

TNO-rapport

99-BBI-R014

**Onderzoek naar de relatie tussen deeltjes en
bacteriën in de operatiekamer**

Datum	9 maart 1999
Auteur(s)	Ing. Ph.J. Ham (TNO Bouw) Ing. J. Kastelein (TNO Voeding)
M.m.v.	Ing. P. Wouda (TNO Bouw) Ing. H.J.M. Cornelissen (TNO Bouw) J. van Overeem (TNO Voeding) Ir. M. van Dorst (TNO Voeding)
Aantal pagina's	66
Opdrachtgever	SICC
Projectnummer	926.8.4358
Projectleider	Ing. Ph.J. Ham

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, foto-kopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande toestemming van TNO.

Indien dit rapport in opdracht werd uitgebracht, wordt voor de rechten en verplichtingen van opdrachtgever en opdrachtnemer verwezen naar de Algemene Voorwaarden voor onderzoeksopdrachten aan TNO, dan wel de betreffende terzake tussen de partijen gesloten overeenkomst.

Het ter inzage geven van het TNO-rapport aan direct belang-hebbers is toegestaan.

Samenvatting

In opdracht van de SICC is in samenwerking tussen TNO-Bouw, afdeling Binnenmilieu, Bouwfysica en Installaties en TNO Voeding, Afdeling Microbiologie, onderzoek gedaan naar de concentraties van bacteriën en deeltjes in de voor dit doel als operatiekamer ingerichte multi-functionele cleanroom van TNO Bouw. Dit meer fundamentele onderzoek is noodzakelijk om zowel ten aanzien van infrastructuur als feitelijk gebruik de effectiviteit van de te onderzoeken maatregelen in kaart te kunnen brengen. Als er een duidelijke relatie kan worden aangetoond tussen de aantallen deeltjes en bacteriën is het wellicht mogelijk door middel van deeltjestelling te alarmeren voor een mogelijk infectierisico in het wondgebied of op de instrumententafels. De cleanroom was t.b.v. het onderzoek uitgevoerd als een operatiekamer met een downflow-plafond van 1.2 x 2.4 m waarbij de inblaas-luchtsnelheid 0.3 m/s bedroeg. Afzuiging vond gelijkmatig verdeeld plaats via 8 stuks hoog en laag geplaatste afvoerroosters in de hoeken. Ter weerszijden van het luchtplenum waren twee operatielampen geplaatst van het type Hanaulux 2004; de lampen waren tijdens het onderzoek bekrachtigd; er werden metingen verricht bij verschillende posities van de lampen. In de cleanroom werden door 10 proefpersonen handelingen verricht waarmee de bewegingen van het operatieteam en het omlooppersoneel zo goed mogelijk reproduceerbaar werden nagebootst. De metingen vonden op 4 verschillende dagen plaats; de samenstelling van de proefpersonen was per meetdag verschillend. Uit de metingen, die in de periode van juli tot oktober 1997 zijn uitgevoerd, komen de volgende resultaten als belangrijkste naar voren:

- Uit de meetresultaten valt de relatie tussen deeltjes en micro-organismen in de ruimtelucht af te leiden. Het handelt dan om deeltjes met een gemiddelde grootte van 3 µm die de luchtstroom (kunnen) volgen. De relatie kan het best worden bepaald in de afvoerlucht ter hoogte van een afvoerrooster, ervan uitgaand dat de afvoerlucht gelijkmatig verdeeld wordt naar de verschillende afvoerroosters. De verhouding deeltjes/micro-organismen over de verschillende meetdata is sterk afhankelijk van het kledingniveau van de aanwezige personen. Bij toepassing van alleen omloopkleding wordt een deeltjes/micro-organismen verhouding gevonden van gemiddeld 174 (aëroob koloniegetal) en >600 (huidbacteriën). Deze verhouding neemt sterk af wanneer het kleding niveau beter wordt. Metingen met nieuwe omloopkleding en nieuwe operatiekleding (ideale situatie) wordt een deeltjes/micro-organismen verhouding gevonden van gemiddeld 43 (aëroob koloniegetal) en 61 (huidbacteriën). Bij het dragen van reusable cleanroomkleding kunnen deze verhoudingen nog lager uitvallen (25 respectievelijk 29). In de onbehandelde buitenlucht wordt een verhouding van 1000 (aëroob koloniegetal) gevonden, een waarde die blijkbaar onterecht veelal in de literatuur ook voor situaties in de operatiekamer wordt gehanteerd.
- De metingen van 9 juli geven het meest de situatie in de praktijk weer. Tijdens deze metingen werd kleding door het operatieteam gewassen of nieuwe operatiekleding en door de overige proefpersonen gewassen of nieuwe omloopkleding gedragen. De gemiddelde waarden voor de verhouding deeltjes/micro-organismen bedroeg 145 (aëroob koloniegetal) en 650 (huidbacteriën).
- De relatie tussen deeltjes en micro-organismen werd ook bepaald in het wondgebied en aan het voeteneinde. Bij het toegepaste downflow-systeem worden in het wondgebied steeds slechts enkele aerogene bacteriën gemeten. Daardoor is het niet mogelijk een significant verband te bepalen voor de relatie deeltjes/bacteriën in het wondgebied. Afhankelijk van de toegepaste kleding en de kwaliteit van de kleding werd een grote spreiding in de verhouding tussen deeltjes en micro-organismen waargenomen. Uit de metingen blijkt dat de ideale situatie (nieuwe omloopkleding en operatiekleding) de beste resultaten gaven. De stofafgifte voor deeltjes van 3 µm van nieuwe kleding is aanmerkelijk minder dan van gebruikte (gewassen) kleding. Dit is sterk van invloed op de verhouding deeltjes/micro-organismen.

Omdat de luchtstromingen en daarmee de verhouding deeltjes en micro-organismen in de lucht (inhomogeniteit) in het wondgebied en aan het voeteneind moeilijk te beheersen zijn, is het niet mogelijk hieruit conclusies te trekken.

- Metingen met sedimentatie platen werden uitgevoerd om vast te stellen dat bacterie dragende deeltjes (huidschilfers) niet de luchtstroom volgen en neerslaan/vallen in het wondgebied. Ook hier blijkt het kledingniveau van belang. Des te beter de personen zijn gekleed/ingepakt des te minder bacterie dragende deeltjes er worden gegenereerd. Blijkbaar vormen deze deeltjes, naast contact-contact overdracht, het grootste risico voor wondbesmetting. Het hoofd van de chirurg waarvan delen onbedekt zijn steekt vaak in het wondgebied waardoor huidschilfers ($>10 \mu\text{m}$) in de wond kunnen vallen. De aanwezige laminaire luchtstroming (downflow) is niet in staat deze deeltjes mee te nemen, vooral niet wanneer de operatielampen, recht boven het wondgebied geplaatst, een opwaartse stroming langs het lichaam van de chirurg bewerkstelligen. Deze deeltjes zijn ook te zwaar om door een airsampler te worden aangezogen. Het lijkt hierdoor niet goed mogelijk een voorspelling te doen van een te hoge bacterieconcentratie op basis van deeltjesmeting in het wondgebied.
- Voor een instrumententafel die achter het chirurgenteam is geplaatst lijkt het wel haalbaar een systeem te ontwikkelen waarbij d.m.v. deeltjestelling kan worden gealarmeerd voor een te hoog contaminatierisico. Daarbij kan wellicht de gevonden relatie voor de verhouding deeltjes/bacteriën in de afvoerlucht (145 op 9 juli) worden gehanteerd aangezien te verwachten valt dat deze tevens een goede maat zal zijn voor de periferie waarin de instrumententafel zich bevindt. Deze mogelijkheid is tijdens het onderzoek niet verder onderzocht omdat er op deze instrumententafel geen aerogeen koloniegetal werd bepaald.
- Wanneer de operatielampen recht boven de operatietafel worden gepositioneerd nemen de aantallen deeltjes in het wondgebied, en op een naast de operatietafel geplaatste instrumententafel, ondanks het dragen van operatiepakken, toe. Het wondgebied wordt daarbij duidelijk meer gecontamineerd. Wanneer de lampen vervolgens schuin achter de chirurg worden gepositioneerd nemen de deeltjesaantallen en het contaminatierisico weer af.
- Er blijkt geen aantoonbare invloed te zijn van de omgevingstemperatuur op de deeltjesaantallen, althans bij de onderzochte kledwijze (lichte omloopkleding). Onderzoek bij andere kleding (b.v. de warmere operatiepakken over de omloopkleding) werd niet uitgevoerd.

Bovenstaande conclusies gelden alleen voor de gekozen configuratie met een inblaasplenum van 2.4×1.2 m met laminaire downflow. Bij inblaasplenums met andere afmetingen kunnen de conclusies niet zonder meer worden aangehouden. Aanvullend onderzoek bij grotere plenums en bij mengende of half-mengende luchttoevoersystemen is gewenst.

Inhoud

1.	Inleiding.....	6
2.	Deeltjesafgifte door de mens	8
2.1	huidschilfers	8
2.2	niezen.....	8
2.3	invloed van de relatieve vochtigheid (RV).....	10
3.	Meetmethoden.....	12
3.1	Bacteriemeting.....	12
3.1.1	Algemeen	12
3.1.2	Methoden	13
3.1.3	Voor het onderzoek aangepaste Anderson samplers	14
3.1.4	Vrije bacteriën.....	14
3.1.5	Sedimentatiemethode	14
3.2	Deeltjesmeting.....	14
4.	In 1996 verricht vooronderzoek.....	16
5.	Toegepaste kledingsoorten	17
6.	De metingen	21
6.1	Bepaling van de <u>temperatuur-Invloed</u> op 27 juni 1997.....	21
6.1.1	Uitvoering van de metingen.....	21
6.1.2	Resultaten	24
6.1.3	Conclusies.....	26
6.2	Bepaling van de <u>kleding-Invloed</u> op 9 en 16 juli 1997.....	27
6.2.1	Uitvoering van de metingen.....	27
6.2.2	Resultaten	28
6.2.3	Conclusies.....	33
6.3	Bepaling van de <u>Invloed van de operatielampen</u> op 16 juli 1997	34
6.3.1	Uitvoering van de metingen.....	34
6.3.2	Resultaten	36
6.3.3	Conclusies.....	39
6.4	Aanvullende metingen op 14 november 1997	40
6.4.1	Uitvoering van de metingen.....	40
6.4.2	Resultaten	42
6.4.3	Conclusies.....	47
6.5	vergelijking van dubbel uitgevoerde metingen op verschillende data.....	48
6.5.1	Metingen met ok-team in operatiepak	48
6.5.2	Metingen met nieuwe omloopkleding zonder mondmasker.....	50
6.5.3	Metingen met nieuwe omloopkleding met mondmasker	51

6.5.4	Metingen met cleanroom pak.....	53
7.	Analyse van de relaties deeltjes/bacteriën	55
7.1	Conclusies	58
7.2	Ontwikkeling alarmerend meetinstrument in wondgebied	58
8.	Eindconclusies.....	59
9.	Literatuur.....	61
10.	Overzicht van uitgebrachte rapporten voor de sicc.....	63
11.	Overzicht van in het cleanroom-project participerende bedrijven.....	65
12.	BIJLAGE 1	66

1. Inleiding

Kruisinfectie in een operatiekamer kan langs drie wegen ontstaan:

- Endogene besmetting met bacteriën, afkomstig van de patiënt zelf, vanaf de huid, via luchtwegen of via het bloed.
- Contact besmetting door niet steriele instrumenten en hulpmiddelen zoals handschoenen, hoofddekseel, operatiekleding en mondkmasker.
- Aerogene besmetting met bacteriën uit de omgevingslucht b.v. door druppelvorming bij hoesten of spreken of door aanwezigheid van stofdeeltjes en huidschilfers waarop zich kiemen bevinden.

Contact besmetting is de hoofdoorzaak van kruisinfectie. Men moet daarbij echter bedenken dat deze wijze van besmetting ook zijn oorzaak kan vinden t.g.v. sedimentatie van de in de lucht aanwezige kiemdragende deeltjes. Het effect van aerogene besmetting d.m.v. huidschilfers is daardoor wellicht groter dan algemeen wordt gedacht.

Ongefilterde lucht bevat vele zwevende stofdeeltjes waarvan een gedeelte kiemdragend is. Is de lucht in beweging dan volgen deze zwevende deeltjes deze beweging vrijwel precies. Er kan dan ook worden gesteld dat luchttransport altijd gepaard gaat met transport van kiemen. Ter voorkoming van kruisinfectie moet er daarom in operatiekamers voor worden gezorgd dat er zo min mogelijk transport van kiemen via de lucht plaatsvindt.

De beheersing van de luchtbewegingen vormt daarom een essentieel onderdeel van het hygiënisch beleid. Op de operatiekamer is luchtbeheersing o.a. gericht op het weren dan wel elimineren van verontreinigde lucht uit het operatiegebied. Op de operatieafdeling als geheel is de luchtbeheersing gericht op het voorkómen van luchtverplaatsingen van vuile naar schonere ruimten.

De gevolgen van ziekenhuisinfecties zijn drieledig: langere verpleegduur en meer antibiotica, beide leidend tot hogere kosten, morbiditeit en mortaliteit. De verminderde functionaliteit van OK's draagt hiertoe bij; gegevens t.a.v. welk deel hiervan aan de OK's is toe te schrijven ontbreken nog. Wel zijn schattingen bekend van kosten en aantallen ziekenhuisinfecties in Nederland (rapport van de Gezondheidsraad), deze zijn afgeleid van een Amerikaanse studie, vertaald naar de Nederlandse situatie. De directe gevolggkosten van infecties als geheel wordt in Nederland op 290 MDfl/jr geschat, dit is 2 à 3 % van het geheel.

Het feit dat OK's en met name het gebruik ervan voor verbetering vatbaar lijken en de potentieel belangrijke gevolgen hiervan in termen van kosten, morbiditeit en mortaliteit zijn de voornaamste drijfveren voor het voorgenomen onderzoek naar de relatie tussen deeltjes en bacteriën.

Binnen de gezondheidszorg is er geen of onvoldoende aandacht voor transport van deeltjes geweest. Te vaak en te lang is het argument aangehaald dat deeltjes zelf geen bedreiging vormen. Men redeneerde dat op basis van onderscheiden parallelle metingen ten aanzien van deeltjes en bacteriën gevonden grote verschillen er geen directe relatie tussen deze beide parameters bestaat. Deeltjes zijn geen garantie, maar wel een noodzakelijke voorwaarde voor het transport van bacteriën door lucht. Door te kijken naar het gedrag van deeltjes in lucht leert men hoe eventuele bacteriën gevaar kunnen opleveren voor de patiënt. Inzicht in de relatie deeltjes - bacteriën dient hierbij niet gerelateerd te zijn aan de kenmerken van de ruimte waarin een en ander plaatsvindt doch aan de potentieel deeltjes dan wel bacteriedragende deeltjes genererende activiteiten in die ruimten. Op deze wijze vergaart men inzicht in welke activiteiten deeltjes genererend zijn en van welke daarvan tevens een bacteriedreigende werking uitgaat. Niet de deeltjes zelf, maar het feit dat wij ze real-time kunnen meten en zij benodigd zijn voor het te onderzoeken

bacterietransport maakt de studie van deeltjes, generatie, aard, transport en potentiële bacteriedragende eigenschappen tot het vehikel van deze onderzoekslijn.

In opdracht van de SICC is daarom, in samenwerking tussen TNO-Bouw, afdeling Binnenmilieu, Bouwfysica en Installaties en TNO Voeding, Afdeling Microbiologie, onderzoek gedaan naar de concentraties van bacteriën en deeltjes in de voor dit doel als operatiekamer ingerichte multifunctionele cleanroom van TNO Bouw. Dit meer fundamentele onderzoek is noodzakelijk om zowel ten aanzien van infrastructuur als feitelijk gebruik de effectiviteit van de te onderzoeken maatregelen in kaart te kunnen brengen. Als er een duidelijke relatie kan worden aangetoond tussen de aantallen deeltjes en bacteriën is het wellicht mogelijk door middel van deeltjestelling te alarmeren voor een mogelijk infectierisico in het wondgebied of op de instrumententafels.

2. Deeltjesafgifte door de mens

In de OK is de mens de verontreinigende bron waarbij bacteriën worden verspreid met huidschilfers en aërosolen als transportmedia.

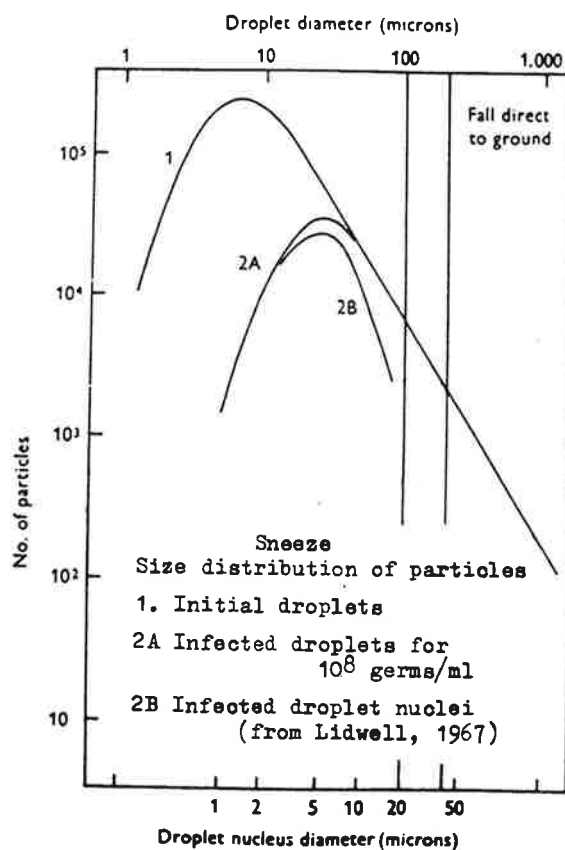
2.1 huidschilfers

Het huidoppervlak van de mens wordt binnen 1 à 2 dagen totaal vernieuwd waarbij ca 14 g per dag aan deeltjes aan de lucht wordt afgegeven. Dit komt neer op 1000 tot 200.000 deeltjes per seconde, afhankelijk van de activiteiten. Bij een gemiddeld activiteitenpatroon zal het operatieteam enige miljoenen deeltjes per minuut genereren. Slechts een klein deel hiervan is bacteriedragend. Het betreft dan vooral de commensalen van de menselijke huid: *Staphylococcus epidermidis*; bij dragers van *Staphylococcus aureus* kan een kleine fractie van de schilfers ook deze bacteriën bevatten. Soms kunnen ook andere bacteriën langs deze weg worden verspreid. Door het dragen van operatiekleding kan de deeltjesafgifte aan de lucht sterk worden verminderd. Uit onderzoek met 10 mannelijke en 10 vrouwelijke proefpersonen in operatiepakken is vastgesteld dat de afgifte van kiemdragende deeltjes door mannen hoger is dan door vrouwen, respectievelijk ca 800 en 200 kve/minuut [2]. De afgifte neemt af naarmate de kleding gedurende langere tijd wordt gedragen. Door het onderlichaam worden aanzienlijk meer deeltjes afgegeven dan door het bovenlichaam (80% in het peri-anale gebied). Of de deeltjesafgifte aan de omgeving bij geklede personen ook in deze verhouding plaatsvindt is niet bekend.

2.2 niezen

Bij het niezen wordt een groot aantal ($\pm 10^6$) druppeltjes (aerosoles) met lichtsnelheden tot 160 km/u verspreid, bij hoesten is het aantal ca 20 x lager, bij spreken zijn de aantallen nog vele malen lager [1]. De aerosoles bestaan uit speeksel, neusslijm. Zij verdampen snel tot geconcentreerde zoutoplossingen met een relatief hoog eiwitgehalte of tot druppelkernen die hoofdzakelijk uit zoutkristallen met eiwit bestaan. Als een aërosol een bacterie bevatte, vormt dit slechts 1/10 tot 1/100 van de massa van de druppelkern. Juist als bij onze moderne industrie is de verpakking dus veel volumineuzer dan de inhoud. Er is daardoor ook weinig verschil in de partikelgrootte van deeltjes die een bacterie of van deeltjes die een virus bevatten. In de praktijk moet men dus bij de discussie van filterprestaties nooit de grootte van het virusdeeltje maar steeds die van het in zout en slijm verpakte virusdeeltje in rekening brengen.

2-6

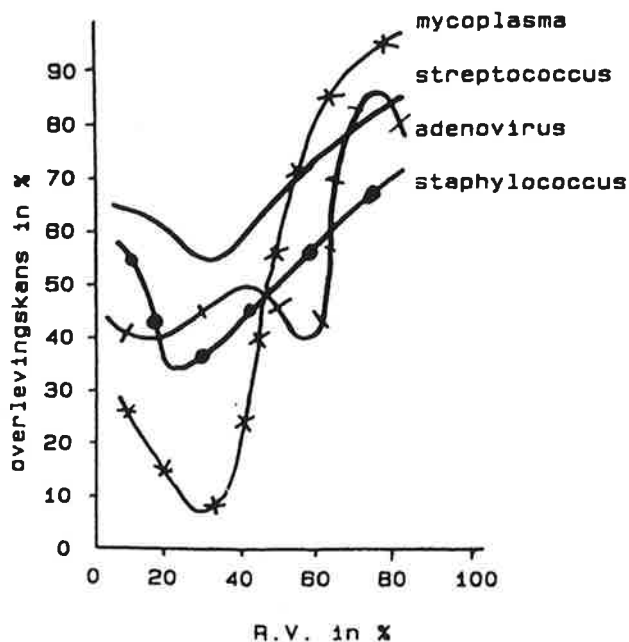


Figuur 1 Druppelverdeling in een nies

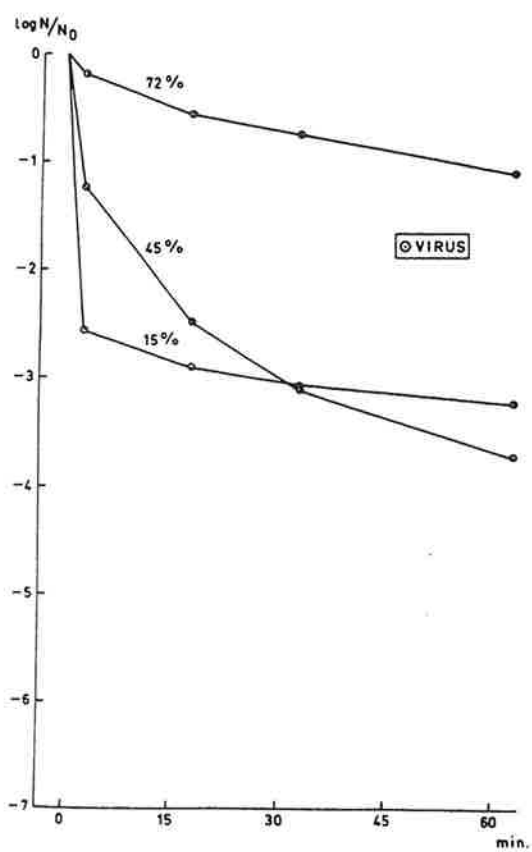
Figuur 1 laat de grootteverdeling bij een nies zien. Een deel van de aerosoles is zo groot dat deze snel op de grond vallen en geen risico meer vormen voor aerogene besmetting. Ook al is het aantal van de vallende druppeltjes relatief klein, zij bevatten de grootste massa van het vernieste volume en daarom ook de meeste bacteriën. De meeste aerosoles bevatten geen bacteriën; de fractie die wel bacteriën bevatten is daardoor veel kleiner (zie curve 2A). De figuur laat zien dat de gemiddelde diameter van druppels en druppelkernen bij ongeveer 10 µm ligt. In het hier getoonde model is uitgegaan van 10⁸ bacteriën per ml speeksel. Bij werkelijke metingen vindt men in een nies zelden meer dan 25.000 bacteriën en bij een hoest zelden meer dan 1000. Circa 50% hiervan valt op de grond en telt voor de luchtinfectie niet mee. Het grootste deel van de genoemde bacteriën bestaat uit commensale bacteriën uit neus- en keelholte die wij allen bij ons dragen. Slechts bij ziekte worden ook ziekteverwekkers verspreid. Bij bacteriële infecties zijn de aantallen dan aanzienlijk lager dan die van de bovengenoemde commensalen.

2.3 invloed van de relatieve vochtigheid (RV)

Toenemende RV bevordert ophoping van stofdeeltjes, waardoor het opwaaien van stof wordt verminderd. Laboratoriumonderzoek heeft uitgewezen dat virussen en bacteriën bij een hoge RV een grotere overlevingskans hebben. Voor stafylokokken die het beste in lucht overleven, moet men toch altijd nog met een afsterving van een factor 2 per uur rekenen bij een relatieve vochtigheid (RV) van 60% [1]. Voor poliomyelitis virus is deze afsterving veel sterker, zoals in Figuur 2 is te zien. Hier moet men minstens met een factor 10 per uur rekenen, behalve bij hoge RV. De kleinste overlevingskans voor veel virussen en bacteriën ligt gemiddeld tussen 30 en 40% RV (zie Figuur 3) [3].



Figuur 2 Afsterving van poliomyelitis virus in lucht bij 3 waarden voor de relatieve vochtigheid (72, 45 en 15%)



Figuur 3 Overlevingskans van enkele micro-organismen, in relatie met de RV

3. Meetmethoden

Om de relatie tussen deeltjes en bacteriën te bepalen is gelijktijdige meting van zowel deeltjes als bacteriën op meerdere plaatsen in de cleanroom noodzakelijk.

3.1 Bacteriemeting

3.1.1 Algemeen

De voorkomende micro-organismen zijn te onderscheiden in:

- gisten
- schimmels
- bacteriën
- virussen

Het bepalen van de aanwezigheid van gisten, schimmels en virussen is minder relevant dan de bepaling van bacterieconcentraties. Bij onderzoek naar besmettingsrisico in de operatiekamer (OK) richten wij ons daarom voornamelijk op bacteriën die in staat zijn zich te vermenigvuldigen; dit wordt uitgedrukt in het aantal kolonievormende eenheden (kve). De microbiologische luchtkwaliteit wordt uitgedrukt in kve/m^3 .

Ter bepaling van het aantal kve in een niet schone ruimte worden van een luchtmonster de stofdeeltjes afgevangen in een voedingsbodem en bij lichaamstemperatuur op kweek gezet. Door telling van de tot vermenigvuldiging gekomen bacteriën wordt het aantal kve gerelateerd aan het bemonsterde luchtvolume om het aantal kve/m^3 te bepalen. Afhankelijk van de bemonsteringstechniek wordt slechts een deel van de deeltjes effectief afgevangen. Dit wordt uitgedrukt in de 'efficiency' van de meetmethode. Wanneer de efficiency laag is wil dat nog niet zeggen dat de meetmethode slecht is; de uitkomst kan hiervoor worden gecorrigeerd wanneer het efficiencygetal altijd constant blijft. Wel moet bij een lage efficiency meer lucht worden bemonsterd om tot dezelfde meetnauwkeurigheid te komen.

Bij de metingen doet zich verder het probleem voor dat er altijd slechts een gering luchtvolume bemonsterd kan worden hetgeen de meetnauwkeurigheid nadelig beïnvloedt. Enerzijds mag de luchtsnelheid langs een voedingsbodem niet te hoog zijn en anderzijds mag de tijdsduur niet te lang zijn i.v.m. mogelijk uitdroging van de voedingsbodem en afsterven van de gevangen bacteriën. Juist bij lage bacterieconcentraties is het daarom moeilijk om een hoge nauwkeurigheid te behalen. Immers, wanneer niet meer dan $1/3 \text{ m}^3$ lucht wordt bemonsterd en de kiemconcentratie bedraagt $< 10 \text{ kve/m}^3$ dan kan het aantal kve slechts met een nauwkeurigheid van 3 worden bepaald.

3.1.2 Methoden

De volgende meetmethoden zijn te onderscheiden.

- 1) **Sedimentatie methode**
Petrischaaltjes, gevuld met een voedingsbodem voor bacteriën (agar) worden op de grond of op de operatietafel neergezet. Bij deze methode worden alleen de grotere deeltjes opgevangen.
- 2) **Cellulose-nitraat filter**
Luchtbemonstering vindt plaats via een cellulose-nitraat filter dat na de bemonstering op een agar plaat wordt gedrukt. Het aangezogen luchtdebiet bedraagt slechts 50 l/h en de efficiency is zeer laag. Deze methode is derhalve ongeschikt.
- 3) **Gelatine-membraan filter (Sartorius)**
Bemonstering vindt plaats via een gelatine-membraan filter dat daarna op een agar wordt geplaatst. Het debiet bedraagt 2,5-8 m³/h. De efficiency is > 50% bedragen. Nadeel van deze methode is dat er ophoping van micro-organismen plaatsvindt waardoor het koloniegetal per m³ lucht moeilijk te bepalen is.
- 4) **Membraan filter**
Luchtbemonstering vindt plaats via een membraanfilter met bekende maaswijdte (b.v. 0,45 mm). Na bemonstering wordt het filter in een vloeistof onder trilling gereinigd waarna de vloeistof onderzocht wordt. Het luchtdebiet bedraagt 100 l per minuut, zodat in 5 minuten 0,5 m³ kan worden bemonsterd met een efficiency van 90%. Apparatuur om te bemonsteren is bij TNO-Bouw aanwezig. Deze methode lijkt voor ons doel goed bruikbaar.
- 5) **Impingers**
Hierbij wordt in een glazen buis lucht met hoge snelheid door een vloeistof met 0,9% fysiologisch zout en 10% glycerol geleid. De vloeistof dient te worden gekoeld om vermenigvuldiging van kiemen tegen te gaan. Het luchtdebiet bedraagt 15 l per minuut. In 30 minuten kan zodoende 0,45 m³ lucht worden bemonsterd met een efficiency van 60 à 80%. Een goede methode waarbij de bemonsteringstijd echter vrij lang is om een redelijke nauwkeurigheid te verkrijgen.
- 6) **RCS-rotation centrifuge**
M.b.v. een ingebouwd ventilatorpje wordt lucht aangezogen en centrifugaal langs een agarstrip geblazen. De lucht wordt in dezelfde richting uitgeblazen als waar wordt aangezogen. De stroming in de ruimte wordt daarmee beïnvloed. Door deze eigenschap in combinatie met een efficiency van minder dan 1% is deze methode ongeschikt.
- 7) **Slit-samplers**
Hierbij wordt de lucht via een luchtspleet over een langzaam ronddraaiende petrischaal met voedingsbodem geleid. Hierdoor is het mogelijk een verloop in de kiemaantallen vast te leggen als functie van de tijd. De efficiency bedraagt ca $\geq 50\%$, afhankelijk van het type micro-organisme.
- 8) **Anderson Microbiële Sampler (AMS)**
De aangezogen lucht wordt met een luchtdebiet van 28,3 l per minuut, geselecteerd naar deeltjesgrootte over petriplaatjes met voedingsbodem geleid. Het aantal kve kan zodoende gekoppeld worden aan de deeltjesgrootte. Er is van fabriekswege een uitvoering met 2-traps-filtering of 6-traps-filtering verkrijgbaar. De reproduceerbaarheid van de Anderson 2-traps uitvoering is groter dan van de 6-traps uitvoering. Gegevens over de efficiency per trap is bij de 6-traps uitvoering niet bekend.
Bij een bemonsteringstijd van 15 minuten wordt een luchtvolume van 0,44 m³ bemonsterd. Bij een efficiency van 10-60% is de te bereiken nauwkeurigheid zodoende niet hoog. Desondanks wordt deze meetmethode in de literatuur aangeprezen als de meest betrouwbare in ruimten met lage kiemconcentraties.

3.1.3 Voor het onderzoek aangepaste Anderson samplers

In overleg met TNO-Voeding die het bacteriologisch onderzoek heeft uitgevoerd, is gekozen voor de AMS omdat hiermee de grootste betrouwbaarheid valt te verwachten [6]; [13]. In samenwerking met de leverancier werd een 3-traps Anderson in rvs-uitvoering ontwikkeld waarbij de gevangen deeltjes in drie trappen op grootte worden verdeeld: 0,6 / 3 / >7 μm . Zodoende is het mogelijk het aantal gevonden kve te koppelen aan de deeltjesgrootte. De waarden zijn gekozen om een zo goed mogelijke overeenkomst te hebben met de toegepaste deeltjestellers die als meetbereiken 0,3 en >3 μm hebben. De waarde >7 μm is toegevoegd om met dezelfde AMS ook gisten en schimmels te kunnen detecteren. Er waren tijdens het onderzoek 6 stuks AMS beschikbaar. De efficiency van deze samplers bedraagt 70%

3.1.4 Vrije bacteriën

Voor onderzoek naar verspreiding van bacteriën is het ook mogelijk deze kunstmatig in de ruimte op te wekken [5]. Men gaat daarbij uit van een vrijwel stofvrije ruimte, zoals in de cleanroom van TNO-Bouw. De bacteriesoorten 'Stafylokokken Aureus' of 'Bacillus Subtilis sporen' worden m.b.v. een schone vloeistof verstoven in de ruimte. Wanneer de aerosoles zijn verdampt zweven de bacteriën (zonder deeltjes als drager) vrij door de ruimte. Wanneer vervolgens deeltjestelling wordt toegepast en de ruimte verder schoon is zullen de getelde deeltjes uitsluitend uit bacteriën bestaan. Zodoende kan bacterietransport zonder kweekmethoden worden toegepast. Deze methode is in een vooronderzoek toegepast om de vangstefficiëncy van de AMS te bepalen.

3.1.5 Sedimentatiemethode

Om te bepalen in hoeverre bacteriedragende deeltjes in staat zijn op een horizontaal oppervlak neer te slaan wordt gebruik gemaakt van de sedimentatiemethode waarbij een petrischaaltje met een voedingsbodem (agar) op het vlak (b.v. het wondgebied op de operatietafel) geplaatst. Men onderscheid drie soorten agar:

- TSA (Trypton Soya Agar), voedingsbodem voor alle bacteriën
- MSA (Manitol Salt Agar), voedingsbodem voor alleen huidbacteriën
- DG18 (Dichloran-18%-Glycerol-Agar), voedingsbodem voor gisten en schimmels

De gevonden bacterieconcentraties worden uitgedrukt in kve/(m².h)

3.2 Deeltjesmeting

Ter bepaling van de deeltjesconcentraties in de cleanroom werd gebruik gemaakt van 15 stuks Laser Particle Counter (LPC) van het merk Met-One, type R4803 met een meetbereik van $\geq 0,3 \mu\text{m}$ en $\geq 3 \mu\text{m}$. Deze waarden zijn met de volgende overwegingen gekozen:

- Uit de literatuur blijkt dat bacteriën slechts te verwachten zijn op deeltjes $\geq 3 \mu\text{m}$.
- De waarde van $0,3 \mu\text{m}$ is gericht op onderzoeken waarbij transport van alle deeltjes $\geq 0,3 \mu\text{m}$ van belang wordt geacht. Omdat er altijd veel meer kleine deeltjes dan grotere aanwezig zijn en deze beide nagenoeg dezelfde beweging volgen, kan het bacterie-transport wellicht beter gevolgd worden door de beweging van de kleine deeltjes na te gaan.

De meetresultaten werden automatisch verwerkt m.b.v. een meegeleverd meetprogramma waarmee de deeltjestellers per minuut konden worden uitgelezen. De meetgegevens konden vervolgens in spreadsheet programma worden verwerkt.

Daarnaast werd nog gebruik gemaakt van een losse LPC, eveneens van het merk Met-One (type 237) waarmee de deeltjesgrootteverdeling

Het aangezogen luchtdebiet was bij alle LPC's ingesteld op ca 2,83 l/minuut. Tijdens het onderzoek werd dit debiet regelmatig gecontroleerd en de meetuitkomsten werden voor eventuele (binnen de opgegeven marges) afwijkingen gecorrigeerd.

4. In 1996 verricht vooronderzoek

In 1996 werd een vooronderzoek gedaan naar de concentraties van bacteriën en deeltjes in de cleanroom van TNO Bouw bij een luchttoevoer van 2070 m³/uur en een downflow-snelheid van 0,2 m/s. Het doel van het onderzoek was het leren omgaan met en beproeven van de gekozen meetapparatuur ter bepaling van de deeltjes- en bacterieconcentraties in de lucht. De resultaten zijn reeds gerapporteerd in [4].

Uit het onderzoek bleek het volgende.

- De concentratie aan micro-organismen (huidbacteriën) in de lucht moet hoger zijn dan 10 kve/m³, wil men een reproduceerbare meting kunnen uitvoeren. Proeven met twee schaars geklede, fietsende proefpersonen gaven een concentratie van micro-organismen te zien van ca. 3 kve/m³ lucht. Tijdens de proeven nam de deeltjesconcentratie in de lucht af. Dit werd veroorzaakt doordat de proefpersonen tijdens het fietsen begonnen te transpireren. Hierdoor wordt de huid vochtig (sluit af) waardoor bacterie- en deeltjesafgifte minder wordt.
- Proeven met 10 proefpersonen gaven een concentratie van micro-organismen te zien van 60 tot 250 kve/m³ lucht. De concentratie aan micro-organismen in de lucht was sterk afhankelijk van de intensiteit van de bewegingen en de mate van conversatie. De gevonden verhouding micro-organismen / deeltjes (>3 µm) bedroeg ca. 1:100.
- Proeven met ongefilterde buitenlucht gaven een concentratie van micro-organismen te zien van 10 tot 100 kve/m³ lucht (3 µm en groter). De deeltjesconcentratie was 10⁵ deeltjes/m³ lucht (3 µm en groter). De verhouding micro-organismen / deeltjes (>3 µm en groter) bedroeg ca. 1:1000.
- Uit proeven met vrije bacteriën blijkt dat de afvang-efficiëntie van de AMS voor *Bacillus subtilis globigii*-sporen met een diameter van ca. 2 µm, >70% en voor micro-organismen van 4 µm en groter (gisten en schimmels) ca. 50% bedraagt.
- Tijdens het onderzoek bleek dat de deeltjes/bacterie-afgifte van de proefpersonen in de tijd nogal varieerde. Nadere uitwerking leerde dat dit mogelijk verband hield met de temperatuur en relatieve vochtigheid van de toevoerlucht in de cleanroom die niet voldoende constant bleven. Geconcludeerd werd dat bij toenemende temperatuur en/of vochtigheid mogelijk transpiratie kan optreden waardoor minder deeltjes en bacteriën aan de omgeving worden afgegeven. Bij verder onderzoek behoeft dit nadere aandacht.
- Uit het onderzoek kwam verder de overweging naar voren dat kleine deeltjes die de luchtbeweging nagenoeg geheel volgen minder kans hebben om in het wondgebied neer te slaan dan grotere deeltjes die van het hoofd van de chirurg loslaten en t.g.v. de zwaartekracht wellicht eerder in het wondgebied kunnen sedimenteren. Bij vervolgonderzoek dienen daarom ook petrischaaltjes op meerdere locaties in de cleanroom te worden geplaatst om deze zwaardere deeltjes te kunnen vangen.

5. Toegepaste kledingsoorten

Uit hygiënisch oogpunt wordt in de operatiekamer speciale kleding gedragen waarmee de afgifte van deeltjes en bacteriën wordt beperkt. De toegang van het personeel naar het operatiecomplex vindt plaats via een omkleedsluis waar de bovenkleding wordt vervangen door een schoon tweedelig pak met muts en mondmasker, ook wel omloopkleding genoemd. Daarnaast wordt speciaal schoeisel (klompen) gedragen dat bij een goede discipline na éénmalig gebruik wordt gereinigd. Bezoekers die niet tot het vast personeel behoren dragen veelal plastic hoesjes over hun eigen schoeisel. In dit tenue mogen alle ruimten binnen het operatiecomplex worden betreden (zie Figuur 4 omloopkleding met kleine muts en schoenhoezen). Tijdens het onderzoek waren niet genoeg klompen beschikbaar om alle proefpersonen hiermee uit te rusten. Daarom werd eigen schoeisel met plastic hoesjes gedragen (behalve bij de cleanroom-pakken). In de OK's zijn tijdens een operatie twee zones te onderscheiden, het operatiegebied en de omloopruimte of periferie. Het operatieteam dat meestal uit 3 of 4 personen bestaat, draagt over de omloopkleding een steriel operatiepak alsmede steriele handschoenen (zie Figuur 5). Omdat het overige personeel, zonder steriele kleding niet binnen het operatiegebied maar er slechts omheen (in de periferie) mag verblijven spreekt men over omloopkleding. Ook de anesthesist draagt meestal ook slechts omloopkleding. Het is bekend dat de deeltjesafgifte van gewassen kleding anders kan zijn dan van nieuwe kleding. Dit aspect is meegenomen in het onderzoek. Van zowel de omloopkleding als de operatiepakken waren zowel nieuwe als gewassen exemplaren beschikbaar; de laatste waren ca 75 maal gewassen (het maximaal aantal toelaatbare wasbeurten).

Er wordt nog onderscheid gemaakt tussen twee, in het onderzoek betrokken mutsen. Bij de omloopkleding worden veelal kleine mutsen en door het operatieteam meer gesloten (operatie)mutsen gedragen. Bij de cleanroompakken worden uiteraard de daarbij behorende mutsen gedragen.



Figuur 4 omloopkleding met kleine muts en schoenhoezen



Figuur 5 operatiekleding met operatiemuts en schoenhoezen

Omdat het onderzoek mede gericht is op mogelijke verbeteringen in de huidige kledingdiscipline zijn ook metingen verricht waarbij de proefpersonen cleanroom-kleding droegen omdat verwacht mag worden dat deze een nog betere bescherming tegen deeltjesafgifte biedt als de gebruikelijke operatiekleding. De volgende kledingwijzen zijn in het onderzoek betrokken.

- volledige re-usable cleanroompakken (zie Figuur 6), waarbij nog slechts een gedeelte van het gelaat ontbloot blijft. In de praktijk wordt daar overheen ook nog een gelaatsmasker gedragen.
- dezelfde cleanroompakken, echter met conventionele operatiemuts (zie Figuur 7)
- disposable cleanroompak (zie Figuur 8).



Figuur 6 complete re-usable cleanroompakken