

Vilja Juvonen

**ILMAN MIKROBIOLOGISEN LAADUN  
SEURANTA LÄÄKINNÄLLISTEN LAIT-  
TEIDEN TUOTANNON PUHDASTI-  
LOISSA**

Kandidaatintyö  
Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta  
Tarkastaja: Johanna Rinta-Kanto  
Maaliskuu 2021

# TIIVISTELMÄ

Vilja Juvonen: Ilman mikrobiologisen laadun seuranta lääkinnällisten laitteiden tuotannon puhdistiloissa

Kandidaatintyö

Tampereen yliopisto

Bioteknologian ja biolääketieteen tekniikan tutkinto-ohjelma

Maaliskuu 2021

---

Lääkinnällisten laitteiden tuotannossa ympäristöstä ja ihmisistä peräisin olevat mikrobit voivat aiheuttaa tuotteiden pilaantumista tai käyttäjien terveyden vaarantumista. Tässä työssä selvitetiin ilman mikrobiologisen laadun mittaamenetelmiä ja keinoja vähentää prosessien ja tuotteiden kontaminaatoriskiä lääkinnällisten laitteiden tuotannossa.

Lääkinnällisiä laitteita tuotetaan useimmiten puhdistiloissa, joiden tarkoituksena on varmistaa tuotannolle tarvittavan puhtaat olosuhteet. Hiukkasten pääsyä ja niiden esiintymistä pyritään pitämään alhaisena valvotusti. Työn teoriaosuudessa esitellään puhdistilojen erityispiirteitä ja luokittelua sekä perehdytään ilman mikrobiologiseen laatuun vaikuttaviin asioihin. Samalla esitellään seurannan suuri rooli kontaminaatoriskin hallinnassa. Tämän jälkeen keskitytään lääkinnällisten laitteiden tuotannossa yleisesti käytettäviin ilman mikrobiologisen laadun mittaamenetelmiin. Käytetyimmät mittaamenetelmät ovat mikrobiologiset mikrobien viljelyyn perustuvat menetelmät sekä näitä tukevat hiukkaspitoisuuksien mittaukset.

Työssä otettiin tarkasteluun erään lääkinnällisiä laitteita valmistavan yrityksen mittaamenetelmät ja ilman mikrobiologisen laadun seuranta. Konkreettisia tuloksia lokakuussa 2020 suoritetuista mittauksista käytettiin hyödyksi arvioitaessa menetelmien tehokkuutta ja toimivuutta kyseisissä prosesseissa. Työn lopussa annetaan kirjallisuuskatsauksen ja tulosten analysoinnin pohjalta kehitysehdotuksia ilman mikrobiologisen laadun seurannalle esimerkkilaboratoriossa. Kehitysehdotuksia voidaan hyödyntää myös muiden alan toimijoiden tuotantoon. Lisäksi pohditaan alan tulevaisuuden näkymiä mittaamenetelmien ja seurannan yhtenäistämisen kannalta.

Avainsanat: ilmanlaatu, mikrobit, puhdistila, lääkinnällisten laitteiden tuotanto

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla

# SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO .....	1
2. PUHDASTILAT JA ILMANLAATU .....	2
2.1 Puhdastilojen luokittelu ja alan vaatimukset .....	2
2.2 Puhdastilasta mitattavat parametrit .....	3
2.2.1 Puhdastilan mikrobit.....	4
2.2.2 Ilman hiukkaspitoisuus.....	5
2.3 Vaikuttaminen ilman mikrobiologiseen laatuun.....	5
2.3.1 Mikrobin kulkeutuminen puhdastilaan .....	6
2.3.2 Ilman mikrobiologisen laadun seuranta .....	6
3. ILMAN MIKROBIOLOGISEN LAADUN MITTAUSMENETELMÄT.....	8
3.1 Mikrobiologiset menetelmät.....	8
3.1.1 Mikrobin kasvatustilalla.....	9
3.1.2 Laskeumamaljojen käyttö.....	11
3.1.3 Mikrobin tunnistus.....	11
3.2 Fysikaaliset mittarit.....	12
4. TULOKSET.....	14
4.1 Laskeumamaljojen tulokset.....	14
4.2 Hiukkaspitoisuusmittareiden tulokset .....	16
5. TULOSTEN TARKASTELU.....	19
5.1 Laskeumamaljojen tulosten tarkastelu ja hälytysrajojen asettaminen .	19
5.2 Hiukkaspitoisuusmittareiden tulosten tarkastelu .....	22
5.3 Mittausmenetelmien keskinäinen vertailu .....	23
5.4 Mahdolliset virhelähteet .....	24
6. SEURANNAN KEHITTÄMINEN .....	25
7. JOHTOPÄÄTÖKSET .....	27
LÄHTEET .....	29

# 1. JOHDANTO

Mikrobeja on kaikkialla elollisessa maailmassa. Ilman mikrobiologisen laadun mittausmenetelmien tunteminen ja niiden hyödyntäminen ilmanlaadun hallinnassa auttavat varmistamaan mikrobeille alttiiden tuotteiden ja prosessien laatua tältä osin.

Huoneita, joissa ilman hiukkasmäärää valvotaan ja partikkelien pääsyä ja niiden esiintymistä pyritään pitämään alhaisena, kutsutaan puhdastiloiksi. Puhdastiloja käytetään useilla eri aloilla, joissa prosessien, tuotannon tai tuotteiden puhtaus on tärkeää. Niissä voidaan valmistaa lääkkeitä ja lääkinnällisiä laitteita sekä elintarviketeollisuuden ja bioteollisuuden tuotteita tai niissä voidaan suorittaa leikkauksia. Tällöin korkealla ilmanlaadulla pyritään estämään mikrobikontaminoituminen ja ihmisten altistuminen haitallisille mikrobeille ja muille epäsuotuisille aineille. (SFS-EN 17141:2020) Lisäksi puhdastiloilla on tärkeä asema elektroniikka- ja optiikkateollisuudessa sekä avaruustekniikassa. Näissä sovelluksissa korkea ilmanlaatu on tärkeää, sillä jo pienet pitoisuudet hiukkasia voivat vaikuttaa valmistettävien tuotteiden ominaisuuksiin ja heikentää niiden toimivuutta ja luotettavuutta. (Whyte 2001, Moissl-Eichinger et al. 2015)

Tämän kandidaatintyön tarkoituksena on perehtyä puhdastilojen ilman mikrobiologisen laadun tutkimiseen ja seurannan toteuttamiseen lääkinnällisten laitteiden tuotannossa. Ilman mikrobiologisella laadulla tarkoitetaan tässä työssä mikrobien pitoisuutta puhdastilan ilmassa ja niiden tuotteita ja prosesseja pilaavia sekä käyttäjille haitallisia ominaisuuksia. Lääkinnälliset laitteet ovat laaja kokonaisuus kattaen kaikki instrumentit, laitteistot, välineet, ohjelmistot, materiaalit ja muut tarvikkeet, joita käytetään terveydenhuollon sovelluksissa tautien, vammojen ja haittojen diagnosoinnissa, seurannassa ja hoidossa, sekä fysiologisten prosessien ja anatomian tutkimisessa (EurLex 1993). Työssä erään lääkinnällisiä laitteita valmistavan yrityksen ilmanlaadusta kertovia tuloksia analysoidaan ja niitä sovelletaan ilman mikrobiologisen laadun seurannan kehittämiseen.

Luvussa 2 tutustutaan puhdastiloihin ja niiden luokitteluun, ilman mikrobiologiseen laatuun vaikuttamiseen sekä puhdastiloissa yleisesti tehtävään seurantaan. Luvussa 3 esitellään ilman mikrobiologisen laadun mittausvaihtoehtoja, joita käytetään esimerkkilaboratoriossa. Luvussa 4 käsitellään mittausmenetelmillä saatavia tuloksia. Luvussa 5 analysoidaan näitä tuloksia ja tarkastellaan tulosten virhelähteitä. Luvussa 6 esitetään kehitysehdotuksia esimerkkilaboratorion ilman mikrobiologisen laadun seurantaan. Lisäksi pohditaan hieman alan tulevaisuuden näkymiä. Työn lopussa ovat yhteenveto ja lähde luettelo.

## 2. PUHDASTILAT JA ILMANLAATU

Kansainvälisen standardointijärjestöjen liiton (ISO) standardissa 14644-1 määritellään, että puhdastila on ”huone, jonka ilman hiukkaspitoisuus on luokiteltu, jonka hiukkaspitoisuutta valvotaan ja joka on suunniteltu ja rakennettu siten ja jota käytetään sellaisella tavalla, että hiukkasten pääsy, kerääntyminen ja säilyminen huoneen sisällä on valvottua”. Ilmanlaatu puolestaan ”ilmaisee ilman epäpuhtauksien pitoisuudet, laskeumien suuruudet, ohje-, tai raja-arvoihin vertailtuja tunnuslukuja” (Tieteen termipankki 2021).

### 2.1 Puhdastilojen luokittelu ja alan vaatimukset

Puhdastilat jaetaan standardissa ISO 14644-1:2015 yhdeksään puhtausluokkaan ilman hiukkaspitoisuuden mukaisesti. Standardissa on annettu puhdastilan luokitusmittausten suoritukseen määräykset, jotka käsittävät muun muassa näytteenottokohtien lukumäärän, näytteenottokohtien sijainnin, näytteiden vähimmäistilavuuden ja mittalaitteiston vaatimukset. Taulukossa 1 on esitelty näiden puhtausluokkien hiukkasmäärien raja-arvot. Jokaisen määritellyn hiukkaskoon enimmäispitoisuus kattaa hiukkaset, jotka ovat kooltaan yhtä suuria tai suurempia kuin kokoluokka. (ISO 14644-1:2015)

**Taulukko 1.** Puhdastilaluokitus standardin ISO 14644-1:2015 mukaan.

ISO-luokka	Suurimmat kokoluokan ja sitä suurempien hiukkasten hiukkaspitoisuudet (hiukkasta/m <sup>3</sup> )					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
1	10					
2	100	24	10			
3	1 000	237	102	35		
4	10 000	2 370	1 020	352	83	
5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	
6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
7				352 000	83 200	2 930
8				3 520 000	832 000	29 300
9				35 200 000	8 320 000	293 000

Standardin ISO 14644-1:2015 mukaisesti jokaisen luokan kohdalla osalle hiukkaskoon määrälle ei ole annettu raja-arvoa, sillä kaikkien taulukoitujen hiukkaspitoisuuksien mittaaminen ei ole relevanttia hiukkasten liian pienten ja suurten määrien tai tulosten epävarmuuden takia. Raja-arvot on asetettu kunkin luokan kannalta oleellisille hiukkaskoille. Standardin mukaan mittausten suoritukseen ja puhdastilan luokitteluun riittää se, että tarkasteluun otetaan yksi kyseisen luokan määrittelyyn käytettävä partikkelikoko. Kuitenkin tarkasteluun voidaan ottaa myös useampi hiukkaskoko, jolloin jokaisen tarkasteltavan hiukkaskoon halkaisijan tulee olla vähintään 1,5-kertainen verrattuna seuraavaksi pienempään halkaisijaan. Luokitusmittausten parametrit ja mittaustulokset tulee kirjata ylös ja arkistoida. Luokituksen liittyvät mittaukset tulee toistaa tarpeeksi usein ISO-luokan vaatiman puhtauden varmistamiseksi. (ISO 14644-1:2015) Luokituksen mukaisia testiolosuhteita ja vaatimuksia voidaan soveltaa myös puhdastilan ilman puhtauden jatkuvaan seurantaan.

Puhdastilan käyttöönottoa ja käyttöä varten tila voidaan luokitella kolmessa eri olotilassa, jotka ovat ”rakennusvalmis”, ”lepotila” ja ”toiminnassa” (ISO 14644-1:2015). Luokittelu määritetään eri olotiloille erikseen ja kulloisenkin olotilan ISO-luokitus pätee vain tässä nimetyssä olotilassa. Usein on perusteltua luokitella puhdastila ”toiminnassa”-tilassa, jolloin luokitus pätee puhdastilassa työskenneltäessä ja tuotteita valmistettaessa. Rakennusvalmis-olotila palvelee puhdastilan rakentajaa, haltijaa ja tulevaa käyttäjää puhdastilan rakennusvaiheessa tai tilan käyttötarkoituksen muutoksessa. Lepotila-luokitusta käytetään toiminnan valmiustilan luokitteluksi. Luokituksella kerrotaan hiukkaspitoisuuksista esimerkiksi työvuorojen välisten taukojen aikana.

## **2.2 Puhdastilasta mitattavat parametrit**

Mikrobi eli mikro-organismi on mikroskooppinen eliö. Mikrobeihin luetaan muun muassa bakteerit, homeet ja virukset. Vaikka mikrobiologisia raja-arvoja lääkinnällisten laitteiden puhdastiloille ei ole asetettu EU-direktiivien muodossa, tuotteiden kannalta ilman mikrobiologisen koostumuksen tutkiminen on ensiarvoisen tärkeää. (SFS-EN 17141:2020) Mikrobiologista koostumusta voidaan tutkia mikrobiologisilla menetelmillä, jotka kertovat mikrobien laadusta ja määrästä, mutta myös epäsuorasti mittaamalla ilman hiukkaspitoisuutta.

Ilman mikrobiologista koostumusta voidaan arvioida myös mittaamalla ilman haihtuvia orgaanisia yhdisteitä, joista käytetään myös lyhennettä VOC (engl. volatile organic compounds). Osa näistä yhdisteistä on peräisin mikrobien aineenvaihdunnasta. Tuntemalla puhdastilojen yleisimpiä mikrobeja ja näiden metaboliareittejä, voidaan VOC-koostumusten avulla arvioida mikrobien määrää ilmassa. Tällöin tulee tuntea tilassa käsiteltävien

aineiden koostumus. Niitä ovat muun muassa desinfiointi- ja siivousaineiden sekä tuotantoprosessiin liittyvät aineet. Näin voidaan olla varmoja, mitkä orgaaniset yhdisteet ovat peräisin mikrobeista. Myös työntekijöiden mahdolliset metaboliatuotteet tulee ottaa huomioon tässä tarkastelussa. VOC-yhdisteet voivat myös toimia mikrobien kasvualustoina, tai kuljettaa mukanaan ilmassa mikrobiologisia aineita. (Pluschke 2004 s. 128-130) VOC-yhdisteiden käyttö ilman mikrobiologisen laadun indikaattoreina jätetään kuitenkin tässä työssä tarkastelematta.

Puhdastilasta voidaan ilman mikrobiologiseen laatuun liittyvien parametrien lisäksi seurata myös monia muita parametrejä, jotka vaikuttavat välillisesti tai välittömästi tiloissa valmistettavien tuotteiden puhtauteen. Näistä tärkeimpiä ovat ilmastointijärjestelmän toimintaan liittyvät parametrit (Figuerola-Tejerina et al. 2020). Puhdastilan painetta tulee seurata sen varmistamiseksi, että ilma liikkuu puhdastiloissa ja niiden ympäristössä aina puhtaammasta vähemmän puhtaaseen suuntaan (ISO 14644-2:2015, Haider et al. 2018). Puhdastiloissa yleisesti käytettävien HEPA- eli korkean hyötysuhteen hiukkasilmasuodattimien toimivuus voidaan todeta pienimpien kokoluokkien partikkelimääriä tutkimalla. Myös lämpötilan ja ilmankosteuden seuranta on tärkeää. (Figuerola-Tejerina et al. 2020) Lisäksi partikkelien kemiallista koostumusta voidaan tutkia (Pluschke 2004).

## 2.2.1 Puhdastilan mikrobit

Mikrobit ovat hyvin monimuotoisia ja niiden elinolosuhteet vaihtelevat laajasti. Mikrobeja luokittelevia ominaisuuksia ovat esimerkiksi metabolian lähtöaineet ja tuotteet, pH-arvo, lämpötila, jossa mikrobit parhaiten viihtyvät, sekä vapaan veden määrä, jonka mikrobi tarvitsee selviytyäkseen (Pluschke 2004 s. 153-155). Puhdastilojen ominaisuudet ja kunnonapito vähentävät huomattavasti elävien mikrobien määrää verrattuna normaaliin sisäilmaan, mutta eivät niiden kirjoa (Mahnert et al. 2015, Moissl-Eichinger et al. 2015).

Puhdastilan mikrobeista suurin osa on bakteereja, mutta myös sieniä sekä viruksia havaitaan pienissä määrin. Puhdastilojen mikrobiomien tutkimuksissa on käytetty pinta-näytteiden DNA-sekvensointia, jonka jälkeen DNA:ta on verrattu tunnettujen mikrobikantojen DNA:han. Koska mikrobeja kulkeutuu puhdastiloihin ihmisten mukana, myös patogeenisiä eli ihmisille haitallisia mikrobeja havaitaan puhdastiloissa. (Weinmaier et al. 2015, Bashir et al. 2016) Osa puhdastiloihin pääsevistä mikrobeista kykenee sopeutumaan vaikeaan puhdastilaympäristöön muun muassa hidastamalla aineenvaihduntaansa (Mora et al. 2016). Näin mikrobit pystyvät elämään niille vaikeissa olosuhteissa vähällä ravinnolla ja vedellä. (Weinmaier et al. 2015).

Puhdastilan mikrobistoon vaikuttavat käyttäjät ja heidän mikrobiominsa sekä maantieteellinen sijainti ja paikalliset ekosysteemit. Tutkimuksissa, joissa puhdastilojen mikrobeja on tunnistettu, on maantieteellisestä hajanaisuudesta huolimatta löydetty muun muassa *Acinetobacter* - sekä *Staphylococcus* -suvun bakteereita. *Acinetobacter* -suvun bakteerit ovat hyvin vaatimattomia elinolosuhteiltaan, ne kestävät useita desinfiointiaineita ja selviävät vaihtelevassa lämpötilassa. Myös *Staphylococcus* -suvun bakteerit ovat tehokkaita selviytyjiä ja esimerkiksi lyhytaikainen lämpötilan nousu ei tapa niitä. Molempien bakteerisukujen bakteerilajien kannoista osa on patogenejä. (Moissl-Eichinger et al. 2015, Bashir et al. 2016)

## 2.2.2 Ilman hiukkaspitoisuus

Ilman partikkelimäärä ei itsessään kerro mikrobien määrästä ilmassa. Toisaalta eri kokoluokkien partikkelimäärien laskentaa pidetään hyödyllisenä toimenpiteenä tunnistaa biokontaminaation esiintyminen puhdastiloissa. Seuraamalla eri kokoluokkien partikkelimäärien kehitystä säännöllisesti ja usein, voidaan riskiä mikrobikontaminaatioon arvioida. (Wong et al. 2018, Figuerola-Tejerina et al. 2020).

Puhdastilasta mitattavat partikkelit voidaan kokonsa mukaan jakaa erilaisiin luokkiin. Yleisesti käytettävät luokat ovat hiukkaset, jotka ovat alle 0,1 µm, alle 2,5 µm tai alle 10 µm halkaisijaltaan (Pluschke 2004 s. 121-122, CEN/TS 16115-1:2011). Näitä merkitään yleisesti lyhenteillä PM<sub>0,1</sub>; PM<sub>2,5</sub> ja PM<sub>10</sub>. Lyhenteiden kirjainosa tulee englanninkielisistä sanoista "particulate matter". Näihin luetaan kaikki ilman kiinteät ja nestemäiset hiukkaset, jotka voivat olla orgaanisia tai epäorgaanisia. Todellisuudessa hiukkasten muoto vaihtelee laajasti ja jako kokoluokkiin perustuu suhteelliseen halkaisijaan, joka voidaan määrittellä aerodynaamisena halkaisijana, valonsironnan avulla tai massaekvivalenttina halkaisijana (Pluschke 2004 s. 123, ISO 14644-1:2015).

## 2.3 Vaikuttaminen ilman mikrobiologiseen laatuun

Puhdastilan suunnittelulla ja rakennuksella on suuri merkitys ilmanlaatuun ja mikrobien määrään tilassa. Tämän lisäksi työskentelyn käytänteet sekä ilmanlaadun seuranta ja sen kautta löydettävät ilmanlaatua edistävät toimenpiteet ovat avainasemassa tuotteiden laadun varmistamisessa.



### 2.3.1 Mikrobiein kulkeutuminen puhdistilaan

Puhdistilan suunnittelu- ja rakennusvaiheessa tärkeänä kriteerinä pidetään ilmastointijärjestelmän tehokkuutta. Ilmastointiin luetaan suodatus, ilmanvaihto ja paineistus. Hiukkasten pääsy tilaan ilman mukana tulee olla mahdollisimman alhainen ja puhdistilassa olevat hiukkaset tulee poistaa tilasta tehokkaasti ja nopeasti. (Figuerola-Tejerina et al. 2020) Lisäksi rakennus- ja kalustemateriaalit tulee valita sellaisiksi, että ne eivät ole huokoisia ja edistä mikrobiein kasvamista pinnoilla tai rakenteissa. Niiden tulee kestää steriloimista ja olla helposti puhdistettavissa. (Tamburini et al. 2015) Myös työskentelyssä käytettävän laitteiston tulee täyttää tavoitellun ilmanlaadun vaatimukset (Whyte 2001).

Puhdistilan käytön aikana tilaan kulkeutuu suojaustoimista huolimatta partikkeleita ihmisten, välineiden ja tarvikkeiden mukana. Henkilökunnan tuomat mikrobit ovat lähtöisin iholta, suusta sekä vaatetuksesta. Mikrobiologisten partikkelien määrään voidaan huomattavasti vaikuttaa peittäväällä, puhdistiloihin suunnitellulla puhtaalla vaatetuksella, maskien ja käsineiden käytöllä sekä erillisillä pukutiloilla puhdistilan ulkopuolella. (Ljungqvist & Reinmuller 2005) Myös tarkka ja järjestelmällinen siivous, desinfiointiaineiden käyttö ja puhdistilavaatteiden usein suoritettava pesu vähentävät elävien partikkelien määrää puhdistilassa (Ljungqvist & Reinmuller 2005, Mora et al. 2016). Työskentelyssä tarvittavien välineiden ja materiaalien sterilointi ja hyvin suunniteltu läpientokaappien läpi tapahtuva toimitus minimoivat omalta osaltaan ilman mikrobiologisten hiukkasten pitoisuutta (Whyte 2001).

### 2.3.2 Ilman mikrobiologisen laadun seuranta

Puhdistilassa kontaminaation riskienhallinta on avainasemassa tuotteen puhtauden varmistamiseksi ja laadun parantamiseksi (SFS-EN 17141:2020). Puhdistilassa käytettyjä riskienhallintatyökaluja ovat esimerkiksi *Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)*, *Failure Mode and Effect Analysis (FMEA)*, sekä *Fault Tree Analysis (FTA)*. Peruseriaate riskienhallinnassa on tunnistaa vaaran eli tässä tapauksessa kontaminaation lähteet ja reitit. Sen jälkeen arvioidaan tunnistettujen riskien suuruutta. Riskin suuruus määritellään riskin vakavuuden ja todennäköisyyteen tulona. Mitä suurempi riski on, sitä tärkeämpää sitä on hallita. Näiden riskien hallitsemiseksi tulee puhdistiloihin suunnitella ja käyttöönottaa seuranta, sekä ylläpitää sitä. Lisäksi riskinarvioinnista ja -hallinnasta sekä seurannasta tulee dokumentoida kattavasti. (Armbruster & Feldsien 2000, Rice 2007, Liu et al. 2012)

Ilmanlaadun seurannassa suoritetaan ennalta määritellysti mittauksia, joiden avulla tuotetaan dataa puhdastilan toimintakyvystä. Tämä voi olla jatkuvaa, jaksoittaista tai säännöllistä. Vertailemalla mittaustuloksia voidaan seurata pitkän aikavälin kehitystä ja analysoida tulosten taustoja. (ISO 14644-2:2015) Seuranta voi auttaa myös kustannusten hallintaan ja seurannan avulla yrityksen tietous prosesseista voi lisääntyä.

Avainasemassa seurannan toimivuudelle on sopivien mittausmenetelmien validointi ja käyttöönotto riskienhallinnassa havaittujen riskien perusteella. Mittausten aikaväli, määrä ja paikat tulee määritellä tarkasti, jolloin tuloksia voidaan objektiivisesti verrata toisiinsa. (ISO 14644-2:2015) Näytteenottoapaikalla on suuri vaikutus hiukkas- ja mikrobipitoisuuteen (Napoli et al. 2012). Mittausten parametrien tulee aina olla suunniteltu huomioiden prosessin ja sen tuotteiden vaatimukset. Lisäksi suoritettavien mittausten virhelähteitä tulee kartoittaa ja pyrkiä kontrolloimaan (Pessi & Jalkanen 2018 s. 45).

Seurannan suunnittelussa tulee myös esittää mikrobiologiset raja-arvot puhdastilatoiminnalle. Raja-arvojen tehtävänä on toimia ilmanlaadun tason indikaattoreina. *Hälytys- ja toimintataso* ovat raja-arvot, jotka ovat vakioituneet puhdastilatyöskentelylle. Hälytysraja ylitettäessä on kontaminaation todennäköisyys oletettavasti suurempi kuin on suunniteltu. Tällöin tulee seurantaa lisätä ja syyt raja-arvon ylittymiselle selvittää ja tarvittaessa muuttaa toimintatapoja. Toimintaraja ylitettäessä täytyy ryhtyä välittömiin toimiin kontaminaatiolähteen selvittämiseksi ja sen välittömäksi eliminoimiseksi. (ISO 14644-2:2015, SFS-EN 17141:2020)

Raja-arvoja asetettaessa prosessin yksityiskohdat, aiemmat mittaustulokset ja tuotteiden terveysriskit tulee ottaa huomioon yhdessä alan viitearvojen kanssa. Hälytysraja asetetaan usein tavoitetasolle. Tällöin ehkäistään toistuva hälytysrajan ylitys, mutta toisaalta reagoidaan riittävän nopeasti kontaminaatoriskin kasvuun. Toimintaraja asetetaan usein prosessin vaatimustason läheisyyteen. Ilmanpuhtauden seurannan kannalta on tärkeää dokumentoida raja-arvojen lisäksi aina myös toimintatason edellyttämien hiukkas- tai mikrobipitoisuuksien ylittyminen ja ylittymistä seuranneet korjaavat toimenpiteet. Hälytys- ja toimintarajat tulee myös säännöllisesti päivittää vastaamaan tuotannon vaatimuksia. (SFS-EN 17141:2020)

### 3. ILMAN MIKROBIOLOGISEN LAADUN MITTAUSMENETELMÄT

Ilman mikrobiologista laatua voidaan mitata fysikaalisilla sekä mikrobiologisilla menetelmillä. Fysikaaliset mittarit antavat tietoa ilman erikokoisten hiukkasten pitoisuuksista ja mikrobiologiset menetelmät hiukkasten mikrobiologisesta luonteesta.

#### 3.1 Mikrobiologiset menetelmät

Mikrobiologisilla menetelmillä kartoitetaan puhdistilan mikrobien määrää ja laatua. Puhdistilassa ilmanlaadun kartoituksessa on tärkeää, että mittausten menetelmä on validoitu toimimaan mahdollisimman laajalle kirjolle erilaisia puhdistilaoolosuhteissa tavattavia mikrobeja. Perinteisimmät bakteeri- ja sienilajien esiintymistä mittaavat menetelmät perustuvat mikrobien viljelyyn, eli kasvatukseen kasvualustalla. Näiden mikrobien tutkiminen ilmasta voidaan jakaa aktiiviseen ja passiiviseen näytteenottoon.

Puhdistilassa passiivinen näytteenotto on laskeumamaljojen käyttöä. Tässä näytteenotossa mikrobit laskeutuvat painovoiman vaikutuksesta aukinaisille kasvatusmaljoille, jotka analysoidaan. Aktiiviseksi näytteenotoksi kutsutaan näytteenottoa, jossa tutkimuslaitteeseen, kuten ilmankeräimeen tai impaktoriin, johdetaan tunnettu tilavuus ilmaa ja ilman mikrobeja sisältävät hiukkaset erotellaan ja analysoidaan. (Napoli et al. 2012) Ilmankeräimessä mikrobit kerätään yhdelle kasvatusmaljalle, kun taas impaktorissa ne kerätään kokonsa perusteella lajiteltuina eri kasvatusmaljoille (Haig et al. 2016). Passiivinen näytteenotto on edullista ja yksinkertaista toteuttaa. Aktiivinen näytteenotto on kalliimpaa kuin passiivinen, mutta näytteen tilavuuden tunteminen ja pienten partikkelien parempi huomioonottaminen tuovat menetelmälle lisäarvoa. (Prathab & Lalitha 2012)

Eurooppalaisessa standardissa EN 17141:2020 annetaan viiterajat ilman mikrobiologisen laadun mittaustulosten keskiarvoille aktiivisessa ja passiivisessa näytteenotossa lääkinnällisten laitteiden tuotannossa. Nämä löytyvät alla olevasta taulukosta 2.

**Taulukko 2.** Ilman mikrobiologisen laadun viitearvot (SFS-EN 17141:2020).

Kategoria	Aktiivinen näytteenotto [cfu/m <sup>3</sup> ]	Laskeumamalja (Ø 90 mm) [cfu/4h]
1	<1	<1
2	10	5
3	100	50
4	200	100

Taulukossa 2 yksikkö *cfu* (engl. colony forming unit) tarkoittaa kasvaneiden pesäkkeiden lukumäärää. Yksikkö on yleisesti käytössä ilman mikrobiologisen laadun tutkimuksissa. Kategorioiden 1 ja 2 rajat ovat merkityksellisiä steriilien lääkinnällisten laitteiden aseptisessä käsittelyssä. Alempien kategorioiden viitearvoja voidaan hyödyntää muiden lääkinnällisten laitteiden valmistuksessa. (SFS-EN 17141:2020) Passiivisessa ja aktiivisessa näytteenotossa mittaustulosten yksiköt eroavat toisistaan ja tulokset eivät ole suoraan vertailtavissa.

Yllä esitellyt mittausmenetelmät eivät ole täysin optimaalisia mikrobikontaminaation arvioimisessa, sillä kaikki mikrobit eivät kasva kasvatusmaljoilla. On arvioitu, että vain 2-5% koko maailman bakteerilajeista on mahdollista kasvattaa kasvatusmaljoilla. Ihmisten suussa elävistä bakteerilajeista noin 50% on mahdollista havaita kasvatusmaljoilla ja muista ihmisestä peräisin olevista bakteerilajeista viljeltävien bakteerilajien osuuden arvellaan olevan samaa luokkaa. (Wilson et al. 1997, Wade 2002) Viruksia ei voida havaita lainkaan tällaisilla tutkimusmenetelmillä. Virusten ja muiden kasvatusmaljalla kasvamattomien mikrobien havaitsemiseen ja tutkimiseen voidaan käyttää DNA:n sekvensointimenetelmiä. (Weinmaier et al. 2015) Usein kuitenkin tuotannon puhdastiloissa viruksia ei tutkita, vaan ilman mikrobiologisen laadun tutkinta keskittyy viljeltävien bakteerien ja sienten tutkimiseen.

### 3.1.1 Mikrobien kasvatus petrimaljoilla

Mikrobien kasvatusmaljat eli petrimaljat ovat pyöreitä, yleisesti halkaisijaltaan 90mm olevia kannellisia astioita, jotka sisältävät kasvualustan mikrobeille (Haig et al. 2016, Tršan et al. 2019). Petrimaljalla olevan kasvualustan tulee olla sellaista, että mahdollisimman moni puhdastiloissa tavattava mikrobi viihtyy siinä. Tällöin yhdelläkin petrimaljalla voidaan saada kokonaiskuva ilman viljeltävissä olevasta mikrobistosta ja mikrobien määrästä. (Pluschke 2004 s. 152-153)

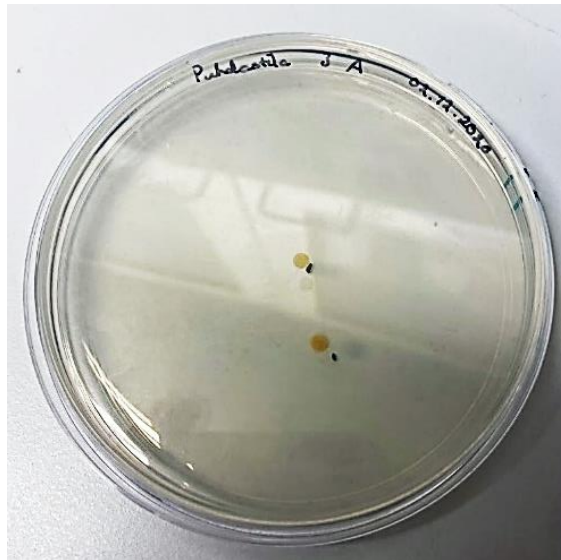
Kasvualustassa käytetään usein agaria. Agar on leväpolysakkaridi, jota esiintyy *Curdiea*-sukuun kuuluvien punalevien soluseinissä. Se erotetaan levistä ja kuivataan jauheeksi. Liuottamalla agaria veteen se muodostaa kiinteän geelin, joka säilyy huoneenlämmössä. Levälajista riippuen geelin jähmettymispiste on 35-50 C° ja sulamispiste 90-120 C°. (Falshaw et al. 1998)

Agarin lisäksi kasvualusta sisältää mahdollisesti ravinteita ja lisäaineita, jotka voivat esimerkiksi nopeuttaa agargeelin muodostumista tai hidastaa kasvualustan kuivumista. Koska puhdastiloissa käytettävät desinfiointi- ja puhdistusaineet aiheuttavat mikrobien

kasvun pysähtymistä ja solukuolemia, myös puhdistusaineita neutraloivia aineita lisätään usein kasvualustalle. (Fleischer et al. 2006) Puhdastiloissa yleisesti käytetyin kasvualusta on Tryptoni-soija-agar, lyhyemmin TSA. Tätä kasvualustaa käytetään sekä bakteerien että sienten kasvatukseen (SFS-EN 17141:2020). Lisäksi voidaan käyttää spesifisempiä kasvualustoja tutkittaessa tiettyjä mikrobeja. Homeiden esiintymistä tutkittaessa käytössä oleva kasvualusta on usein dikloraani-glyseroli-agar, lyhyemmin DG18 (CEN/TS 16115-1:2011).

Suurin osa sisäilman mikrobeista tarvitsee vettä selvitäkseen. Petrimaljojen tulee olla kosteita ja käytettävien mittausten ehtona on kosteuden säilyminen tutkimuksen ajan (Pluschke 2004 s. 159, SFS/EN 17141:2020). Mikrobeille altistamisen jälkeen maljat suljetaan ja mikrobeja kasvatetaan suljetulla maljalla 20-36°C:n lämpötilassa yhdestä seitsemään vuorokautta tutkittavista mikrobeista ja käytettävästä viljelymaljasta riippuen. Viikon kuluttua mikrobien kasvattamien pesäkkeiden lukumäärä lasketaan (Pessi & Jalkanen 2018 s. 51). Pesäkkeiden lukumäärän avulla voidaan arvioida tuotteiden kontaminaatoriskiä ja mikrobien määrää puhdastilassa.

Kuvassa 1 on esimerkki petrimaljasta, johon on kasvanut mikrobipesäkkeitä. Pesäkkeitä on nähtävissä kaksi ja ne on merkitty mustilla pisteillä. Kuva on otettu viikko mikrobilaskeumalle altistamisen jälkeen.



**Kuva 1.** Esimerkki petrimaljasta, jolla kasvaa kaksi bakteeripesäkettä.

Petrimaljoja tulee käsitellä huolellisesti, jotta estetään mahdollisuus sekundääripesäkkeiden syntyyn. Sekundääripesäkkeellä tarkoitetaan kasvualustalle kasvaneesta pesäkkeestä irronneista itiöistä syntynyttä pesäkettä, jota ei tulisi laskea pesäkelukumäärään. (Pessi & Jalkanen 2018 s. 9)

### 3.1.2 Laskeumamaljojen käyttö

Puhdastiloissa esiintyvillä mikrobeja sisältävillä hiukkasilla on jonkin verran massaa ja siksi ne eivät liiku täysin ilmanvaihdon luomien ilmavirtojen mukana. Painovoiman takia ne laskeutuvat puhdastilan pinnoille. (Napoli et al. 2012) Tutkimalla näitä laskeutuvia hiukkasia, voidaan puhdastilan mikrobiologista koostumusta ja mikrobien määrää arvioida.

Laskeumamaljat ovat yllä esiteltyjä petrimaljoja, joita käytetään passiiviseen näytteenottoon. Laskeumamaljat asetetaan puhdastilassa keskeiselle pinnalle ilman kantta, jolloin ne altistetaan ilmasta laskeutuville mikrobeille. Laskeumamaljoja voidaan käyttää kerralla useita, jolloin saadaan monipuolisempi kuva ilman mikrobimäärästä eri kohdissa puhdastilaa. Laskeumamaljojen altistusaika vaihtelee yleensä yhden ja neljän tunnin välillä (SFS-EN 17141:2020). Laskeumamaljojen etuna on niiden edullisuus ja helppokäyttöisyys (Prathab & Lalitha 2012). Haittapuolena on suurten mikrobihiukkasten korostuminen painovoiman vaikuttaessa vahvemmin suurempiin partikkeleihin (Napoli et al. 2012). Toisaalta tämä on hyväksyttävää, jos oletetaan, että pienemmät hiukkaset liikkuvat ilmavirtojen mukana puhdastilassa. Tällöin kontaminaation aiheuttavat pääasiassa suuremmat hiukkaset, jotka voivat laskeutua valmistettaviin tuotteisiin.

Esimerkkilaboratorion tiloissa laskeumamaljoja käytetään pääsääntöisesti joka arkipäivä. Puhdastiloissa käytetään samanaikaisesti kahta petrimaljaa, jotka asetetaan eri puolille tilaa. Paikat ovat samat päivästä ja mittauksesta toiseen. Käytössä ovat TSA- tai Plate count agar -maljat, joita altistetaan mikrobeille tunnin ajan. Ajankohta ei ole standardoitu, vaan vastuuhenkilöt vievät maljat puhdastiloihin työpäivän aikana. Mikrobeja kasvatetaan huoneenlämmössä ja pesäkkeet lasketaan viikon kuluttua altistuksesta. Bakteeri- ja sienipesäkkeet lasketaan erikseen.

### 3.1.3 Mikrobien tunnistus

Petrimaljoilla kasvavien mikrobien määrän lisäksi niiden tunnistaminen voi olla tärkeää. Pesäkkeiden tunnistukseen käytetään usein stereo- tai valomikroskooppia. Tunnistamiseen tarvitaan usein referenssikantoja, kuvia sekä kirjallisuutta aiheesta. Mikäli yksittäinen pesäke halutaan tutkia tarkemmin, voidaan se eristää petrimaljalta ja tehdä siitä puhdasviljelmä ja sitä voidaan tutkia biokemiallisien testien avulla. (Pessi & Jalkanen 2018) Puhdasviljelmässä on mukana vain yhtä mikrobilajia (Tieteen termipankki 08.12.2020).

Uudempi ja tarkempi keino mikrobin tunnistamiseen ovat geneettiset menetelmät. Käyttämällä PCR- ja sekvensointimenetelmiä voidaan kasvusto tunnistaa erittäin luotettavasti. Tällöin näytteen sisältämä DNA eristetään, sekvensoidaan ja analysoidaan vertaamalla näytteen sisältämien mikrobin tunnistajajaksoja tunnettujen mikrobin vastaaviin tunnistajajaksoihin. Geneettisiä menetelmiä käyttämällä voidaan puhdistilan pintanäytteistä tunnistaa myös virukset ja mikrobit, jotka eivät kasva petrimaljoilla. (Mahnert et al. 2015) Yhdistämällä geneettisiä tekniikoita voidaan sekvensoinnista lisäksi eritellä toimintakyvylliset ja -kyvyttömät mikrobit tai mikrobin osat. Tämä on oleellista, sillä yleensä vain toimintakykyiset mikrobit aiheuttavat mikrobikontaminaatoriskin. (Pessi & Jalkanen 2018) Toisaalta DNA-kontaminaatio voi olla oleellinen, jos lääkinnällinen laite tuotetaan esimerkiksi PCR-diagnostiikkaan. Myös massaspektrometrisiä menetelmiä käytetään mikrobin tunnistuksessa (Shah & Gharbia 2010).

### 3.2 Fysikaaliset mittarit

Mikrobiologisissa tutkimuksissa tulosten saanti kestää useita vuorokausia. Fysikaalisen mittausten avulla sen sijaan voidaan nopeasti ilmanlaadun muutokset havaita ja niihin voidaan reagoida lähes reaaliaikaisesti (Figuerola-Tejerina et al. 2020). Lisäksi useiden tutkimusten mukaan ilman kokojaoteltu hiukkaspitoisuus korreloi ilman mikrobimäärää (Wong et al. 2018, Figuerola-Tejerina et al. 2020). Tämän hetken tiedon mukaan partikkelipitoisuuksien tutkiminen ei riitä ilman mikrobiologisen laadun tutkimiseen yksinään. Mittausten integroiminen ilman mikrobiologiseen seurantaan voi kuitenkin auttaa arvioimaan mikrobikontaminaation riskiä hetkellisesti. (Figuerola-Tejerina et al. 2020)

Puhdistilan ilman hiukkasmäärää ja kokojakaamaa mitataan usein valonsirontalaitteilla tai -mittareilla (ISO 14644-1:2015). Myös lentoaika hiukkaslaskurit ovat yleisesti käytössä. Näiden lisäksi tutkimuksia muiden fysikaalisten mittarien käytöstä ilman mikrobiologisen laadun mittareina on tutkittu lähiaikoina (Venkateswaran et al. 2003, Sandle et al. 2014). Esimerkkilaboratoriossa käytetään MeshWorks Wireless Oy:n sisäilmanlaadun tutkimiseen tarkoitettuja Indoor Air Quality Sensor -, eli IAQS-laitteita. Kyseisissä laitteissa ilman hiukkaspitoisuus määritetään valonsirontamittarilla (Gustafsson 2020).

Usein fysikaalisiin hiukkasmittareihin yhdistetään myös muita antureita mittaamaan ilmanlaatua. IAQS-laitteella voidaan hiukkaspitoisuuksien lisäksi mitata lämpötilaa, ilman suhteellista kosteutta, hiilidioksidin määrää, VOC-yhdisteiden määrää sekä ilmanpainetta ja paine-eroa (puhdistilan ja muun tilan välillä) (FeelPlace 2020). Esimerkkilaboratoriossa laitteilla monitoroidaan pääasiassa lämpötilaa, hiilidioksidin määrää ja PM<sub>0,5</sub>; PM<sub>2,5</sub> ja PM<sub>10</sub> määrää. Mittaus tapahtuu jaksottaisina mittauksina vuorokauden ympäri

ja tulokset lähetetään anturista tukiasemalle, joka välittää mittaustiedot edelleen tietopalveluun (FeelPlace 2020). Mittaustulokset ovat luettavissa internetselaimella.

Hiukkaspitoisuuksille puhdastilassa ei lääkinnällisten laitteiden tuotannossa ole asetettu raja-arvoja. Eri kokoisten hiukkasten pitoisuus ilmassa on perusteltua asettaa seuraamaan standardissa ISO 14644-1:2015 esitettyjä puhdastilaluokkien raja-arvoja. Lisäksi makropartikkelien kuten PM10 tutkiminen on oleellista ilman mikrobiologisen laadun parimpana indikaattorina pienempiin partikkeleihin verrattuna (Wong et al. 2018). Kuten mikrobiologistenkin menetelmien kohdalla, raja-arvojen säännöllinen päivitys sekä hiukkaspitoisuuksien seuranta on tärkeää. Fysikaalisissa ilman hiukkasmäärien mittauksissa vähimmäisvaatimuksia dokumentoinnille ovat ilman virtausnopeus näytteenotossa, otettu näytetilavuus, näytteenottovälit ja näytteenoton kesto, sekä näytteenkeräimen sijainti ja suunta ilmavirtaan nähden. (ISO 14644-2:2015)



## 4. TULOKSET

Tässä kappaleessa esitellään esimerkkilaboratorion lokakuun 2020 tuloksia ilmanlaadusta. Ensimmäisessä osassa tarkastellaan mikrobiologisten mittausten antamia tuloksia ja toisessa osassa puhdastilojen hiukkaspitoisuuden mittauksen tuloksia. Yrityksen pyynnöstä numeraalisia tuloksia ilmanlaadusta ei ole työssä näkyvillä.

### 4.1 Laskeumamaljojen tulokset

Lokakuussa laskeumamaljoilla on tutkittu puhdastilojen 1, 3 ja 4 ilmanlaatua yhteensä 19 arkipäivänä. Tulokset on kirjattu ensin paperiseen versioon ja myöhemmin esimerkkilaboratorion sähköiseen Mikrobiologiseen laskeumarekisteriin. Mikrobiologisessa laskeumarekisterissä on näkyvissä mittauspäivämäärä ja tilakohtainen mikrobimäärä. Jokaisessa puhdastilassa käytetään kahta petrimaljaa, ja laskeumarekisteriin merkitään näiden petrimaljojen pesäkkeiden lukumäärän summa. Jos näytteessä on kasvanut sienipesäkkeitä, niiden lukumäärä ilmoitetaan erikseen. Myös mahdolliset epäonnistuneet näytteenotot merkitään tila- ja päivämääräkohtaisesti.

Laskeumarekisteri lokakuulta 2020 puhdastilojen 1, 3 ja 4 osalta on muokattuna taulukossa 3. Taulukkoon on merkitty tavoitearvo A. Arvot on värikoodattu niin, että tavoitteen täyttävät mittaustulokset ovat vihreällä, tavoitteen alittavat mutta alemman tavoitetason ylittävät tulokset keltaisella, ja tämänkin tason alittavat punaisella.

**Taulukko 3.** Mikrobiologisen laskeumarekisterin (2020) arvoja värikoodein.

Puhdastilat	1	3	4
Tavoite	A	A	A
1.10.2020			
2.10.2020			
5.10.2020			
6.10.2020			
7.10.2020			
8.10.2020			
9.10.2020			
12.10.2020			
13.10.2020			
14.10.2020			
15.10.2020			
16.10.2020			
20.10.2020			
21.10.2020			
22.10.2020			
23.10.2020			
28.10.2020			
29.10.2020			
30.10.2020			

Taulukosta 3 nähdään, että puhdastilassa 1 mittaustuloksista 58%, puhdastilassa 3 mittaustuloksista 16% ja puhdastilassa 4 mittaustuloksista 95% täyttävät pesäkemäärälle asetetun tavoitteen. Numeerisista arvoista voidaan laskea puhdastilakohtaiset keskiarvot pesäkemäärille. Taulukossa 4 on vertailtu pesäkemäärien keskiarvoja puhdastilojen välillä. Lisäksi taulukkoon on koottu tulosten keskihajonnat.

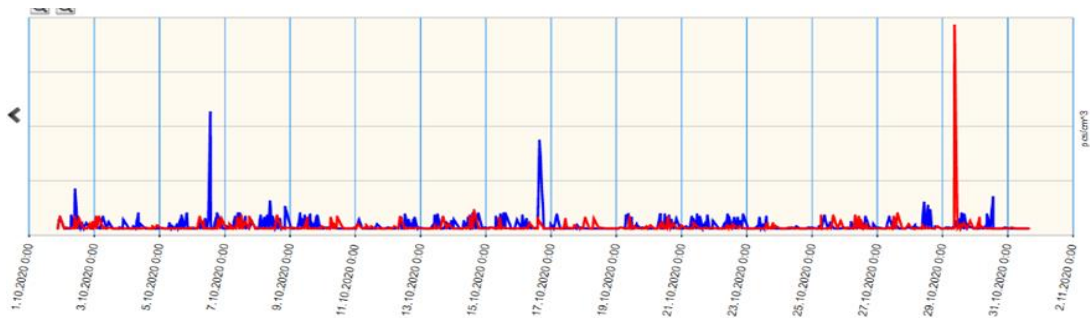
**Taulukko 4.** Pesäkemäärien keskiarvojen vertailu ja otoksen keskihajonta.

Puhdastila	1	3	4
Lokakuun mittausten keskiarvo	3,80 * KA <sub>4</sub>	8,25 * KA <sub>4</sub>	KA <sub>4</sub>
Lokakuun otoskeskihajonta	2,35	3,61	1,26

Taulukossa KA<sub>4</sub> tarkoittaa puhdastilan 4 lokakuun 2020 mittaustulosten keskiarvoa. Keskiarvojen ja otoksen keskihajonnan laskemiseen on käytetty esimerkklaboratorion Mikrobiologisen laskeumarekisterin (2020) tietoja.

## 4.2 Hiukkaspitoisuusmittareiden tulokset

Lokakuussa IAQS-mittarit ovat olleet käytössä puhdastiloissa 1 ja 3. Lisäksi tammi-kuussa myös muihin puhdastiloihin on asennettu omat mittarit. Mittausdata on katsottavissa MeshWorks Wireless Oy:n kehittämässä Seemoto-järjestelmässä (2021), jossa IAQS-laitteen mittaamia parametrejä voidaan seurata halutulla aikavälillä. Järjestelmä piirtää jokaisesta parametrystä jatkuvan kuvaajan ajan funktiona. Lisäksi järjestelmä nähdään tutkittavien parametrien viimeisin mittausaika ja sen mittauksen arvo, sekä mini-, maksimi- ja keskiarvot tutkittavalla aikavälillä. Mittausdataa yksittäisinä mittaustuloksina ei ole saatavilla suodatusta ja analysointia varten. Kuvassa 2 on Seemoto-järjestelmän kuvaaja puhdastilojen 1 ja 3 lokakuun PM10 pitoisuuksista (MeshWorks Wireless Oy 2021).



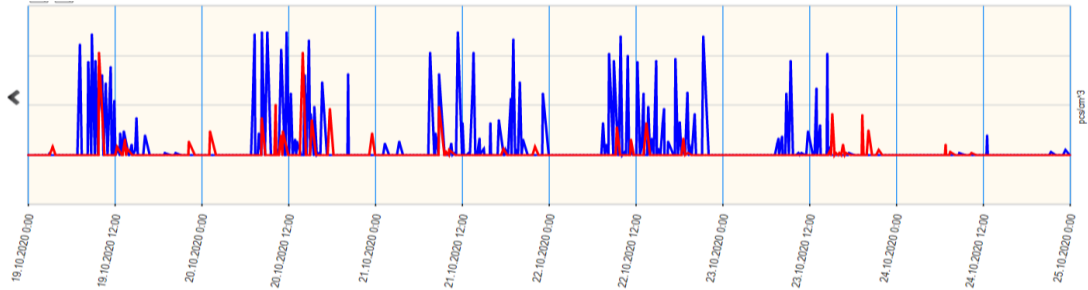
**Kuva 2.** PM10 pitoisuus puhdastiloissa 1 ja 3 aikavälillä 1.-31.10.2020. Sininen viiva osoittaa puhdastilan 1 ja punainen viiva puhdastilan 3 hiukkaspitoisuuden jokaisena ajanhetkenä yksikössä hiukkasta/cm<sup>3</sup>. (MeshWorks Wireless Oy 2021)

Kuvassa 2 on havaittavissa neljä piikkiä hiukkaspitoisuuksissa. Suuret poikkeamat PM10 pitoisuuksissa on koottu taulukkoon 5. Keskiarvopitoisuudet on arvioitu Seemoto-järjestelmän kuvaajista.

**Taulukko 5.** Suuret poikkeamat PM10 pitoisuuksissa 10/2020.

PVM	puhdastila	poikkeama	PM10 pitoisuuden suhde kyseisen viikon keskiarvopitoisuuteen
2.10.2020	1	Hiukkaspitoisuus koholla	2,7
6.10.2020	1	Hiukkaspitoisuus koholla	8,2
16.10.2020	1	Hiukkaspitoisuus koholla	6,3
29.10.2020	3	Hiukkaspitoisuus koholla	21,7

Rajaamalla aikaväliä lyhyemmäksi voidaan keskimääräisiä partikkelimääriä tutkia tarkemmin. Kuvassa 3 on esitetty puhdastiloissa 1 ja 3 aikavälillä 19.-24.10.2020 mitatut PM10 pitoisuudet. Kuvasta nähdään, että puhdastilassa 1 hiukkaspitoisuudet ovat päivisin keskimäärin 2,5-kertaiset verrattuna puhdastilan 3 hiukkaspitoisuuksiin.



**Kuva 3.** PM10 pitoisuus puhdastiloissa ajanjaksolla 19.-29.10.2020. Sininen viiva kuvaa puhdastilan 1 ja punainen viiva puhdastilan 3 hiukkaspitoisuutta yksikössä hiukkasta/cm<sup>3</sup>. (MeshWorks Wireless Oy 2021)

Myös muiden viikkojen mittaustulokset tutkitaan. Päivittäistä vaihtelua esiintyy molemmissa puhdastiloissa. Hiukkaspitoisuuksia verrattaessa puhdastilan 1 hiukkaspitoisuuden piikit päivisin ovat kuukauden ajalla noin 40% korkeampia kuin puhdastilan 3. Tästä poikkeuksena 1.-2.10. puhdastilan 3 hiukkaspitoisuuden piikit ovat 30% korkeampia kuin puhdastilan 1. Lisäksi 26.-28.10. puhdastilojen 1 ja 3 hiukkaspitoisuudet ovat samalla tasolla. Öisin ja viikonloppuisin hiukkaspitoisuus on keskimäärin 0 hiukkasta/cm<sup>3</sup>. Taulukkoon 6 on koottu puhdastilojen PM10 mittaustulosten suhde viikoittain ja lisäksi näkyvillä on koko kuukauden pitoisuuksien suhde.

**Taulukko 6.** Puhdastilojen 1 ja 3 PM10 pitoisuuksien suhde kalenteriviikoittain. Viikonloput jätetään pois tarkastelusta.

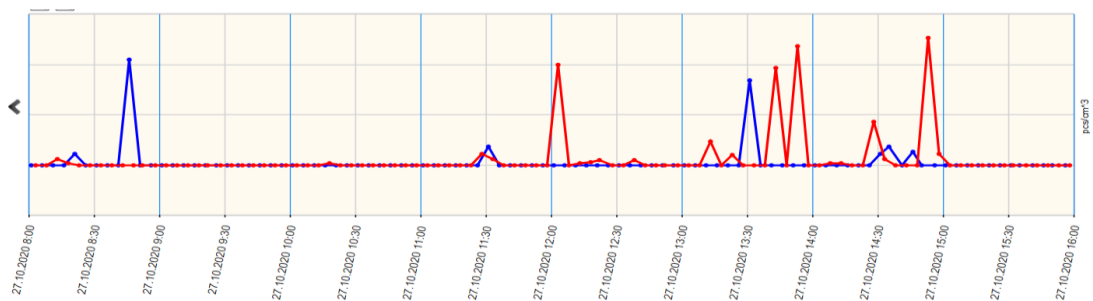
ajanjakso	1.-2.10.	5.-9.10.	12.-16.10.	19-23.10.	26.-30.10.	kk
$\frac{[PM10_1]}{[PM10_3]}$	0,77	1,25	1,25	1,88	1,60	1,36

Taulukossa 6 PM10<sub>1</sub> tarkoittaa puhdastilan 1 PM10 pitoisuutta ja PM10<sub>3</sub> puolestaan puhdastilan 3 PM10 pitoisuutta. Keskimääräiset pitoisuudet on katsottu silmämääräisesti piikkien korkeudesta. Taulukkoon 7 on listattu tyypilliset hiukkaskoot kummallekin puhdastilalle.

**Taulukko 7. Puhdastilojen 1 ja 3 tyypilliset hiukkaskoot (MeshWorks Wireless Oy 2021).**

Puhdastila	1.-2.10.	5.-9.10.	12.-16.10.	19-23.10.	26.-30.10.	kk
1	1,22 µm	1,23 µm	1,17 µm	1,17 µm	1,15 µm	1,18 µm
3	0,54 µm	0,54 µm	0,53 µm	0,57 µm	0,73 µm	0,58 µm

Seemoto-järjestelmä laskee automaattisesti keskiarvon eri kokoluokkien hiukkaspitoisuudelle. Huomataan, että nämä keskiarvot työtuntien aikana ovat alhaisempia kuin kuvasta 2 tai viikoittaisista kuvaajista voisi olettaa. Tutkitaan tätä tarkemmin. Kuvassa 4 on 27.10.2020 suoritettujen mittausten tulokset.



**Kuva 4. Puhdastilojen PM10 pitoisuuden mittauksien tulokset 27.10.2020. Sininen viiva kuvaa puhdastilan 1 hiukkaspitoisuutta ja punainen viiva puhdastilan 3 hiukkaspitoisuutta. (MeshWorks Wireless Oy 2021)**

Mittauksia suoritetaan viiden minuutin välein, mutta kuvasta nähdään, että yli 90 %:ssa mittauksia mittari osoittaa hiukkaspitoisuudeksi 0 hiukkasta/cm<sup>3</sup>. Kuukauden mittauksissa nollatuloksien määrä päivittäin vaihtelee 50-90 %:n välillä. Puhdastilan 3 tuloksissa on keskimäärin enemmän nollatuloksia. Tulokset mittauksista esitetään järjestelmässä yhden desimaalin tarkkuudella.

## 5. TULOSTEN TARKASTELU

Tässä kappaleessa mittaustuloksia lokakuulta 2020 vertaillaan ja analysoidaan ja niiden pohjalta asetetaan ilman mikrobiologiselle laadulle hälytysrajat. Lisäksi pohditaan mitausten virhelähteitä.

### 5.1 Laskeumamaljojen tulosten tarkastelu ja hälytysrajojen asettaminen

Puhdastila 4 on käytössä eri prosessille kuin puhdastilat 1 ja 3, joissa tehdään keskenään samaa tuotetta. Puhdastilan 4 prosessi vaatii mikrobiologisesti puhtaamman ilman tuotteen laadun takaamiseksi. Työskentelyssä käytettävät välineet steriloidaan ja puhdastilavaatetus on peittävämpi kuin puhdastilojen 1 ja 3 prosesseissa. Tämän takia puhdastilassa 4 laskeumamaljoilla kasvavien pesäkkeiden määrät ja keskihajonta ovat pienempiä kuin puhdastiloissa 1 ja 3.

Puhdastilojen 1, 3 ja 4 mikrobiologisten mittausten tulosten eroja selittää puhdastilojen erilaiset käytöt. Puhdastilassa 3 työskentelyyn osallistuu 4-5 henkilöä kerrallaan, kun taas puhdastilassa 1 työntekijöitä on yleensä 3-4. Ihmismäärän kasvaessa myös liikenne puhdastilan ja muiden tilojen välillä lisääntyy ja mikrobien kulkeutuminen tilaan lisääntyy. Kuitenkaan tämä ei selitä sitä, että puhdastilan 3 pesäkkeiden lukumäärän keskiarvo on yli kaksinkertainen puhdastilaan 1 verrattuna (taulukko 4). Olemassa olevasta dokumenttiosta ei pystytä selvittämään syitä tuloksille. Voidaan todeta, että puhdastilassa 3 täytyy ryhtyä toimiin kontaminaatioreittien selvittämiseksi ja mikrobimäärien laskeumiseksi. Näitä toimia voisivat olla ilmansuodatinten vaihto, vaatetuksen vaihto peittävämpään puhdastilavaatetukseen ja työskentelytapojen seuraaminen ja mahdollisesti niiden yhtenäistäminen puhdastilojen välillä.

Päivittäiset vaihtelut voivat johtua työskentelyn muutoksista. Henkilökunnan määrä ja työpäivän pituus vaihtelevat, mikä aiheuttaa vaihtelevuutta päivittäisissä mittauksissa. Myös työskentelyn rytmi vaihtelee, sillä vaihdettaessa puhdastilassa valmistettavaa tuotantoerää, seisoo puhdastila tyhjiällä siivouksen ja muiden eränvaihtorutiinien ajan. Myös henkilökunnan vaihtelevuus päivän aikana ja päivien välillä vaikuttavat mikrobiipitoisuuteen ilmassa. Työskentelyrytmin vaihtelevuuden lisäksi laskeumamaljamittauksen ajankohta vaihtelee. Usein ajankohta on aamupäivästä, mutta mittaus voidaan suorittaa myös iltpäivällä. Koska tätä ajankohtaa ei kirjata, ei päivittäisiä tuloksia vertailemalla saada tarkkaa tietoa ilmanlaadun vaihtelusta.

Taulukosta 3 nähdään, että tämän hetken tavoiterajoja täytyy muokata, sillä liian suuri osa mittaustuloksista ei yllä tavoitteeseen. Toimiakseen halutulla tavalla hälytysraja, eli tavoiteraja kokeillaan asettaa lähimpään kokonaislukuun 1,645 otoskeskihajonnan päähän lokakuun mittausten keskiarvosta. Tällöin 90% mittauksista voidaan olettaa asettuvan tavoitteeseen. Tehdään hälytysrajan asettaminen jokaiselle puhdastilalle erikseen taulukon 4 mittaustulosten keskiarvon ja otoskeskihajonnan avulla. Taulukossa 8 on lisätty lokakuun mittaustulokset luokiteltuna uusien tavoitearvojen mukaisesti värikoodein. Tavoitteeseen yltyvät tulokset on merkitty vihreällä ja tulokset, jotka eivät yllä tavoitteeseen, on merkitty keltaisella värillä.

**Taulukko 8. Mittaustulosten vertaaminen tavoitearvoihin A, B ja C.**

Puhdastilat	1	3	4
Tavoite	B	C	A
1.10.2020			
2.10.2020			
5.10.2020			
6.10.2020			
7.10.2020			
8.10.2020			
9.10.2020			
12.10.2020			
13.10.2020			
14.10.2020			
15.10.2020			
16.10.2020			
20.10.2020			
21.10.2020			
22.10.2020			
23.10.2020			
28.10.2020			
29.10.2020			
30.10.2020			

Taulukosta nähdään, että puhdastiloissa 1 ja 4 noin 5% lokakuun tuloksista ylittää hälytystason ja puhdastilassa 3 ei yksikään. Samalla huomataan, että puhdastilassa 4 tavoitearvo pysyy samana kuin aiemmin tuloksissa esitetty. Tämä tavoitearvo on siis ollut sopiva. Puhdastiloissa 1 ja 3 tuotteet ovat sellaisia, että mikrobit eivät elä tuotteessa sen sisältämien kemiallisten aineiden takia, mutta voivat haitata niiden käytettävyyttä. Tilojen korkeammat hälytystasot verrattuna puhdastilaan 4 ovat hyväksyttävät.

Hälytystason asettamisessa on hyvä ottaa huomioon myös tavoite tehdä puhdastiloissa 1 ja 3 tasalaatuisia tuotteita. Tällöin näiden puhdastilojen hälytysrajojen tulee olla lähellä

toisiaan. Puhdastilan 3 suurempi työntekijämäärä kuitenkin rajoittaa hälytystason asettamista. Asetetaan edellä saatu hälytysraja  $B$  puhdastilaan 1. Käytetään kerrointa  $x=6/4$  ihmismäärää kuvaavana kertoimena puhdastilassa 3. Tällöin tilassa sallitaan 1,5 kertainen määrä mikrobeja laskeumamaljoilla. Taulukossa 9 on kertoimella korjatut tavoitteet puhdastiloille.

**Taulukko 9. Mittaustulokset asetettuihin hälytystasoihin verrattuna.**

Puhdastilat	1	3	4
Tavoite	B	1,5*B = D	A
1.10.2020			
2.10.2020			
5.10.2020			
6.10.2020			
7.10.2020			
8.10.2020			
9.10.2020			
12.10.2020			
13.10.2020			
14.10.2020			
15.10.2020			
16.10.2020			
20.10.2020			
21.10.2020			
22.10.2020			
23.10.2020			
28.10.2020			
29.10.2020			
30.10.2020			

Asetetaan nämä hälytysrajat pesäkkeiden lukumäärälle. Hälytysraja-arvoja ei voida suoraan verrata taulukossa 2 esitettyihin kirjallisuuden laskeumamaljojen pesäkemäärien viitearvoihin, mutta vertailuarvo  $x$  saadaan yhtälöllä

$$x = \frac{(a + b)}{2 \times t} \times 4 \quad (1)$$

jossa  $a$  ja  $b$  ovat laskeumamaljojen pesäkemäärät ja  $t$  laskeumamaljojen altistusaika tunteina. Vertaamalla hälytysraja-arvoista laskettuja vertailuarvoja taulukossa 2 esitettyihin kirjallisuuden viitearvoihin todetaan, että kaikki hälytysrajat asettuvat kategorian 3 viitearvoihin.

Toimintataso asetetaan hälytystasoa selvästi korkeammalle, puhdastiloihin 1 ja 3 samaan arvoon  $E$ . Tämän syynä on se, että ylitystä seuraavien toimien tulee olla standar-



doitu prosessille eikä yksittäisille puhdastiloille, jotta tietty laatu tuotteissa voidaan varmistaa molemmissa puhdastiloissa. Lisäksi puhdastilassa 4 asetetaan erikseen toimintaraja  $F$ , joka on kaksinkertainen hälytysrajaan verrattuna.

## 5.2 Hiukkaspitoisuusmittareiden tulosten tarkastelu

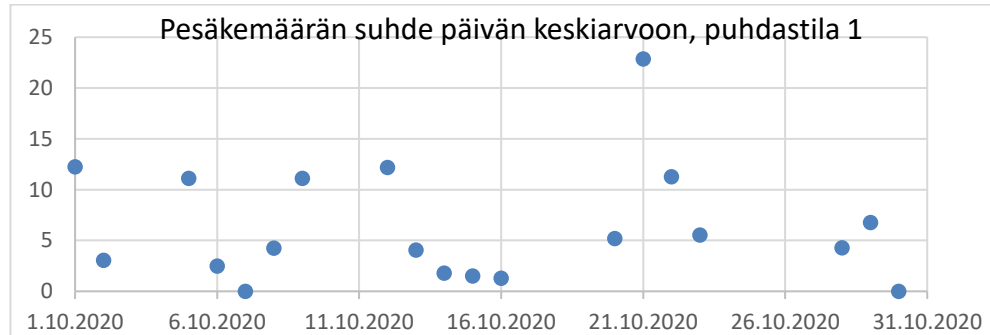
Hiukkaspitoisuusmittareiden tulosten tarkastelussa ongelmana on suuri vaihtelevuus mittausarvoissa. Kuten laskeumamaljojen pesäkemäärään, työpäivän pituus ja ihmisten vaihtuvuus vaikuttavat myös hiukkaspitoisuuksiin puhdastiloissa. Nämä selittävät päivittäistä vaihtelua puhdastilan ilmanlaadussa. Kuukauden aikana löydetty poikkeuksellisen korkeat piikit (taulukko 5) ovat arvoiltaan niin suuria, etteivät ne todennäköisesti edusta laitteella mitattua ilmaa. Todennäköisempää on, että ne ovat mittarin toimintavirheitä. Kyseisellä hetkellä ilmassa voi kuitenkin olla normaalia suuremmat hiukkaspitoisuudet. Koska mittari mittaa pitoisuuksia viiden minuutin välein, eivätkä epäpuhtaudet esiinny näin lyhytaikaisina, voidaan olettaa, että vain yhdessä mittauksessa havaitut korkeat arvot voidaan jättää pois tarkastelusta ilmanlaatua tutkittaessa. Kuitenkin, mikäli nämä arvot jätetään pois keskiarvoja laskettaessa, tulee varmistaa, ettei näiden virheellisten tulosten määrä aineistossa kasva niin suureksi, että mittauksen luotettavuus kärsii.

Suuressa osassa päivittäisiä mittauksia mittari antaa hiukkaspitoisuudeksi nolla. Oletetaan, että puhdastilojen ilma ei puhdistu täysin hiukkasista missään vaiheessa jatkuvaa työskentelyä. Nollatulosten syynä voi olla se, että mittarin yksikkö hiukkasta/cm<sup>3</sup> ei ole sopiva tai mittarin herkkyys ei riitä havaitsemaan puhdastilan pieniä hiukkaspitoisuuksia. Kyseessä voi olla myös mittarin toimintavirhe. Nollatulosten suuresta määrästä johtuen päiväkohtaiset keskiarvot vääristyvät ollen oletettavasti liian alhaisia. Lisäksi päivän keskiarvon tuloksia vääristävät poikkeuksellisen suuret huippuarvot. Päiväkohtaisten keskiarvojen vertailu voi kuitenkin indikoida ilmanlaadun muutoksia.

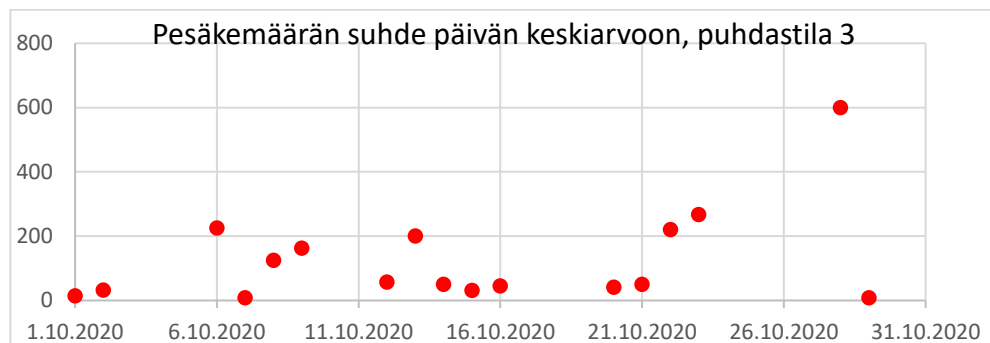
Puhdastilat 1 ja 3 ovat käytössä saman tuotteen valmistamisessa ja työohjeet ja prosessin kulku ovat samat molemmissa tiloissa. Tämän perusteella hiukkaspitoisuuksien tulisi olla molemmissa puhdastiloissa samaa suuruusluokkaa. Puhdastilassa 3 työpäivien mitaustuloksissa havaitaan kuitenkin noin 40% vähemmän hiukkasia kuin puhdastilassa 1 ja lisäksi nollatulosten määrä on huomattavasti suurempi. Suurin syy tälle on luultavasti se, että puhdastilassa 3 mittari on asetettu alueelle, jossa laminaarivirtaus kuljettaa puhdistettua ilmaa pystysuunnassa alaspäin. Tämä mittausta paikka ei edusta puhdastilan keskimääräistä hiukkaspitoisuutta, minkä takia tuloksia ei voida pitää indikaattorina puhdastilan 3 ilmanlaadulle. Puhdastilassa 1 mittari ei ole laminaarivirtauksen alla. Mittari puhdastilassa 3 tulisi ehdottomasti siirtää edustavampaan paikkaan.

### 5.3 Mittausmenetelmien keskinäinen vertailu

Vertaillaan mittausmenetelmien tuloksia vertaamalla päivittäisiä laskeumamaljatuloksia samojen päivien IAQS-mittarien ilmoittamien PM10 pitoisuuksien keskiarvoon aikavälillä 8:00-16:00. Kuvissa 5 ja 6 on kuvaajat puhdastilojen 1 ja 3 pesäkemäärän suhde päivän PM10 pitoisuuden keskiarvoon mittauspäivinä.



**Kuva 5.** Pesäkemäärän suhde päivän keskiarvoon puhdastilassa 1.



**Kuva 6.** Pesäkemäärän suhde päivän keskiarvoon puhdastilassa 3.

Kuvista nähdään, että suhdeluvut vaihtelevat suuresti. Puhdastilan 3 moninkertaiset vaihtelut verrattuna puhdastilaan 1 selittyvät suuremmalla määrällä nollatuloksia ja korkeammilla pesäkemäärillä laskeumamaljoilla. Voidaan todeta, että riippuvuutta mittausmenetelmien välillä ei löydetä ainakaan dataa muokkaamatta. Tämä löydös ei ole sen mukainen, mitä kirjallisuudessa on aiemmin todettu (Wong et al. 2018, Figuerola-Tejerina et al. 2020). Saatavilla olevan datan perusteella ei voida sanoa, mitkä IAQS-laitteen tuloksista ovat mittausvirheitä ja mitkä arvoista tulisi ottaa mukaan laskuihin, joten datan muokkaus ilman lisäinformaatiota ei ole järkevää.

Ongelmana vertailussa ovat myös mittausajankohta ja yksittäisten mittausten kesto. Laskeumamaljamittauksilla pyritään löytämään keskiarvo mikrobipitoisuudessa, kun taas hiukkaspitoisuuden mittaus on hetkittäistä. Maljamittauksen tulos edustaakin yhtä tuntia

päivästä, ja laitemittauksen yksi mittausta vain pientä aikaväliä päivästä. Mittausmenetelmien antamien saman aikavälin tulosten vertailun mahdollistamiseksi tulisi mittausajat suhteuttaa toisiinsa. Kuitenkaan ajanhetkeä, jonka laskeumamaljat ovat olleet puhdistilassa, ei ole dokumentoitu. Luonnollinen korrelaatio voitaisiin löytää tiedettäessä mittausajankohta.

## 5.4 Mahdolliset virhelähteet

Mittauksissa on monia mahdollisia virhelähteitä, jotka voivat vaikuttaa tuloksiin ja niiden vertailuun. Tulokset ovat suhteellisen lyhyeltä aikaväliltä ja siksi otanta ei välttämättä edusta keskimääräistä tilannetta. Tulosten yleistämiseksi tulee lisätä mittauksia suorittaa. Sekä mikrobiologisiin että fysikaalisiin mittauksiin vaikuttaa käytössä oleva mittausvälineistö. IAQS-mittarin nollatulokset, kuten myös pitoisuuden korkeat, lyhytaikaiset piikit aiheuttavat epävarmuutta tulosten käsittelyyn. Laskeumamaljoja käytettäessä taas kasvualustojen erot ja käytettävät raaka-aineiden erät sekä petrimaljan puhtaus vaikuttavat pesäkkeiden kasvuun. Molemmissa mittausmenetelmissä myös mittaus sijainti vaikuttaa oleellisesti tulosten suuruuteen. Mittauspaikat eivät ole kriittisten työskentelypisteiden välittömässä läheisyydessä ja esimerkiksi laboratoriossa ei olla tutkittu paikan vaikutusta tulosten suuruuteen.

IAQS-mittarit toimivat automaattisesti ja työntekijöiden toiminnalla ei ole vaikutusta tulosten luotettavuuteen. Koska laskeumamaljat valmistetaan esimerkiksi laboratoriossa itse, työntekijän vaihtuminen toiseen voisi aiheuttaa vaihtelua laskeumamaljojen kasvualustan ominaisuuksiin. Kuitenkin jokaisesta tuotantoerästä tehdään kasvukontrollit varmistamaan tuotteiden puhtaus. Tämä parantaa myös tulosten luotettavuutta ja vähentää virhelähteen mahdollisuutta. Maljojen erilainen käsittely työntekijästä riippuen voi vaikuttaa pesäkkeiden lukumäärään. Lisäksi pesäkemäärien laskeminen silmämääräisesti ja tulosten kirjaus käsin lisäävät inhimillisten virheiden riskiä dokumentoiduissa tuloksissa.

Laskeumamaljojen pieni otanta laskee tulosten luotettavuutta. Mittauksissa ei käytetä yleisesti toimivaksi todettua rinnakkaisnäytteenottoa eli vähintään kahden näytteen ottamista samasta paikasta. Yksittäisten laskeumamaljojen käyttö eripuolilla puhdistilaa aiheuttaa sen, että mittaustulosten satunnaisvirheitä ei välttämättä havaita.

## 6. SEURANNAN KEHITTÄMINEN

Seurannan parantamiseksi esimerkkilaboratoriossa tulee mittausmenetelmiä kehittää, mittausolosuhteita yhtenäistää ja mittaustuloksia analysoida ja vertailla säännöllisesti. Esimerkkilaboratorion lisäksi näitä seurannan kehitysehdotuksia voidaan soveltaa myös muissa lääkinnällisiä laitteita valmistavissa yrityksissä.

Työntekijöiden vaihtuvuudesta johtuvien laskeumamaljojen käsittelyerojen vaikutuksen pienentämiseksi tulee laskeumamaljojen käyttöön kehittää spesifi toimintaohje. Laskeumamaljojen mikrobeille altistamisen tulee tapahtua systemaattisesti samaan aikaan päivästä ja tehdyistä mittauksista sekä tuloksiin vaikuttavasta mittausten aikaisesta työskentelystä tärkeimmät tiedot tulee dokumentoida tulosten analysointia varten. Tärkeintä on, että mittauksissa saatuja tuloksia analysoidaan säännöllisesti ja poikkeamiin puututaan ja niiden syyt selvitetään.

Hiukkasmittareiden roolia ilman mikrobiologisen laadun tutkimuksessa tulee pohtia. Haasteena on, että hiukkasmäärät puhdastiloissa ovat pieniä ja pienetkin muutokset tulisi pystyä havaitsemaan mittaustuloksissa. Puhdastilassa 3 sijaitsevan mittarin paikka tulee vaihtaa järkevien tulosten saamiseksi. Valmistajalta tulee selvittää, onko pitoisuusyksikön muuntaminen suuremman tilavuuden käsittävään yksikköön mahdollista. Yksi vaihtoehto on seurata hiukkaspitoisuuksia pidemmällä aikavälillä käyttäen päivittäisiä keskiarvoja. Jos pystytään toteamaan, että näiden arvojen vaihtelut indikoivat ilmanlaadun vaihtelua, voidaan hiukkasmittareita ja tulosten keskiarvoja käyttää osana seuranta. Jos tämä ei onnistu ja nollatulokset johtuvat mittarin riittämättömästä herkkyydestä tai jos hiukkaspitoisuuden yksikön muuntaminen on mahdotonta, tulee tarkempien mittarien käyttöönottoa harkita vakavasti.

Tehokkuuden ja mikrobikontaminaatoriskin suhdetta tulee huolellisesti arvioida. Laskeumamaljojen tuloksissa työntekijöiden lisäys puhdastilaan lisää huomattavasti havaittavien mikrobien määrää. Kontaminaatoriskin kannalta voisi olla järkevämpää työskennellä pienemmällä henkilöstömäärällä kahdessa puhdastilassa samanaikaisesti, kuin suuremmalla henkilöstömäärällä yhdessä puhdastilassa, vaikka tämä olisikin hieman tehokkaampaa tuotannon kannalta. Löydettyjä mikrobilajeja olisi hyvä lisäksi tunnistaa kontaminaatioreittien ja -riskien kartoittamiseksi.

Esimerkkilaboratoriossa tulee lisäksi pohtia, olisiko ilmakeräimen tai ilmpaktorin käyttäminen ilmanlaadun tutkimuksessa parempi vaihtoehto laskeumamaljoille. Euroopassa

määräyksiä menetelmän valitsemiseen ei tällä hetkellä ole ja molemmat menetelmät korreloivat ilmanlaadun kanssa vertailukelpoisella tavalla ja niitä voidaan käyttää rutiinoina. (Napoli et al. 2012) Aktiivinen näytteenotto antaa kuitenkin laajemman kuvan ilman mikrobistosta (Prathab & Lalitha 2012). Korrelaation tutkimiseen auttaisi erityisesti se, että aktiivisessa näytteenotossa tutkittava ilmantilavuus tunnetaan. Lisäksi altistaminen mikrobeille kestäisi vain muutaman minuutin, mikä helpottaisi korrelaation tutkimista. Varsinkin impaktoria käyttämällä voitaisiin korrelaatiota löydettävien mikrobimäärien ja hiukkaspitoisuuden välillä tutkia, sillä impaktorin usean viljelymaljan samanaikaisen käytön etuna on ilman mikrobiologisen koostumuksen arviointi eri kokoluokkien mikrobien osalta erikseen.

Jos yrityksessä päätetään jatkaa laskeumamaljojen käyttöä mikrobiologisenä menetelmänä, tulee mittauspaikkojen sijainteja pohtia. Laskeumamaljojen käyttö mahdollisimman lähellä aluetta, jolla työskennellään, antaa tarkempia tuloksia tuotteiden mahdollisesta kontaminaatiosta (Whyte 2001 s. 198, Napoli et al. 2012). Tämänhetkissä prosesseissa tämä tarkoittaa laskeumamaljojen käyttöä laminaarivirtauskaapissa, sillä tuotteita käsitellään avoimina ainoastaan tällä alueella ja myös kontaminaatoriski on korkeimmillaan. Myös laskeumamaljojen määrän optimointi on tärkeää. Lisäämällä kahden käytettävän maljan kanssa samoille paikoille rinnakkaismaljat, voidaan satunnaisvirhettä mittauksissa vähentää.

Myös satunnaista pintanäytteenottoa puhdastiloissa voidaan pohtia. Mikrobit, jotka ovat joutuneet pinnalle ilmasta, voivat myös palata takaisin ilmaan ja aiheuttaa kontaminaation vaaran (Tamburini et al. 2015). Pintanäytteistä voidaan selvittää mikrobien DNA ja saada selville myös virusten ja muiden mikrobien, jotka eivät ole viljeltävissä, osuus mikrobistosta (Weinmaier et al. 2015). Pintanäytteenottoon voidaan käyttää joko pinnoilla liu'utettavaa kasvatusmaljaa tai näytteenottopuikkoa (Hedin et al. 2010).

Myös uusia menetelmiä, jotka yhdistävät ilman hiukkasten määrän laskun ja mikrobiologisen laadun tunnistuksen, on tutkittu muutamissa tutkimuksissa viime vuosina. Nämä menetelmät on kehitetty laskemaan hiukkaspitoisuuksia ja samalla tunnistamaan niiden mikrobiologista laatua. Etuna on tulosten saannin nopeus ja se, että myös mikrobit, joilla on metaboliaa, mutta jotka eivät kasva viljelyalustoilla, voidaan löytää. (Sandle et al. 2014, Tršan et al. 2019) Tällaisella menetelmällä voidaan saada jopa luotettavampia tuloksia kuin viljelymaljoja käyttämällä (Venkateswaran et al. 2003). Hiukkasten määrän ja mikrobiologisen laadun tunnistavat menetelmät eivät ole vielä yleistyneet ilmanlaadun tutkimuksissa, mutta tulevaisuudessa tällainen mittaaminen voisi olla tehokasta ja toimivaa.

## 7. JOHTOPÄÄTÖKSET

Menetelmiä ilman mikrobiologisen laadun mittauksille ja seurannalle ei ole standardoitu EU-direktiivien muodossa, vaan seuranta toteutetaan jokaisen alan yrityksen osalta hieman eri tavalla riippuen tuotteista ja prosesseista. Ilman mikrobimäärälle ei myöskään ole asetettu raja-arvoja viranomaisten toimesta. Ilman mikrobien määrää voidaan osittain hallita tehokkaalla ilmastointijärjestelmällä ja ihmisten toiminnan ohjauksella. Kuitenkin ihmisten ja työskentelyvälineistön mukana puhdistilaan kulkeutuu aina mikrobeja, jotka ovat mahdollisia kontaminaation aiheuttajia.

Kontaminaatioreittien tunteminen ja mikrobiologisten hälytysrajojen asettaminen auttavat osaltaan parantamaan tuotteiden laatua ja myös prosessien tuntemusta ja resurssien hallintaa mahdollisten viallisten tuotteiden vähentyessä. Tärkeimmät ilman mikrobiologisen laadun tutkimusmenetelmät puhdistiloissa ovat aktiivinen eli tunnettua ilman tilavuutta analysoivan laitteiston käyttöön perustuva ja passiivinen eli laskeumamaljojen käyttöön perustuva näytteenotto. Menetelmien puutteita ovat kuitenkin tulosten saannin hitaus sekä se, että vain petrimaljalla kasvavat mikrobit voidaan havaita mittauksissa. Näiden menetelmien kanssa usein samanaikaisesti mitataan ilman hiukkaspitoisuuksia, jotta ilmanlaadun muutoksia voidaan havaita nopeammin. Alan tutkimusten mukaan hiukkaspitoisuudella on myös yhteys mikrobiologisilla mittausmenetelmillä löydettyihin mikrobimääriin, joten hiukkaspitoisuusmittausten tulokset indikoivat myös kontaminaation riskin olemassaoloa.

Esimerkkilaboratorion tuloksista nähdään, että työntekijöiden määrä on yhteydessä mitausten mikrobipesäkkeiden määrään. Lisäksi vaatetus ja siivous vaikuttavat oleellisesti havaittuihin mikrobimääriin. Hiukkaspitoisuuden tulokset esimerkkilaboratoriossa ovat vaikeammin selitettävissä ja tuloksista tulkitaan, että käytettävä laitteisto ei ole tarpeeksi herkkä, tai käytettävä yksikkö on toimimaton puhdistilan matalien hiukkaspitoisuuksien ja muutoksien havaitsemiselle. Kuitenkin päivittäisten keskiarvojen käytön mahdollisuuksia seurannassa tulee tutkia. Lisäksi vertailtaessa mittausmenetelmien tuloksia keskenään yhteyttä niiden välillä ei löydetä, mikä on ristiriidassa kirjallisuuden tutkimusten kanssa. Todennäköisimpinä syinä yhteyden puuttumiselle voidaan pitää hiukkaspitoisuusmittarien herkkyyden riittämättömyyttä, vain lyhyen aikavälin mittausdatan huomioon ottamista ja laskeumamaljojen tulosten epävarmuutta, joka johtuu esimerkiksi rinnakkaismaljojen puuttumisesta.

Yrityksille on tärkeää validoida mittausten ja seurannan menetelmät juurikin yksittäisten prosessien ja yrityksen motiivien mukaisiksi. Seuranta tulisi kehittää validoimalla mittausten menetelmät tarkasti mittaolosuhteiden ja mittausvälineistön osalta. Varsinkin mittaustilat vaikuttavat suuresti tuloksiin. Validoinnin mukaisesti tulee aina tehdä kirjalliset ohjeet mittausten suorittamiseen, tulosten käsittelyyn ja dokumentointiin. Lisäksi hälytys- ja toimintarajojen ylittymistä seuraavat toimenpiteet tulee miettiä valmiiksi.

Yksi suuri ongelma tällä hetkellä käytävissä ilman mikrobiologisen laadun mittausten menetelmissä on petrimaljoilla kasvamattomien mikrobien rajaaminen pois tutkimuksesta. Sekvensoimalla ilmasta tai pinnoilta otettujen näytteiden sisältämää DNA:ta voitaisiin näitä mikrobeja tunnistaa ja kontaminaatioreittejä löytää. Lisäksi uusia tutkimusmenetelmiä, jotka yhdistävät hiukkaspitoisuuden ja niiden mikrobiologisen luonteen tutkimuksen, on kehitetty. Näiden tutkiminen on vielä alkusuoralla, mutta tulevaisuudessa tällaisten menetelmien käyttö nopeuttaisi tulosten saantia ja samalla antaisi todellisemman kuvan puhtastilan mikrobistosta. Myös mittausten menetelmät, puhtastilojen mikrobiologiset raja-arvot tai seurannan käytänteet voivat standardoitua alalla tulevaisuudessa. Kuitenkin ala on laaja ja kehittyvä ja tiettyjen käytänteiden vakiinnuttaminen vie vielä paljon aikaa.

# LÄHTEET

- Armbruster D. & Feldsien T. (2000) Applying HACCP to pharmaceutical process validation. *Pharmaceutical Technology* **24**(10), 170.
- Bashir M., Ahmed M., Weinmaier T., Ciobanu D., Ivanova N., Pieber T.R. & Vaishampayan P.A. (2016) Functional Metagenomics of Spacecraft Assembly Cleanrooms: Presence of Virulence Factors Associated with Human Pathogens. *Frontiers in Microbiology; Front Microbiol* **7**, 1321.
- CEN/TS 16115-1:2011 Ambient air quality. Measurement of bioaerosols. Part 1: Determination of moulds using filter sampling systems and culture-based analyses. Suomen Standardisoimisliitto. Helsinki.
- Direktiivi 93/42/ETY. Euroopan parlamentin ja neuvoston direktiivi lääkinnällisistä laitteista. EUR-Lex. Viitattu 17.2.2021. (Tarkka osoite: CL1993L0042FI0050040.0001.3bi\_cp 1..1 (europa.eu))
- Falshaw R., Furneaux R.H. & Stevenson D.E. (1998) Agars from nine species of red seaweed in the genus *Curdiea* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Carbohydrate Research* **308**(1), 107-115.
- FeelPlace (2020) IAQS tuotetiedot. Julkaisematon ohje.
- Figuerola-Tejerina A., Hernández-Aceituno A., Alemán-Vega G., Orille-García C., Ruiz-Álvarez M. & Sandoval-Insausti H. (2020) Developing a faster way to identify biocontamination in the air of controlled environment rooms with HEPA filters: airborne particle counting. *Scientific Reports; Sci Rep* **10**(1), 2575.
- Fleischer M., Bober-Gheek B., Bortkiewicz O. & Rusiecka-Ziółkowska J. (2006) Microbiological Control of Airborne Contamination in Hospitals. *Indoor + Built Environment* **15**(1), 53-56.
- Gustafsson Joonas (2020) IAQS-mittalaitteen antureista. Yksityinen sähköpostiviesti 16.11.2020. Viestin saaja: Vilja Juvonen.
- Haig C.W., Mackay W.G., Walker J.T. & Williams C. (2016) Bioaerosol sampling: sampling mechanisms, bioefficiency and field studies. *The Journal of Hospital Infection; J Hosp Infect* **93**(3), 242-255.
- Shah H. N. & Gharbia S. (2010) Mass Spectrometry for Microbial Proteomics. *Hoboken, N.J: Wiley*.
- Hedin G., Rynbäck J. & Loré B. (2010) New technique to take samples from environmental surfaces using flocked nylon swabs. *The Journal of Hospital Infection; J Hosp Infect* **75**(4), 314-317.
- Liu L., Shuai M., Wang Z. & Li P. (2012) Use-related risk analysis for medical devices based on improved FMEA. *Work (Reading, Mass.); Work* **41 Suppl 1**, 5860-5865.
- Ljungqvist B. & Reinmuller B. (2005) Aseptic production, gowning systems, and airborne contaminants. *Pharmaceutical Technology (2003)* **29**(5), s30.
- Mahnert A., Vaishampayan P., Probst A.J., Auerbach A., Moissl-Eichinger C., Venkateswaran K. & Berg G. (2015) Cleanroom Maintenance Significantly Reduces Abundance but Not Diversity of Indoor Microbiomes. *PLoS One; PLoS One* **10**(8), e0134848.
- MeshWorks Wireless Oy (2021) Seemoto-järjestelmä. Viitattu 17.2.2021. (Tarkka osoite: <https://seemoto.mww.fi/>)



- Moissl-Eichinger C., Auerbach A.K., Probst A.J., Mahnert A., Tom L., Piceno Y., Andersen G.L., Venkateswaran K., Rettberg P., Barczyk S., Pukall R. & Berg G. (2015) Quo vadis? Microbial profiling revealed strong effects of cleanroom maintenance and routes of contamination in indoor environments. *Scientific Reports; Sci Rep* **5**(1), 9156.
- Mora M., Mahnert A., Koskinen K., Pausan M.R., Oberauner-Wappis L., Krause R., Perras A.K., Gorkiewicz G., Berg G. & Moissl-Eichinger C. (2016) Microorganisms in Confined Habitats: Microbial Monitoring and Control of Intensive Care Units, Operating Rooms, Cleanrooms and the International Space Station. *Frontiers in Microbiology; Front Microbiol* **7**, 1573.
- Napoli C., Marcotrigiano V. & Montagna M.T. (2012) Air sampling procedures to evaluate microbial contamination: a comparison between active and passive methods in operating theatres. *BMC Public Health; BMC Public Health* **12**(1), 594.
- Pessi A. & Jalkanen K. (2018) Laboratorio-opas: mikrobiologisten asumisterveystutkimuksien näytteenotto ja analyysimenetelmät. Suomen ympäristö- ja terveysalan kustannus. Pori.
- Pluschke P. (2004) Air pollution. Vol. 4. Part F, Indoor air pollution. *Springer. New York (NY)*.
- Prathab A.G. & Lalitha C. (2012) Microbiological surveillance of air quality in operation theatres - Comparison of the conventional settle plate techniques vs use of an air sampling device. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences* **1**(4), 371-381.
- Rice W.P. (2007) Medical device risk based evaluation and maintenance using fault tree analysis. *Biomedical Instrumentation & Technology; Biomed Instrum Technol* **41**(1), 76-82.
- Sandle T., Leavy C., Jindal H. & Rhodes R. (2014) Application of rapid microbiological methods for the risk assessment of controlled biopharmaceutical environments. *Journal of Applied Microbiology; J Appl Microbiol* **116**(6), 1495-1505.
- SFS-EN ISO 14644-1:2015. Puhdastilat ja puhtaat alueet. Osa 1: Hiukkaspitoisuuden perusteella tehtävä puhtausluokitus. Suomen Standardisoimisliitto. Helsinki.
- SFS-EN ISO 14644-2:2015. Puhdastilat ja puhtaat alueet. Osa 2: Puhdastilan ilmanpuhtauden seuranta hiukkaspitoisuuden perusteella. Suomen Standardisoimisliitto. Helsinki.
- SFS-EN 17141:2020. Cleanrooms and associated controlled environments. Biocontamination control.
- Tamburini E., Donegà V., Marchetti M., Pedrini P., Monticelli C. & Balbo A. (2015) Study on Microbial Deposition and Contamination onto Six Surfaces Commonly Used in Chemical and Microbiological Laboratories. *International Journal of Environmental Research and Public Health; Int J Environ Res Public Health* **12**(7), 8295-8311.
- Tammer BioLab oy 2020: Mikrobiologinen laskeumarekisteri. Julkaisematon.
- Tieteen termipankki 21.1.2021: Geofysiikka: ilmanlaatu. (Tarkka osoite: <https://tieteentermipankki.fi/wiki/Geofysiikka:ilmanlaatu>.)
- Tršan M., Seme K. & Srčić S. (2019) The environmental monitoring in hospital pharmacy cleanroom and microbiota catalogue preparation. *Saudi Pharmaceutical Journal; Saudi Pharm J* **27**(4), 455-462.
- Venkateswaran K., Hattori N., La Duc M.,T. & Kern R. (2003) ATP as a biomarker of viable microorganisms in clean-room facilities. *Journal of Microbiological Methods; J Microbiol Methods* **52**(3), 367-377.

- Wade W. (2002) Unculturable bacteria--the uncharacterized organisms that cause oral infections. *Journal of the Royal Society of Medicine; J R Soc Med* **95**(2), 81-83.
- Weinmaier T., Probst A.J., La Duc M.,T., Ciobanu D., Cheng J., Ivanova N., Rattei T. & Vaishampayan P. (2015) A viability-linked metagenomic analysis of cleanroom environments: eukarya, prokaryotes, and viruses. *Microbiome; Microbiome* **3**(1), 62.
- Whyte W. (2001) Cleanroom technology: fundamentals of design, testing, and operation. J. Wiley. Chichester.
- Wilson M.J., Weightman A.J. & Wade W.G. (1997) Applications of molecular ecology in the characterization of uncultured microorganisms associated with human disease. *Reviews in Medical Microbiology* **8**(2), 91-102.