské farmacie
Fakulta vojenského zdravotnictví
Univerzita obrany
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové
e-mail: jaroslav.pejchal@unob.cz